



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS DE MOSTAGANEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Proceedings

VII^{ème} Journées Scientifiques
de la Faculté SNV

Mostaganem, les 26 & 27-Avril 2017

Thématiques

**Microbiologie, Sciences de la Mer,
Sciences du Sol, Eau et Environnement
Technologie Agro-alimentaire et Nutrition
Sciences du Végétal, Sciences Animales**

Design: N. TAIBI



Sous le haut patronage de Monsieur le Recteur de l'Université de Mostaganem:

Pr.BELHAKEM Mustapha

Comité Scientifique

Pr. Lotmani Brahim (Président)
Pr Selselet Attou Ghalem
Pr Riazi Ali
Pr Soualili Dina Lina
Pr. Taibi Nasredine
Pr. Boudroua Kadour
Pr. Cheriguene Abderrahim
Pr. Youcef Benkada Mokhtar
Pr. Bendahmane Boubeker Seddik
Pr. Homrani Abdelkader
Pr. Dalache Fatiha
Pr. Reguieg Yssaad Houcine
Pr. Chograni Fadela
Pr. Benakriche Ben Mehel
Dr. Bouzouina Mohamed
Dr Benabdelmoumene Djillali
Dr. Bouiadjera Abdellah
Dr. Belkacemi Louiza
Dr. Mokhtar Meriem
Dr. Boufadi Mokhtaria Yasmina

Comité d'organisation

Pr Ghaffour Mohamed (Président)
Dr Benabdelmoumene Djillali
Dr. Bouzouina Mohamed
Chouari Hamid
Bellar Brahim

Secrétariat

Ammar Amel
Benahmed Amina
Chemouma Abdellah
Bouhella Zahira
Kherbeche Mohamed
Ayed Riadh
Ykhlef M'Hamed



AVANT PROPOS

Ce proceeding a été conçu et édité par la Faculté des Sciences de la Nature et de la vie de l'Université de Mostaganem, il regroupe l'intégralité des communications orales et des communications affichées (posters) qui ont été présentées lors des septiemes journées scientifiques de la Faculté qui se sont déroulées les 26 et 27 Avril 2017.

Les communications reçues dans leur intégralité ont été expertisées et corrigées par le comité scientifique et sont classées dans ce document selon l'ordre de passage au programme des journées.

La conception de ce proceeding a porté essentiellement sur la forme et la présentation des communications acceptées. Ce document a été réailsé par :

Pr Ghaffour Mohamed

Pr Taibi Nasredine

Dr Mokhtar Meriem

Nous remercions vivement tous ceux qui ont contribué à la réussite de ces journées scientifiques et particulièrement Monsieur le Recteur de l'Université de Mostaganem Le Professeur BELHAKEM Mustapha pour toutes les facilités et les encouragements qu'il nous a accordé pour la réalisation de cette manifestation.

Nous remercions également Madame BENOUDNINE Hadjira, Vice Recteur chargée des domaines des relations extérieures, la coopération, l'animation et la communication, et les manifestations scientifiques et Monsieur BENDERDOUCHE Noredine, Vice Recteur chargé de la formation supérieure de troisième cycle, l'habilitation universitaire et la recherche scientifique, et la formation supérieure de post-graduation, pour leur soutien.

Pr GHAFfour Mohamed

SOMMAIRE

Communications orales

Conference pleniére :	Page
L'utilisation du filet dérivant au niveau des pêcheries de Mostaganem	
<i>Bachir Bouiadjra Benabdallah et Sifi Mustapha.....</i>	<i>08</i>
CO1. Probiotic properties of some vaginal lactobacilli isolated from healthy women	
<i>Bechelaghem Nadia, Djibaoui Rachid, Ettalhi Mehdi.....</i>	<i>19</i>
CO2. Activité antifongique des bactéries de l'acide lactique vis-à-vis <i>Alternaria alternata</i> et leur caractérisation moléculaire	
<i>Zabouri Younes, Cheriguene Abderrahim, Chougrani Fadela, Merzouk Yamina, Urzi Clara, De Leo Filomena.....</i>	<i>26</i>
CO3. Etude du pouvoir antimicrobien des substances bioactives de la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i>	
<i>Otsmane El Haou Siham, Mokhtar Meriem Et Riazi Ali.....</i>	<i>38</i>
CO4. Performances de croissance, conditions générales de l'hygiène et état de santé du poulet de chair nourri avec des régimes additionnés de bentonite calcique	
<i>Bouderoua Yousra, Ait-Saada Djamel, Selselet-Attou Ghalem.....</i>	<i>50</i>
CO5. Evaluation morphométrique et polymorphisme génétique par amplification du microsatellite ASB02 chez les chevaux Barbe, Arabe-Barbe et Pur –Sang Arabe du nord- ouest Algérien	
<i>Kacem Nacéra, Mouats Aziz Et Halbouche Miloud.....</i>	<i>57</i>
CO6 : Effets des régimes alimentaires à base d'herbe sur la composition en acides gras du lait de brebis	
<i>Belabbes Mohamed, Bouderoua Kaddour, Attou Sahnoun.....</i>	<i>60</i>
CO7. Influence de la cuisson en grillade sur la composition en acides gras de la viande d'agneaux élevés sur des pâturages steppiques et des hauts plateaux.	
<i>Nabila Berrighi , Kaddour Bouderoua, Marina Santaella, Gema Nieto</i>	<i>67</i>
CO8. Effets du transport avant abattage sur les indicateurs de qualité technologique de la viande de poulet de chair nourri avec un régime additionné des feuilles d'olivier	
<i>Asma Khaouchene, Kaddour Bouderoua¹ et Jacques Mourot.....</i>	<i>76</i>
CO9. Caractéristiques biochimiques des fromages à pates molles type Camembert issus des laits de différents stades de lactation	
<i>Bouterfa Asma, Bekada Ahmed, Homrani Abdelkader, Nemmiche Said, Homrani Mounia, Meghoufel Naima Leila, Benkrizi Nawel, Ketrouci Leyla, Zelmat Nadia.....</i>	<i>85</i>

CO10. Caractérisation génotypique de la flore lactique d'un fromage à pâte molle « le camembert du Tessala » fabriqué à base d'un lait de vache thermisé	
<i>Dahou Abdelkader Elamin¹, Bekada Ahmed Mohammed Ali, Homrani Abdelkader, Latreche Bilel, Nemmiche Saidet Meghoufel Naima.....</i>	<i>94</i>
CO11. Identification Microbiologique et Moléculaire (PCR-Delta et PCR-ITS-RFLP) des levures de cépage Cinsault cultivé dans la région Abdelmalek Ramdan (Wilaya de Mostaganem)	
<i>Nadia Berber, Rachid Aissaoui, Ahmed Mohamed Ali Bekada, Morvan Coarer.....</i>	<i>103</i>
CO12. Effet des Acides Linoléiques Conjugués produits par des Bactéries Probiotiques sur le Stress Oxydatif	
<i>Yahla I, Ziar H, Boufadi Y, Riazi A</i>	<i>113</i>
CO13. Place de la Posidonie dans le régime alimentaire des holothuries aspidochiotes (Holothuroidea : Echinodermata) de la frange côtière de Mostaganem (Algérie)	
<i>Nor-Eddine Belbachir, Dina Lila Soualili&Karim Mezali.....</i>	<i>122</i>
CO14. Etude morphogénétique de l'espèce de Gastéropodes Prosobranche <i>Patella ferruginea</i>(Gmelin, 1791) sur les deux morphotypes (<i>Rouxi</i> et <i>Lamarcki</i>) au niveau de la côte algérienne	
<i>Zoheir Bouzaza& Karim Mezali.....</i>	<i>128</i>
CO15. Identification des épibiontes associés à la coquille de <i>Pinnanobilis</i> (Linné, 1758) de la côte Ouest Algérienne	
<i>Belkhamssa Fatima Zohra, Taibi Nasr-Eddine' Deudero Salud.....</i>	<i>135</i>
CO16. Étude de quelques activités biologiques de l'écorce de fruit de <i>Punica Granatum</i>. Etude <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	
<i>N H. Douaour and N. Djebli.....</i>	<i>141</i>
CO17. Lithiase et infection urinaire	
<i>Bouzana Fatma, Sbahi Khayra, Kacem Brahim,.....</i>	<i>148</i>
CO18. Analyse morpho-constitutionnelle d'une série de 119 calculs urinaires.	
<i>Sbahi Khayra, Bouzana Fatima, Kacem Brahim, Michel Daudon, Addou Ahmed, Attar Abderahmane.....</i>	<i>153</i>
CO19. Prospection et évaluation de l'intensité de la maladie d'<i>Alternaria spp</i> dans la zone de production de pomme de terre de la wilaya de Mostaganem	
<i>Ouadah Fatiha, Mahiout Djamel, Bendahmane Boubekour Seddik.....</i>	<i>162</i>

Communications par affiche

- P01. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques d'une plante médicinale de la flore Algérienne *Inula viscosa* L. sur quelques souches pathogènes**
Ouahchia Célia, Saidi Fairouz, Cherif Hamida-Saida, Hamaidi Fella et Hemma Rym.....167
- P02. Caractérisation des bactéries lactiques isolées à partir du blé fermenté (Hamoum) et étude de leur potentiel probiotique.**
Tahlaïti Hafida, Dalache Fatiha, Homrani Abdelkader.....172
- P03. Effet de la transition alimentaire sur les performances du poulet de chair**
Tarek Boussaada, Derradji Ouachem, Abderrahmane Ameer.....176
- P04. Étude comparative des propriétés physico-chimiques et microbiologiques de divers échantillons de lait de brebis collectés dans l'ouest algérien**
Ketrouci Leyla, Dalache Fatiha, Homrani Abdelkader.....182
- P05. Effet de la saison sur la qualité microbiologique du lait cru à la traite dans l'Ouest Algérien.**
Sassi Elhachemi, Homrani Abdelkader, Attou Sahnoune, Nemmiche Said, Seddaoui Ismail.....187
- P06. Diagnostic de la Qualité du lait cru de vache réceptionné dans les laiteries de l'ouest d'Algérie.**
Seddaoui Ismail, Ait Saada Djamel, Homrani. A et Sassi E.....195
- P07. Contribution à l'étude du régime alimentaire de l'oursin *Arbacia lixula*, (Linnaeus, 1758) vivant au niveau de la côte de Mostaganem.**
Elakkermi Mohammed et Soualili Dina Lila.....204
- P08. Phylogéographie de quelques espèces d'holothuries aspidochirotes de la côte algérienne**
Toufik Mansouri et Karim Mezali.....217
- P09. Étude de quelques caractères biométriques chez la thonine *Euthynnus alletteratus* (Rafinesque, 1810), pêchée dans la côte de Mostaganem.**
Ansel Mohammed Amine¹, Benamar Nerdjess².....222
- P10. Contribution de la biomasse des épiphytes de *Posidonia oceanica* à l'apport de matière organique au substrat de l'herbier, Côte de Mostaganem**
Abdelhamid Bouchher, Nasr-Eddine Taibi.....233
- P11. Étude préliminaire sur la Biologie et la Reproduction d'un petit requin *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810) sur les côtes oranaises.**
Ait Darna Samira, Taleb Bendiab A.A., Boutiba Z.....243

P12. Total Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Methanolic Extracts from <i>Marrubium vulgare</i> Leaves and Flowers	
<i>Imane Namoune, Bachra Khettal et Lekhmici Arrar.....</i>	251
P13. Extraction et caractérisation de la cellulose obtenue à partir de la plante Alpha (<i>Stipa Tenacissima</i> L)	
<i>D.E. Kherroub, A. Boucherdoud, L. Bouhadjar.....</i>	258
P14. Potentialités des parasitoïdes primaires des pucerons des agrumes dans la région de Mostaganem – Algérie-	
<i>Zine Eddine Labdaoui et Yamina Guenaoui.....</i>	264
P15. Etude de l'adaptation et des rendements de quelques variétés locales de céréales dans la wilaya de Tlemcen (Ouest Algérie).	
<i>M. Bendi Djelloul, L. Mostefa Kara, S.M. Amrani, B. Ghezlaoui.....</i>	272

COMMUNICATIONS ORALES

Conférence plénière :

L'utilisation du filet dérivant au niveau des pêcheries de Mostaganem

Bachir Bouiadjra Benabdallah et Sifi Mustapha

¹Laboratoire : Sciences et Productions Animales, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Email : bouiadjraa@yahoo.fr et chineinspp2013@gmail.com

Résumé : L'utilisation du filet maillant dérivant au niveau des pêcheries remonte aux années quatre-vingt, cet engin de pêche passif, est destiné à la capture de différentes espèces de thon, d'Espadon, de Bonite, Melva, et Maquereau, mais menace d'autres espèces marines, d'intérêt écologique reconnu en Méditerranée, notamment les cétacés, tels Cachalot, Globicéphale, Grand dauphin, Dauphin de Risso, et tortues marines. L'étude menée à travers les enquêtes, décrit le type de métiers, leur nombre, l'apport en produits débarqués au niveau des pêcheries, ainsi que les espèces non ciblées mais capturées par cet engin qui représente une menace pour la présence d'espèces rares, vulnérables et/ou en danger en Méditerranée. Son interdiction est absolue dans la communauté économique européenne, et la commission internationale de l'Atlantique pour la conservation des thonidés. Les résultats du formulaire-enquête sur l'usage du filet dérivant révèlent qu'au niveau national les unités de pêche utilisant ce filet maillant représentent **17 % sur** un total de **2941** unités tout armement confondu, ce qui n'est pas négligeable. Mostaganem en compte un nombre limité. la concentration de l'usage du filet dérivant est signalée à Tlemcen, Boumerdes et Tipaza ceci s'explique par la nature de leur fond benthique et la proximité du détroit de Gibraltar, passage obligée des grands migrateurs halieutiques. L'interdiction, de la pêche au filet dérivant, sera fatale, néanmoins la solution consiste à accompagner financièrement la reconversion progressive des embarcations armées au filet dérivant à l'armement en petite senne ; ce qui implique des mesures de protection pour la ressource halieutique

Mots clés : filet, dérivant, Mostaganem, espadon, menace, interdiction, senne.

1. Introduction

L'utilisation des filets dérivants en Algérie remonte aux années 1980, et connaît un déclin ces dernières années.(Srour1993., Anon., 1996). Ce sont des engins de pêche passifs, de plusieurs Kilomètres de long, et d'une hauteur allant jusqu'à 30 m qui dérive. Le plus fréquemment reliés au bateau auquel ils appartiennent, et dont l'emploi est destiné, principalement à la capture de différentes espèces de thon, d'Espadon, agissant sur l'étage pélagique. Ce gréement est accusé d'être non sélectif, et menace d'autres espèces avoisinantes, notamment les cétacés, les tortues marines et oiseaux (Antoine 1990 ; Beaubrin1999). L'étude menée à travers les enquêtes et observations établies auprès des professionnels, et les armateurs, décrit les types de métiers, leur nombre, l'apport en produits débarqués au niveau de la pêcherie de Sidi Lakhdar-Mostaganem, zone où est basée l'essentielle de la flottille armée au filet maillant dérivant. Elle vise à cerner les objectifs suivants :

- Situation de la pêche au filet maillant dérivant en Algérie et au niveau de la wilaya de Mostaganem suite à l'interdiction internationale prononcée sur l'usage de ce gréement.
- L'utilisation du filet maillant dérivant et son impact dans les côtes de Mostaganem. (Recensement, situation actuelle, impact sur les professionnels et la population riveraine).
- Les solutions envisagées pour mettre en place progressivement les mesures d'interdiction de ce type d'engin au niveau de la wilaya de Mostaganem.

2. Matériel et méthodes

La Wilaya de Mostaganem dispose d'un littoral, qui s'étend sur une distance de 124,5Km de l'embouchure de la Macta, à l'Ouest au Cap Negrawa à l'Est. Caractérisée par :

Une zone de pêche de 2679 Km².

Le Nombre de ports : 03

Ports dont un mixte à Mostaganem (pêche / commerce),

Port de pêche à Sidi Lakhdar

Un nouveau port à la Salamandre.

Les sites d'échouages : 09 sites.

La Flottille de la Wilaya : 216 unités de pêche dont :

- 41 Chalutiers,
- 83 Sardiniers,
- 93 Petits métiers
- 403 plaisanciers.
- collectif marin de 4451. (DPRHM, 2016).

Les petits métiers armés au filet maillant dérivant pratiquent une pêche côtière artisanale, avec des embarcations de 7 à 12 m de longueur, et 2 à 3 m de largeur, une jauge brute de 3, 75 à 5 tonnes, avec 5 personnes à bord et une puissance motrice de 40 à 190 cv.

2-1 Zone d'étude

La navigation des unités de pêche armées au filet maillant dérivant, est limitée entre Ben Abdelmalek Ramdane à l'Ouest du petit port et Bahara à l'Est du petit port, à l'intérieure de la zone de pêche allant des lignes de référence jusqu'à 6 milles marins, la plupart des opérations de filage et de virage s'effectuent entre 60 brasses côté Ouest du petit port vers le chef-lieu de la wilaya de Mostaganem et 200 brasses à l'Est (fig. 1). Ces unités de pêche artisanale ciblent l'espadon durant toute l'année excepté les trois mois d'arrêt biologique allant du 15 Février au 15 Mars et du 01 Octobre au 30 novembre de chaque année.

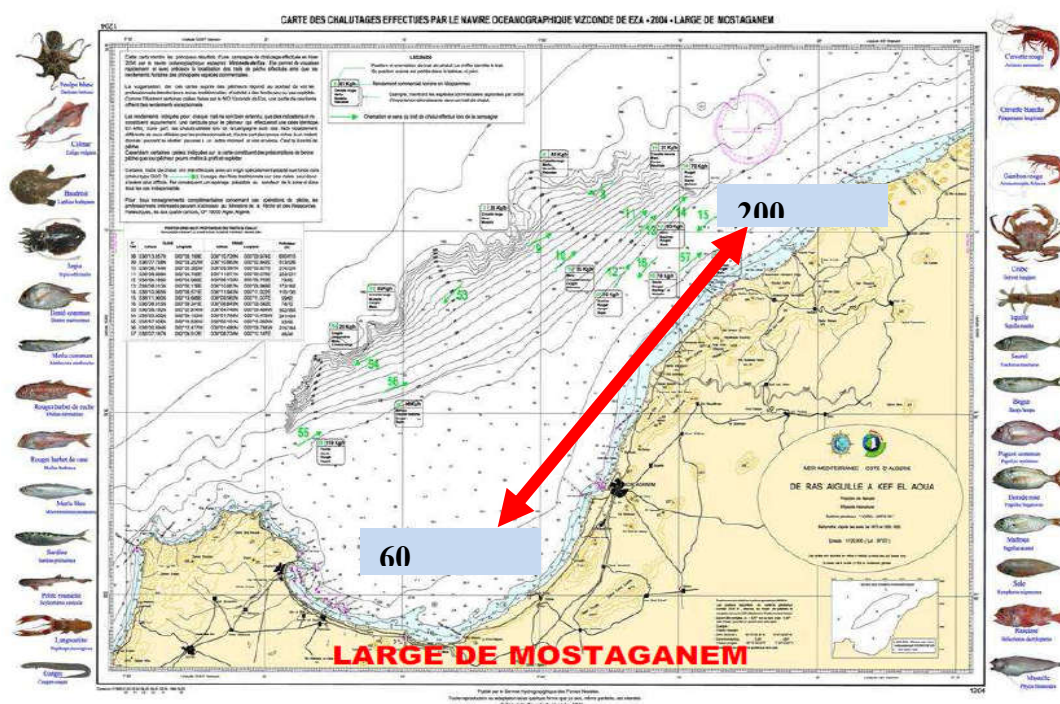


Fig. 1 : Zone de pêche des Petits Métiers armés au filet maillant dérivant à Mostaganem

(Source Vizconde De Eza, 2004)

2-2 matériels utilisés

Le filet maillant dérivant un est gréement de pêche spécifique pour la capture de l'espadon, il a une longueur comprise entre 2000 et 3000 m, un maillage de 200 mm, ce maillage est adopté par la flotte Algérienne, et une chute variant de 20 à 30 mètres (fig. 2 ; 3) Le nombre d'unités pratiquant cette activité à l'échelle nationale est de 574 (DPRHM 2016).

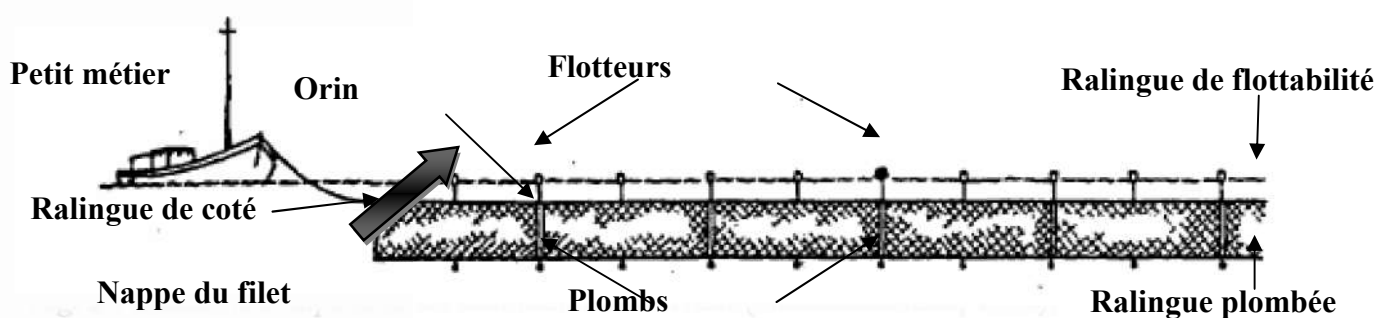


Fig. 3 : Filet maillant dérivant sur le quai de débarquement au port de Sidi Lakhdar.

2-3 caractéristiques des Petits Métiers

Petit métiers est une appellation locale, qui désigne la pêche effectuée à l'aide de petites embarcations de pêche côtière (Kadari, 1984), La pêche artisanale côtière effectuée par ces unités, fournit environ le tiers (1/3) de la production halieutique de la wilaya de Mostaganem. Dans cette activité de pêche trois métiers sont ainsi définis, par des combinaisons d'espèces-cibles, d'engins et de périodes de pêche, Un métier cible les petits pélagique (Sardine), durant toute l'année utilisant la petite senne, et deux autres les poissons migrateurs, Espadon, Melva, Thon, et Bonite. (Ferreti.1994, Maria j. 2006), exploitent les poissons avec des filets maillants dérivant et/ou la palangrotte(Tab.1).

Tab. 1 : Différences entre navires armés-petite senne et filet-maillant dérivant

	Petit Métier (Petite Senne)	Petit Métier (FMD)
Nombre d'équipages	7-8	5
Engin utilisé	Petite senne (2500 m)	FMD (2500-300 m)
Remonte filet	Poulie (power block)	Treuil (élévateur)
Espèce ciblée	Sardine	Espadon
Annexe	oui	non
Mécanicien	Obligatoire	Patron/mécanicien
Nombre D'unités	93	08
Mode de capture	Poisson encerclé	Poisson accroché ou emmêlé

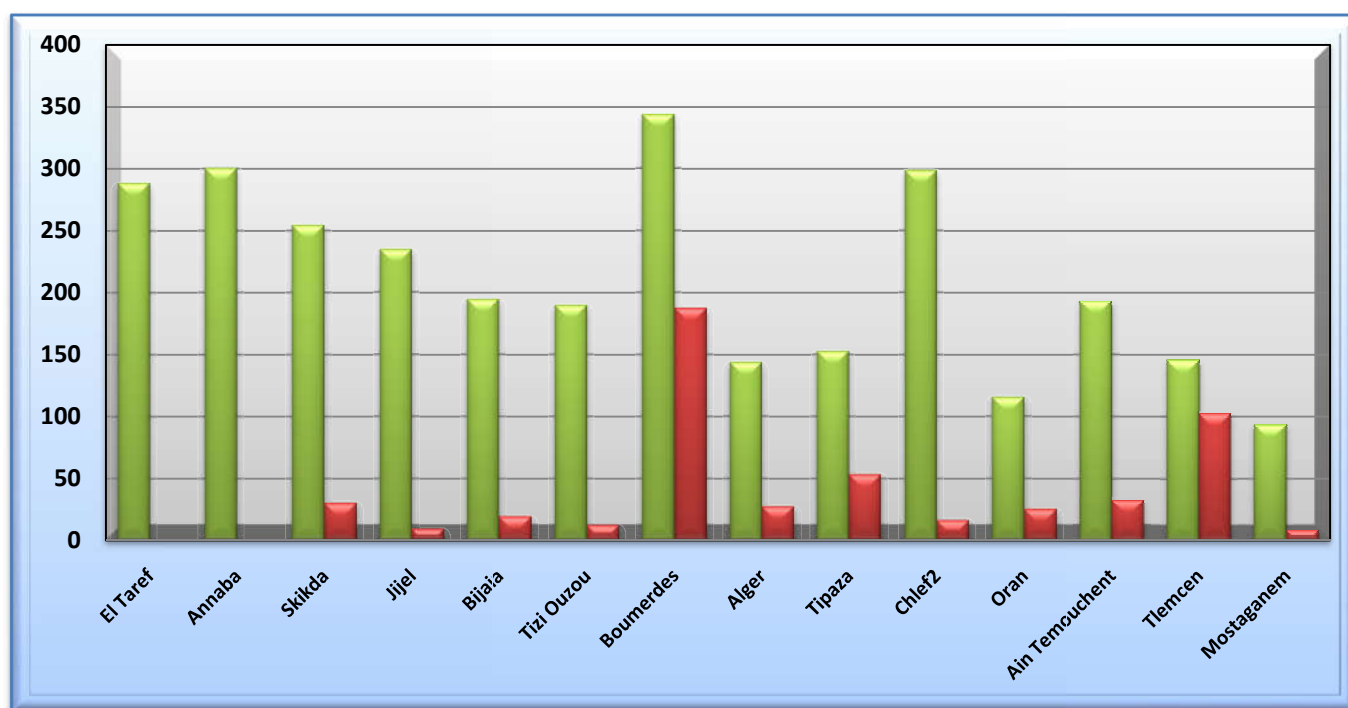
3 Résultats et discussion**Tab. 2 : Navires petits- métiers et taux d'utilisation du filet maillant dérivant**

Wilayas côtières	36	23	21	18	06	15	35	16	42	02	31	46	13	27
Petits métiers Nombre- navires	288	300	254	234	194	189	343	143	152	298	115	193	145	93
Navires armés au filet maillant dérivant	00	00	30	09	19	12	187	27	53	16	25	32	102	09
% d'utilisation du filet maillant	/	/	12	0.1	9.7	6	54	18	34	5.3	21	16	70	08

(Source dprhm, 2016)

(Code wilaya : 36 : El Taref, 23 : Annaba, 21 : Skikda, 18 : Jijel, 06 : Béjaia, 15 TiziOuzou, 35 : Boumerdes, 16 : Alger, 42 : Tipaza, 02 Chelef, 31 : Oran, 46 Ain Témouchent, 13 : Tlemcen, 27 : Mostaganem).

A l'échelle nationale les unités de pêche utilisant, le filet maillant représentent 17% sur un effectif global de petits métiers de 2941 unités tout armement confondu. Le nombre d'unités se concentre dans les wilayas de Boumerdes, Tlemcen, Tipaza (Fig. 4), ceci s'explique par la nature du plateau continental, et la proximité de la wilaya de Tlemcen du détroit de Gibraltar, passage des grands migrants halieutiques, notamment l'Espadon et thon vers la Méditerranée.



Filet Petite senne



filet maillant dérivant



Fig. 4 : Petits métiers armés à la petite senne et au filet maillant dérivant.

A Mostaganem, 9 unités de pêche sont armées au filet dérivant sur un total de 93 navires de type Petit-Métiers, soit un taux d'utilisation de 8% (DPRHM, 2016) ; une pêche rentable est estimée à une prise de 15 pièces d'espadon (*Xiphias gladius*) où l'équivalent de 200 Kg, et une mauvaise prise est évaluée à une ou deux pièces de *X. gladius*. La sortie de pêche dure 12 à 15 h selon l'avis des armateurs et patrons de pêche consultés lors de notre enquête.

3 - 1 La production Halieutique débarquée

Tableau 3 Production d'espadon à Mostaganem

	2011	2012	2013	2014	2015	Total (tonnes)
Chalutiers	3,105	2,429	0,994	0,328	0,909	7,765
Sardiniers	/	/	0,005	/	0,159	0,164
P. Métiers	6,44	9,209	13,58	16,46	20,804	66,493

(DPRHM, 2016)

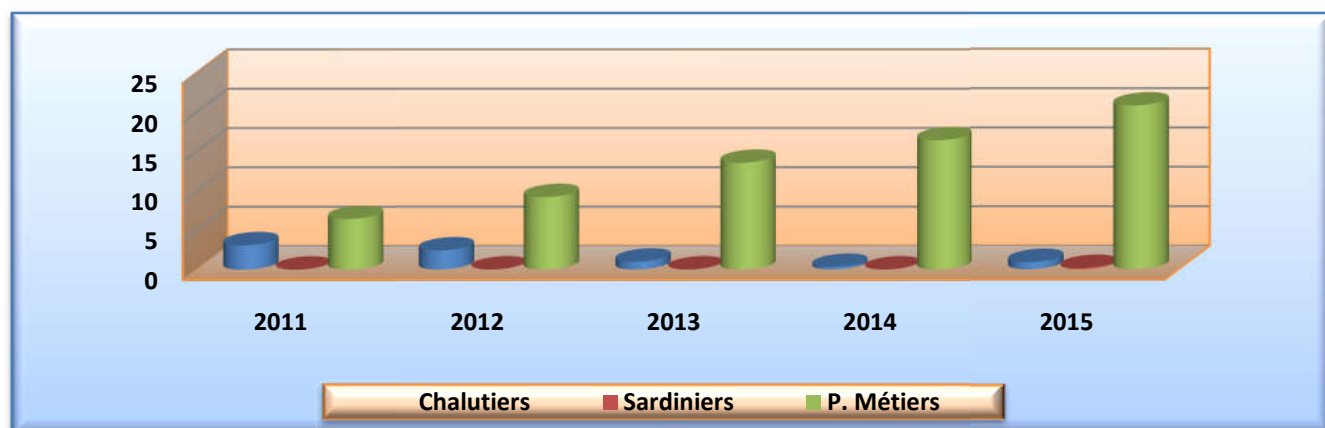


Fig. 5 : Production d'Espadon à Mostaganem

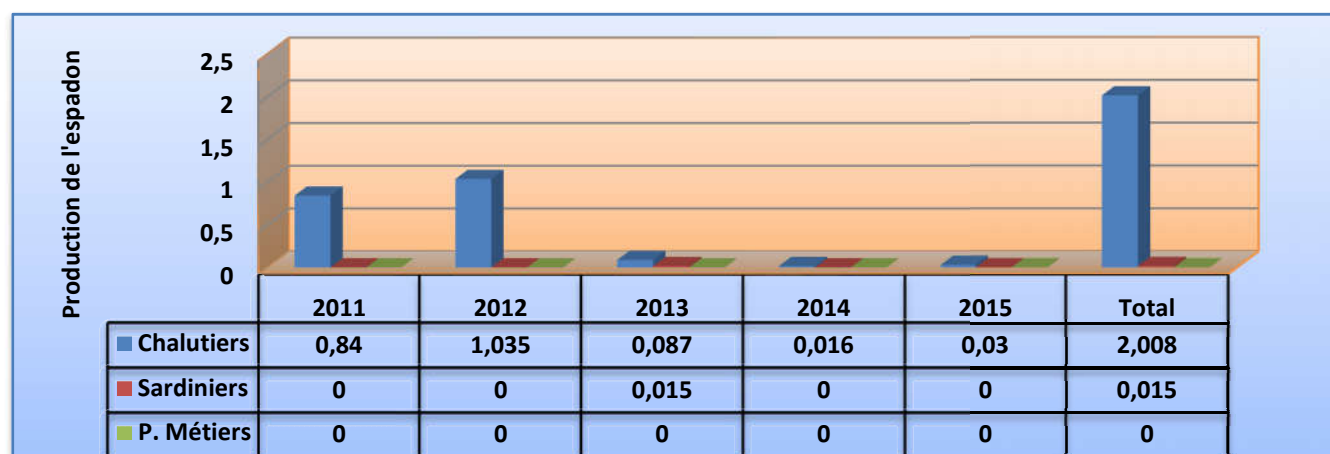


Fig. 6 : Production d'Espadon en périodes d'arrêt biologique de pêche

Notons que les espèces ciblées par le Filet maillant dérivant sont principalement l'espadon (*Xiphias gladius*), (Fig. 7a et 7b) et accessoirement, bonite (*Sardasarda*), Melva (*Auxisthazard*), Maquereau (*Scomberscombrus*), Thonine (*Euthynnusalletteratus*), et Limon (*Sérioladumerili*). Le tableau 3 et la figure 5 illustrent bien une tendance à l'accroissement de la production halieutique débarquée à la pêcherie de Mostaganem pour *X.gladius*, durant les cinq dernières années et constitue de ce fait des prises ciblant bien l'espèce, dans sa période d'autorisation de pêche. Aucune infraction n'est constatée chez les petits métiers armés au filet dérivant, en revanche d'autres types de métiers voire les chalutiers, enfreignent à la réglementation en vigueur par le non-respect de la période de repos biologique fixée à trois mois pour l'espadon. La population de pêcheurs concernée par l'activité du filet maillant dérivant dans notre zone d'étude est jeune, et la pêche artisanale est acquise par empirisme et constitue de ce fait le seul revenu pour les familles de pêcheurs. Les mesures envisagées dans le futur par l'administration centrale, d'interdire l'usage de cet engin de pêche, pour des raisons de prises accidentelles nuisibles à l'écosystème marin, doivent être menées en concertation avec la profession.

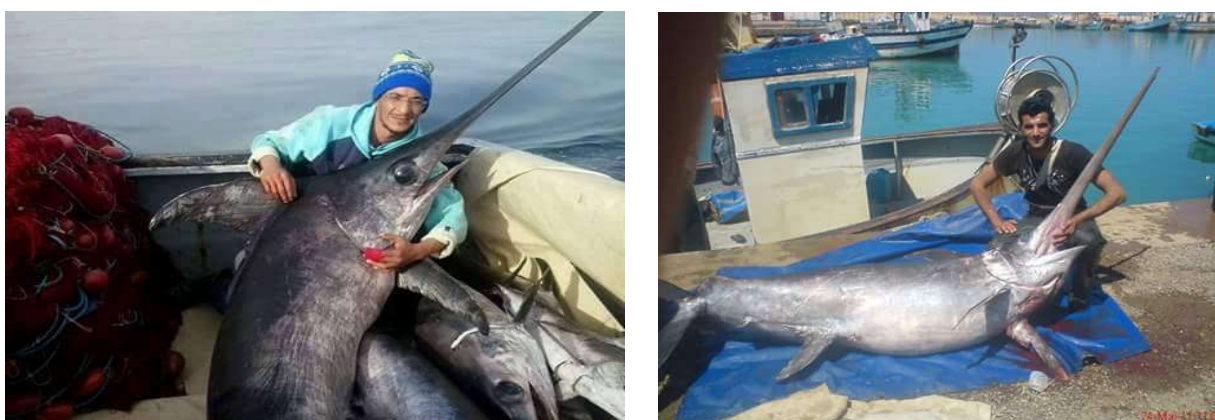


Fig. 7a et b: Pièces d'espadon (*Xiphiasgladius*) prises par un filet maillant dérivant A Sidi Lakhdar, Mostaganem (2015).

3-2 Impacts du filet maillant dérivant relevés à la pêcherie de Mostaganem

3-2-1 Captures de chondrichthyens, delphinidés, et tortues marines

des captures accidentelles de grands requins (*Cethorhinus maximus*, *Alopiavulpinus*, *Prionaceglauca*, *Carcharhinuscarcharias*), ainsi que de pastenagues (*Pteroplatytrygon violacea*) et de raiesmanta (*Mobulamobular*) à statut écologique ont été citées dans différentes pêcheries aux filets dérivants, par différents auteurs, (Di Natale

et al. 1992, Beaubrin, 1999). À Mostaganem, on relève fréquemment des prises accidentelles de chondrichthyens, notamment le requin pèlerin (*Cetorhinus maximus*) qui est une espèce vulnérable (Fig. 10 et 11) non ciblée, figurant dans les prises dont les spécimens représentent des effectifs faibles, et à stations naturellement localisées, ce qui les expose facilement à une disparition, si les pressions du filet dérivant continuent de s'exercer sur leur territoire. Certains patrons de pêche nous ont signalé des prises accidentelles de cétacées voir le dauphin commun *Delphinus delphis* et tortue Marine *Caretta caretta* (Fig. 8 et 9).



Fig. 8 : Dauphin commun (*Delphinus delphis*) **Fig. 9 :** Tortue marine (*Caretta caretta*).



Fig. 10 : Requin pèlerin Pêché par un filet maillant dérivant



Fig. 11 : Requin pèlerin (*Cetorhinus maximus*) de 6 m emmêlé par un Filet dérivant à Sidi Lakhdar (09/05/2016)

V-1 le reflet de cette interdiction sur les pays magrébins

3-2-2 impacts socio- professionnels et mesures envisagées

Les réponses des professionnels mentionnent d'une manière unanime, que toute interdiction sera fatale pour cette activité artisanale, qui procure une source de revenus, pour des familles entières, néanmoins la solution acceptable consistera à accompagner financièrement, la reconversion progressive des embarcations petits armées au filet maillant dérivant, à l'armement en petite senne, en procédant par étape, voir campagnes de sensibilisation, d'explication, de recyclage et de formation pour les professionnels concernés.

Conclusion

Le filet dérivant est un engin de pêche passif, dont l'emploi est destiné à la capture de différentes espèces de thon et d'Espadon, agissant sur l'étage pélagique. Ce gréement menace d'autres espèces marines, à statut écologique reconnu en méditerranée, notamment les cétacés et les tortues marines. Dans les pêcheries de Mostaganem, son introduction remonte aux années 1980. Dans cette perspective, il est nécessaire de situer d'une manière objective, la problématique, l'usage de cet engin qui est prohibé dans certains pays de la région méditerranéenne, et à l'échelle internationale. L'étude fait ressortir un descriptif de l'engin, le type de Métier l'utilisant à travers le pays et à Mostaganem en particulier. Pour se faire, un questionnaire a été conçu par l'administration de la pêche et destiné aux professionnels, afin de se prononcer sur les mesures à adopter au niveau de notre zone d'étude. En effet, les statistiques officielles mentionnent un nombre de 574 unités armées au filet maillant dérivant à l'échelle nationale et Mostaganem n'en compte que 8 d'où le déclin prononcé de son usage, par suite d'une mesure réglementaire datant de 2013, autorisant les navires armés aux filets maillants dérivants à se reconvertir en petits senneurs ce qui représente une solution sans impact sur le revenu des professionnels pratiquant ce genre de métiers. L'espèce ciblée principalement par le filet dérivant est l'espadon (*Xiphias gladius*), cependant d'autres espèces non ciblées figurent dans les prises et représentent des spécimens à effectif faible, et à stations naturellement localisées, ce qui les expose facilement à une disparition si les pressions du filet dérivant continuent de s'exercer sur leur territoire ; exemple certains cétacés voir grands dauphins et Dauphins de Risso. La zone d'étude n'exclut pas ces prises accidentelles, voir une espèce vulnérable le Requin pèlerin (*Cetorhinus maximus*). Les résultats du formulaire- enquête sur l'usage du filet dérivant révèlent qu'au niveau national, les unités de pêche utilisant, ce type d'engin représente seulement 17 % sur un total de 2941 unités tout armement confondu. Mostaganem en compte un nombre limité. La concentration de l'usage du Filet dérivant est signalée à Tlemcen, Boumerdes et Tipaza ceci s'explique par

la nature de leur fond benthique et la proximité du détroit de Gibraltar, passage obligée des grands migrateurs halieutiques. La population de pêcheur concernée par cette activité dans la zone d'étude est jeune, et la pêche artisanale est acquise par empirisme et constitue le seul revenu pour des familles entières de pêcheurs. En outre les réponses des professionnels à l'interdiction du filet dérivant à Mostaganem, mentionnent d'une manière unanime, que toute interdiction sera fatale sur cette pêche artisanale. La solution dissuasive et acceptable, consistera à accompagner financièrement, la reconversion progressive des embarcations, petits métiers au filet dérivant à l'armement en petite senne, ce qui implique des mesures de protection pour la ressource halieutique, et autorisera à l'avenir une pêche durable à Mostaganem.

Références bibliographiques

Anon, 1996. Rapport de la Deuxième Réunion du Groupe de travail *ad hoc* CGPM/ICCAT sur les stocks de grands pélagiques de la Méditerranée (Bari, Italie, 13-19 septembre 1995). Collect. Vol. Sci. Pap. ICCAT, 45(1): 1-97.)

Antoine, L., 1990. Captures accessoires du filet dérivant utilisé pour la pêche au germon (*Thunnus alalunga*) dans le Golfe de Gascogne. Working Paper presented to STFC, Copenhagen 15–16 November 1990.

Beaubrun, N.J.C. Tregenza, A.S. Couperus & S. Pouvreau, 1999. Incidental catches of marine mammals in pelagic trawl fisheries of the North-east Atlantic. Fisheries Research, 41(3): 297- 307.

Di Natale A., 1990a. Swordfish (*Xiphias gladius* L.) catches composition in Italian driftnet fishery in 1990. Paper presented to FAO. CGPM/ICCAT Expert Consultation, Bari, Italy, May 1990.

Dprhm (2016). Rapport annuel service des statistiques de la direction de la pêche et des ressources halieutiques de la Wilaya de Mostaganem.

Estelle Grelier, 2014, Communication sur le filet Maillant dérivant à l'assemblée nationale Française.

Ferretti, M. 1994. Inventariodegliattrezzi da pescausatinellemarinerieitaliane.

MinisterodellaMarina Mercantile. DirezioneGeneraledellaPescaMarittima.

Kadari. G., 1984. Les techniques des pêches utilisées en Algérie. E.N.A.P Ed .135 p.

Maria, J. 2006. L'emploi de filets dérivants par la flotte Marocaine. : 6-7.

Vizconde De Eza., 2004, Campagnes d'Evaluation des Ressources Halieutiques (Février 2003- Février 2004) au titre de la coopération algéro-espagnole pour les ressources pélagiques et les ressources démersales.

Session: Microbiologie**CO1. Probiotic properties of some vaginal lactobacilli isolated from healthy women**

Bechelaghem Nadia^{1,*}, Djibaoui Rachid¹, Ettalhi Mehdi².

¹Microbiology and Plant Biology laboratory, Faculty of sciences of nature and life, University of Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algeria.

² Health public department, Public hospital of Aïn-Tedeles, Mostaganem, Algeria.

*Corresponding author

Mobile number: 07-82-31-48-36

Email address: nadia201107@hotmail.com

nadia.bechelaghem@univ-mosta.dz

Abstract:

Lactobacillus species, that are commonly present in the human vagina, have received considerable attention due to their probiotic properties and their protective effects against infections. The purpose of the present study was to assess *in vitro* the ability of 23 vaginal lactobacilli isolated from healthy women to protect the vagina. The antimicrobial activities and production of lactic acid, hydrogen peroxide (H₂O₂) and bacteriocin, were estimated. Nine of lactobacilli isolates exerted a broad spectrum of antimicrobial activity. The all were able to create an acidic environment and only three were able to produce H₂O₂. The supernatants activity of six isolates, raised the question for a possible production of bacteriocin-like or low molecular microbicides. The findings of the present study encourage to candidate the studied lactobacilli as probiotics. Further researches are needed for their application in prophylaxis of vaginal disorders.

Key words: Vaginal lactobacilli, Probiotic, Antimicrobial activities, Lactic acid, H₂O₂, Bacteriocin.

I. Introduction:

To maintain the balance of vaginal ecosystem using lactic acid bacteria as probiotics, is actually known as a main factor to regenerate the vaginal flora (**Donnarumma et al., 2014**).

The probiotic effect of the lactobacilli is expressed by a combination of competitive exclusion, competition for nutrients, and by t

heir production of antagonizing compounds such as lactic acid, H₂O₂ and bacteriocins (**Aroutcheva et al., 2001a**).

The predominant species of lactobacilli maintain a low pH through their fermenting activity of glycogen, produced by vaginal epithelial cells (Cole, 2006; Pascual *et al.*, 2006). An increase in vaginal pH is detrimental to lactobacilli viability; therefore, local acidification with lactic acid is useful for restoration of the vaginal ecosystem (Meliset *et al.*, 2000). Most Lactobacilli are unable to produce catalase and consequently they can not degrade H₂O₂ produced by the majority of species. Accumulation of H₂O₂ develops oxidative properties with production of powerful oxidants such as singlet oxygen, superoxide radicals, and the hydroxyl radicals. The reactive oxygen species can cause irreversible damage to a number of cell components such as enzymes, membrane constituents and DNA (Schurman, 2001; Daliéet *et al.*, 2010).

Bacteriocins are antimicrobial substances of protein nature, some of which may contain an associated lipid or carbohydrate, that inhibit growth of some microbial species (Riley and Chavan, 2007; Pascual *et al.*, 2008).

In the present study, we isolated some vaginal lactobacilli from different healthy women. We identified these isolates by some phenotypic tests. We detected the production of inhibitory substances such as lactic acid, H₂O₂ and bacteriocin. The performant isolates are proposed as probiotic subjects to regenerate unbalanced vaginal ecosystem.

II. Material and methods

II.1. Isolation and identification of lactobacilli and pathogens:

Twenty-three samples of lactobacilli were collected from twenty different healthy women and carried in the laboratory of bacteriology in (ATPH) Aïn-Teddes Public Hospital (Mostaganem- Algeria). The vaginal samples were taken aseptically with cotton swabs, placed and incubated for 24h in MRS broth (MRSB) and then streaked on MRS agar (MRSA) medium for 48 h incubation at 37°C in anaerobic conditions. All isolates were initially tested for colony morphology, Gram stain, catalase and oxidase activity.

Other phenotypic tests were realized following Pascual *et al.* (2006). The indicator strains were isolated from women with different genital tract infections, collected from ATPH laboratory. They were identified by some phenotypical characters and by using API systems. The phenotypic identification of both of lactobacilli and pathogens isolates was realized in Microbiology and Plant Biology laboratory (Mostaganem- Algeria).

II.2. Determination of *in vitro* antimicrobial activity:

To determine antimicrobial activity against pathogenic bacteria we used anagar spot test (overlay method) described by (Jacobsen *et al.*, 1999). The effect of lactobacilli against *Candida* was studied using Fleming *et al.* (1985).

II. 3. Determination of lactic acid production ability:

Lactic acid production of the lactobacilli isolates was determined in 10 mL of sterilized MRSB by titration with 0.1 N NaOH using phenolphthalein. The titratable acidity was expressed as a percentage of lactic acid (Demirci and veGündüz, 1994).

II.4. Detection of H₂O₂ production:

The H₂O₂ production was detected by a semi-quantitative method as described by Rosenstein *et al.* (1997).

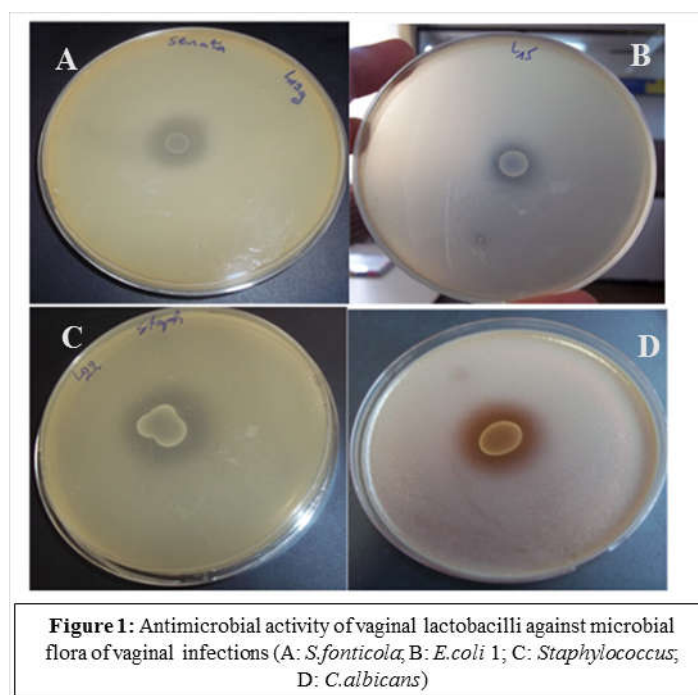
II.5 Detection of bacteriocin production:

For testing the effect of supernatant against bacteria the agar well diffusion method was used (Belma and Emine, 2006). For *C.albicans* the spot method was used (Hoover and Harlander, 1993). The inhibitory effect with buffered supernatants was assumed to be due to H₂O₂ or bacteriocin-like substances (Petrova *et al.*, 2009). 1 mg/ml of catalase was added to exclude the effect of H₂O₂. To detect bacteriocin production, 100 µl of each enzyme (Pepsin, Trypsin and α-chymotrypsin) was added together in a tube containing 1ml of the buffered supernatant of lactobacilli studied (Martin *et al.*, 2009).

III. Results and discussions:

The indicator isolates belonged to *E.coli* 1, *Serratiafonticola*, *Staphylococcus* and *C. albicans* by phenotypic identification using API systems.

All Lactobacilli tested in the present study, showed white to cream, round and small colonies without any pigments (Dasari *et al.*, 2014). They were non sporulated, Gram positive bacilli or coccobacilli, catalase and oxidase negative. The results indicate that 39.13% of the studied vaginal *Lactobacillus* possessed an antimicrobial potential against the used pathogenic germs (figure 1). Belma and Emine (2006) reported that from 58 human vaginal isolates only 10 strains inhibited all the tested bacteria. Several works around the world confirm that human *Lactobacillus* species were found to have antagonistic activity against pathogenic microorganisms. Regulatory processes, are carried out by the species of *Lactobacillus* producing antimicrobial compounds, such as lactic acid, H₂O₂ and bacteriocins (Karaoglu *et al.*, 2003; Dasari *et al.*, 2014).



The results indicated in **table 1** show that lactic acid produced by the studied *Lactobacillus* was related to acidity. The level of pH induced by lactobacilli isolates ranged from 4.07 to 4.60 and titratable acidities (%) were between 1.21 and 1.59%. Lactic acid produced by vaginal lactobacilli maintains a low vaginal pH and high redox potential which can inhibit growth of other bacteria (Rolfe, 2000).

Table 1: The lactic acid levels produced by *Lactobacillus* isolates. Values are the means $\pm$ standard deviations of triplicate measurements.

Isolates	pH	Titratable acidity (%)	Isolates	pH	Titratable acidity (%)
L1	4.60 $\pm$ 0.00	1.40 $\pm$ 0.52	L16	4.45 $\pm$ 0.01	1.29 $\pm$ 0.45
L3	4.07 $\pm$ 0.06	1.48 $\pm$ 0.00	L17	4.44 $\pm$ 0.01	1.30 $\pm$ 0.00
L4	4.20 $\pm$ 0.01	1.50 $\pm$ 0.00	L18	4.40 $\pm$ 0.02	1.31 $\pm$ 0.17
L5	4.19 $\pm$ 0.01	1.22 $\pm$ 0.00	L19p	4.32 $\pm$ 0.05	1.25 $\pm$ 0.50
L6	4.18 $\pm$ 0.00	1.43 $\pm$ 0.00	L19g	4.31 $\pm$ 0.02	1.38 $\pm$ 1.15
L7	4.15 $\pm$ 0.00	1.32 $\pm$ 0.00	L20	4.42 $\pm$ 0.08	1.35 $\pm$ 0.06
L10	4.13 $\pm$ 0.02	1.23 $\pm$ 0.00	L21	4.41 $\pm$ 0.03	1.40 $\pm$ 0.00

L12	4.14±0.01	1.21±0.00	L22	4.47±0.02	1.59±0.29
L13	4.16±0.01	1.35±0.50	L23-1	4.33±0.04	1.25±0.87
L14t	4.16±0.01	1.37±0.52	L23-2	4.35±0.01	1.29±0.93
L14b	4.16±0.01	1.43±0.40	L24	4.32±0.02	1.31±0.76
L15	4.17±0.02	1.40±0.23	Control	6.34±0.15	0.10±0.00

Just three isolates L12, L17 and L19g were found to produce weak amounts of H₂O₂. In this respect, it must be taken into account that H₂O₂-producing strains appear to be more stable in the vaginal environment (Valloret *al.*, 2001), and to effectively antagonize undesirable microorganisms (Eschenbach *et al.*, 1989).

The results of all supernatants tested against the four pathogens, showed that the positive bacterial antagonistic activity was obtained only by the non -buffered supernatants. The following lactobacilli: L7, L10, L12, L15, L19g and L20 showed an antagonistic activity against *C. albicans* when the buffered supernatant was supplemented with catalase but no inhibition effect was remarked when pepsin, trypsin and α -chymotrypsin were added. Consequently, the inhibition zones can be highly related to the ability of the studied lactobacilli to produce proteinaceous substances (Figure 2). Bacteriocins are less common for vaginal than environmental lactobacilli (Zamfiret *al.*, 2000). However, Aroutcheva *et al.* (2001b) and Annuket *al.* (2003) revealed that there were no correlations among bacteriocin activity, lactic acid and H₂O₂ production.

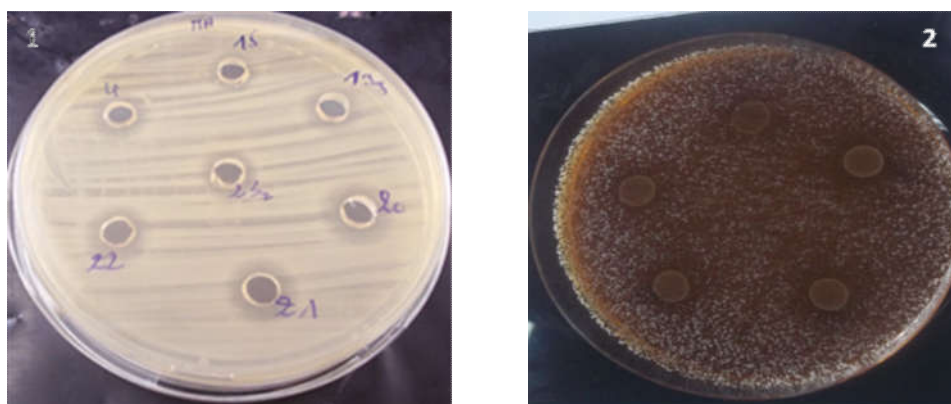


Figure 2: Effect of NBS against *S. fonticola* (1) and BS+c against *C. albicans* (2)

IV.Conclusion:

The *in vitro* tests used in the present study could be useful in the pre-selection of candidate *Lactobacillus* strains for vaginal probiotics. *In vivo* studies are needed to confirm the role of lactobacilli in protecting against pathogens. In conclusion, the maintenance or the reconstruction of the normal composition of the vaginal microflora by applying properly selected lactobacilli may be of prophylactic value in preventing various genital infections in women. More complex studies based on high-standardized methods to select candidates for vaginal probiotics are necessary, before entering the stage of clinical studies.

References:

- Annuk H, Shchepetova T, Kullisaar T, Songisepp E, Zilmer M, Mikelsaar M. Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. J.Appl. microbial 2003; 94:403-412.
- Aroutcheva A, Dominique G, Melissa S, Susan S. Defence factors of vaginal lactobacilli. Am j obstetgynecol2001a; 185(2):375-379.
- Aroutcheva AA, Simoes JA, Faro S. Antimicrobial protein produced by vaginal *Lactobacillus acidophilus* that inhibits *Gardnerella vaginalis*. Infect Dis ObstetGynecol 2001b; 9:33-9.
- BelmaAslim, EmineKilic. Some probiotic properties of vaginal lactobacilli isolated from healthy women. Jpn. J. Infect. Dis 2006; 59:249-253
- Cole AM. Innate Host Defense of Human Vaginal and Cervical Mucosae.Curr top microbiol; 2006. Vol. 306, pp 199-230.
- Dalié DKD, Deschamps AM, Richard-Forget F. Lactic acid bacteria – Potencial for control of mould growth and mycotoxins: A review. Food control 2010; 21: 370-380.
- Dasari S, Naidu R, Shouri DB, Wudayagiri R, Valluru L. Antimicrobial activity of *Lactobacillus* against microbial flora of cervicovaginal infections. Asian pac j trop dis 2014; 4:18-24.
- Demirci M, Ve Gündüz H. SütTeknolojisi El Kitab. HasadYayincilik, Ankara. pp 184, 1994.
- Donnarumma G, Molinaro A, Cimini D, De Castro C, Valli V, De GregorioV, De RosaM, Schiraldi C. *Lactobacillus crispatus* L1: high cell density cultivation and exopolysaccharide structure characterization to highlight potentially beneficial effects against vaginal pathogens. BMC microbiol2014; 14:137. DOI: 10.1186/1471-2180-14-137.

- Eschenbach DA, Davick PR, Williams BL, Klebanoff SJ, Young Smith K, Critchlow CM. Prevalence of hydrogen peroxide-producing *Lactobacillus* species in normal women and women with bacterial vaginosis. J. Clin. Microbiol 1989; 27:251–256.
- Fleming HP, Etchells JL, Costilow RL. Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. J applmicrobiol 1985; 30: 1040-1042.
- Hoover DG, Harlander SK. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria; 1993. pp 23-39
- Jacobsen CN, Rosenfeldt Nielsen V, Hayford AE, Moller PL, Michaelsen KF, Pærregaard A, Sandstro BM, Tvede M, Jakobsen M. Screening of Probiotic Activities of Forty-Seven Strains of *Lactobacillus* spp. by in Vitro Techniques and Evaluation of the Colonization Ability of Five Selected Strains in Humans; 1999. Vol. 65, No. 11.
- Karaoglu SA, Faruk A, Kilic SS, Kilic AO. Antimicrobial activity and characteristics of bacteriocins produced by vaginal lactobacilli. Turk j med sci 2003; 33:7–13.
- Martin MN, Orinda GO, Njagi NM, Cohen CR, Bukusi EA. In vitro inhibitory activity of human vaginal lactobacilli against pathogenic bacteria associated with bacterial vaginosis in Kenyan women. Anearobe; 2009 pp 1-6.
- Melis GB, Ibba MT, Steri B, Kotsonis P, Matta V, Paoletti AM. Role of pH as a regulator of vaginal physiological environment. Minerva Ginecol, Italian 2000; 52:111–121.
- Pascual LM, Daniele MB, Giordano W, Pájaro MC, Barberis IL. Purification and parcial characterization of novel bacteriocin L23 produced by *Lactobacillus fermentum* L23. CurrMicrobiol 2008; 56:397-402.
- Pascual LM, Daniele MB, Pájaro C, Barberis L. *Lactobacillus* species isolated from the vagina: identification, hydrogen peroxide production and nonoxynol-9 resistance. Contraception 2006; 73:78-81.
- Petrova M, Georgieva R, Dimitonova S, Ivanovska N, Hadjieva N, Danova Sv. Inhibitory Activity of Vaginal Lactobacilli Against Human Pathogens, Biotechnology & Biotechnological Equipment 2009; 23: 627-631. doi: 10.1080/13102818.2009.10818502.
- Riley MA, Chavan MA. Bacteriocins ecology and evolution. Chapter 4: the diversity of bacteriocins in Gram positive bacteria; 2007. pp. 45-46.
- Rolfe DR. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. J nutr2000 ; 130 :396–402.
- Rosenstein IJ, Fontaine EA, Morgan DJ, Sheehan M, Lamont RF, Taylor-Robinson D Relationship between hydrogen peroxide-producing strains of lactobacilli and vaginosis-associated bacterial species in pregnant women. Eur J ClinMicrobiol Infect Dis 1997; 16 :517-22.

- Schurman JJ. Antibacterial activity of hydrogen peroxide against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella spp.* in fruit juices, both alone and in combination with organic acids. Master thesis, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University United States, 2001.
- Vallor AC, Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. Factors associated with acquisition of, or persistent colonization by, vaginal lactobacilli: role of hydrogen peroxide production. J. Infect. Dis 2001; 184:1431–1436.
- Zamfir M, Callewaert R, Cornea PC, De Vuyst L. Production kinetics of acidophilin 801, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* IBB 801. FEMS Microbiol. Lett. 2000; 190:305–308.

CO2. Activité antifongique des bactéries de l'acide lactique vis-à-vis *Alternaria alternata* et leur caractérisation moléculaire

ZABOURI Younes*, CHERIGUENE Abderrahim, CHOUGRANI Fadela, MERZOUK Yamina, URZI Clara, DE LEO Filomena*

Résumé :

Les champignons filamenteux phytopathogènes sont les principaux microorganismes de détérioration, responsables de pertes économiques importantes et de plusieurs risques pour la chaîne alimentaire humaine. Les bactéries lactiques (LAB), en particulier les Lactobacilles, et les Entérocoques pourraient être un antagoniste naturel de ces microorganismes dangereux. En Algérie, il existe très peu de données sur l'activité antifongique de bactéries lactiques vis-à-vis des champignons phytopathogènes. Dans la présente étude, 45 souches actives ont été isolées à partir du lait cru de chèvre, de vache, et de chamelle de différentes régions de l'Algérie. Quatorze d'entre elles ont présenté une forte activité antifongique vis-à-vis des cultures de champignons phytopathogènes, toxigéniques, détériorant et allergènes. Ces derniers dont treize se sont révélées *Enterococcus faecium* et une *Lactobacillus plantarum* ont été identifiés par des tests biochimiques et par la méthode de biologie moléculaire (PCR RISA et analyse des séquences 16S rDNA). Cinq souches de champignons phytopathogènes *Alternaria alternata* ont été isolées à partir de racines de tiges et feuilles de tomates et de carottes puis identifiées phénotypiquement et génotypiquement par la méthode de biologie moléculaire (PCR RISA et analyse des séquences ITS d'ADN). L'activité antifongique de ces quatorze souches semble avoir un avantage prometteur de ces cinq souches d'*Alternaria alternata*, ce qui suggère leurs applications potentielles dans différentes technologies alimentaires en tant qu'agents bio-conservateurs contre les champignons phytopathogènes.

Mot clés : Activité antifongique, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, lait cru, *Alternaria alternata*, PCR RISA.

Introduction :

Divers produits alimentaires peuvent être contaminés par une large gamme de champignons filamenteux (Bryden 2012).

Les toxines *Alternaria* sont des mycotoxines produites par des espèces d'*Alternaria* qui causent des maladies végétales sur de nombreuses cultures (EFSA 2011).

Les bactéries lactiques (LAB) sont largement utilisées dans la fermentation alimentaire. La conservation biologique de la nourriture a attiré une grande attention ces dernières années. Le nombre d'études publiées sur l'identification des agents antifongiques LAB est relativement limité (Magnusson J et al. 2003; Mauch A et al. 2010). Les bactéries lactiques ont été associées à l'élimination des trichothécènes in vitro (Fuchs et al. 2008).

Ils ont également été associés à l'inhibition ou retard de la prolifération des champignons ou de la prolifération des spores (Lavermicocca P et al. 2003), en raison de la sécrétion de composés antagonistes.

L'utilisation de l'activité antifongique des bactéries lactiques pour inhiber la croissance de *Fusarium* et d'autres champignons antifongiques tels que *Alternaria* a été étudiée par différents scientifiques.

Le consommateur a besoin de nourriture de haute qualité sans addition de conservateurs chimiques (Adrian and Călina 2014).

Les études sur l'activité antifongique des LAB vis-à-vis les espèces *Alternaria* sont limitées.

Matériel et méthodes:**Isolement et dénombrement des bactéries lactiques:**

Au cours de deux ans d'études (2013-2014), nous avons collectés différents échantillons de lait cru de chamelle, de chèvre et de vache, recueillis dans différentes régions de l'Algérie (Bechar, Oran et Relizane). Après avoir préparé les dilutions de lait, 1 ml de chaque dilution a été utilisé pour l'ensemencement en profondeur du milieu de culture spécifique pour la croissance des bactéries lactiques. Les milieux de culture de base utilisés sont les milieux MRS (Man et al., 1960), M17 (Terzaghi et Sandine 1975) soit liquides soit solides en ajoutant 2% d'agar pour les milieux solides décrits par la International Milk Federation (IDF, 1996). Après incubation (30 °C, 24 à 48 h), un examen microscopique s'effectue après coloration de Gram. La forme des cellules et leur mode d'association sont notés.

Les isolats Gram + et Catalasenégatifs sont alternativement sous-structurés sur un milieu MRS liquide et solide (ou M17 liquide et solide) jusqu'à purification. Chaque fois, 7 à 10 colonies bien isolées sont retirées du milieu MRS solide (ou M17 solide) et transférées dans le milieu MRS liquide (ou M17 liquide) et vice versa. La pureté de la souche est vérifiée par

observation microscopique; L'apparence des colonies (forme, couleur, taille) et l'apparence caractéristique de la culture des bactéries lactiques dans le milieu liquide. La pureté de la souche doit être obligatoirement contrôlée par un examen microscopique.

Identification des isolats LAB:

Les analyses initiées nous permettent de classer les isolats en différents genres. Pour l'identification des espèces et des sous-espèces, des tests biochimiques sont nécessaires pour mener à bien cette tâche.

L'identification des isolats de bactéries lactiques a été réalisée en plusieurs étapes:

- Croissance en présence de NaCl (4% et 6,5%) et à pH 9,6.
- La thermo-résistance est uniquement conçue pour les cocci.
- La croissance à 10 ° C et 45 ° C a été effectuée.
- L'hydrolyse de l'esculine.
- Le type fermentaire.
- Recherche d'arginine dihydrolase (ADH).

Identification au niveau des genres ou des espèces des LAB par séquençage partiel de l'ADNr 16S:

L'identification au niveau du genre ou les souches bactériennes isolées a été réalisée par séquençage partiel de rDNA16S.

Pour l'extraction de l'ADN, les souches bactériennes ont été cultivées dans le milieu MRS liquide puis inoculées dans MRS Agar et incubées à 30 ° C pendant 24 h.

L'extraction de l'ADN a été effectuée selon la méthode Modifiée de Rainey et al. (1996).

L'extrait d'ADN a été vérifié par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1% avec TAE 1X (5 µl d'échantillon ont été mélangés avec 2 µl de tampon de chargement 6x) pendant 30 minutes à 100 volts.

L'extrait d'ADN a ensuite été amplifié dans un volume total de 50 µl en utilisant un ThermocyclerBiometra Tpersonel.

Le mélange de départ pour la réaction de l'amplification d'ADN a été préparé par: 5µL de Taq DNA Buffer 10X, 2 µl de MgCl₂ 50mM, 4µl de DNTP 10mM, 2 µl d'ADN. Les Primers utilisés étaient: F1429 (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3') et R188(5'CGGCTACCTTGTACGACTT3 ') (amorces universelles pour l'ADNr 16S) (12 pmol) en quantité de 2 µl, et enfin l'addition de 32 µl de H₂O UP.

Le programme de PCR comprenait 31 cycles avec une étape de dénaturation de 2 min à 95 ° C. Une autre étape de dénaturation de 1 minute à 94 ° C; Une étape de recuit de 1 minute à 55

° C; Une étape d'allongement de 1min 30s à 72 ° C et une phase d'extension finale de 7 min à 72 ° C et enfin une pause à 4 ° C.

Électrophorèse des produits de réaction PCR:

Le produit de PCR obtenu a été contrôlé par le chargement de 20 µl de chaque échantillon combiné avec 3 µl de tampon de chargement 6X sur du gel d'agarose à 2% dans TAE 1X pendant 3 heures à 80 volts.

La concentration des fragments d'ADN a été déterminée par comparaison avec les marques à l'échelle de la masse d'ADN.

L'ADN quantifié a été envoyé à un centre spécialisé pour le séquençage.

Isolement des champignons:

Au cours de deux ans d'étude (2013-2014), nous avons recueilli des échantillons de tiges et du fruit de la tomate et de la carotte de la région de Mostaganem. L'isolement fongique a été effectué à partir de ces échantillons comme décrit dans Dhingra et Sinclair (1995).

La purification des isolats d'*Alternaria* a été effectuée par la méthode de culture monospore (Djerbi 1990; Sedra 2003; Lesli et Summerell 2006).

Identification des isolats *Alternaria*:

La description des isolats est basée sur les caractères morphologiques (macroscopiques et microscopiques) des cultures dérivées de la culture monospore considérée comme "type sauvage".

Identification au niveau des genres ou des espèces d'*Alternaria* par ITS:

Selon Gurtler (1993), la technique RISA de Gurtler et Stanisich (1996) (Analyse spatiale intergénique ribosomique) dans l'analyse d'une communauté de bactéries cultivables, à savoir l'amplification des traits génétiques entre l'ADNr 16S et l'ADNr de 23S. Ces traits peuvent varier en longueur à ce nombre, puis leur analyse donne lieu à un modèle typique pour chaque groupe taxonomique.

L'identification au niveau du genre ou les espèces de souches bactériennes isolées ont été effectuées par le locus ITS.

L'extrait d'ADN a été vérifié par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1% avec TAE 1X (5 µl d'échantillon ont été mélangés avec 2 µl de tampon de chargement 6x) pendant 30 minutes à 100 volts.

L'extrait d'ADN a ensuite été amplifié dans un volume total de 50 µl en utilisant un thermocycleur Biometra Tpersonel.

Le mélange de départ pour la réaction d'amplification d'ADN a été préparé par: 25 µl de Mix taq, 2 µl de chaque Primers ITS1 et ITS4, 1 µl d'ADN, et enfin l'addition de 20 µl de H₂O UP.

Électrophorèse des produits de réaction PCR:

Le produit de PCR obtenu a été contrôlé par le chargement de 5 µL de chaque échantillon combiné avec 2 µL de tampon de chargement 6X sur du gel d'agarose à 2% dans TAE 1X pendant 30 minutes à 80 volts.

L'ADN est identifié par fluorescence ultraviolette après contact avec le bromure d'éthidium (BET).

L'ADN quantifié a été envoyé à un centre spécialisé pour le séquençage.

Test d'activité antifongique:

Les isolats ont d'abord été ensemencés dans deux stries sur du milieu de gélose MRS, puis incubés à 30 ° C pendant 48 h, puis une coupe de champignon a été déposée au centre du plat et incubée à 30 ° C pendant trois jours, à la fin Pour mesurer le diamètre du champignon (Gerbaldo et al. 2012; Laeref Nora et al., 2013).

Résultats :**Identification des espèces LAB:**

45 souches ont été obtenues du lait de chamelle brut algérien, elles étaient Gram positives, catalase négatives et non sporulées.

L'analyse morphologique, physiologique et biochimique a révélé une diversité de LAB qui a été subdivisée en trois groupes: *Lactococcus. lactissubsp. lactis* (41,17%), *Lactococcus lactissubsp. diacetylactis* (41,17%) et *Weissella cibaria* sp. Nov (17,64%) (tableau 1).

L'identification des souches a été réalisée à la suite des recommandations de Carr et al. (2002) et Dicks et al. (2009).

Groupe 1: 7 isolats homofermentatifs, ADH positif, acéto-négatif, ne poussent pas à 6,5% de NaCl, mais poussent à 4%.

Groupe 2: 7 isolats homofermentatifs, ADH positif, acétone positive, croissance à 4% de NaCl.

Groupe 3: 3 isolats hétéro-fermentatifs, ADH positif, poussent à 15 ° C, 37 ° C et NaCl à 4%.

Identification des isolats LAB:

Identification de 16 souches lactiques à partir de 45 ayant une forte activité anti-fongique par méthode d'analyse moléculaire en utilisant des amorces spécifiques, comme indiqué dans (Fig. 1). L'amplification de l'ADN ITS à partir des bactéries lactiques en utilisant l'amorce F1429 (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3 ') et R188 (5' CGGCTACCTTGTTACGACTT3 '), une paire d'amorces universelle a donné un produit de PCR spécifique.

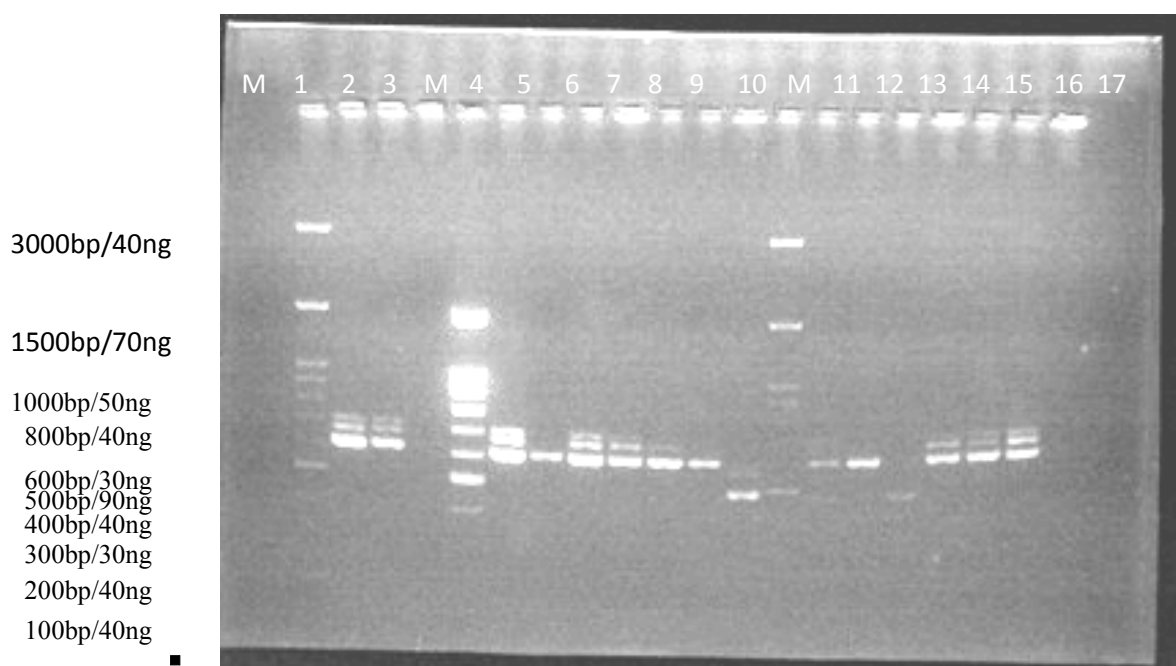


Figure 1: Gel d'amplification d'ADN des bactéries lactiques avec la paire d'amorces F1492 / R188

Séquence partielle des bactéries lactiques par l'ADNr de 16S :

Seize souches représentant la diversité des profils phénotypiques et génotypiques ont été classées génétiquement en deux espèces par séquençage partiel de l'ADNr de 16s (FIG 2). Les deux groupes principaux contiennent le genre *Enterococcus* appartient à l'espèce *E. faecium*, et le deuxième groupe contient le genre *Lactobacillus* appartient à l'espèce *Lactobacillus plantarum*.

Identification des champignons phytopathogènes:

L'analyse mycologique indique que la carotte dans les principales villes productrices de légumes dans le nord-ouest de l'Algérie a été fortement envahie par les spores d'*Alternaria* spp. Les caractéristiques culturelles et morphologiques de 5 isolats étaient très similaires à celles décrites par Simmons (2007). Les conidiophores qui poussent seuls ou en petits groupes produisent des spores dans les chaînes et les conidiospores sont larges avec des septes longitudinaux et transversaux et un bec court typique *Alternaria alternata* et des espèces apparentées.

2000 bp/200ng
1200 bp/120ng
800 bp/80ng
400 bp/40ng
200 bp/20ng
100 bp/10ng

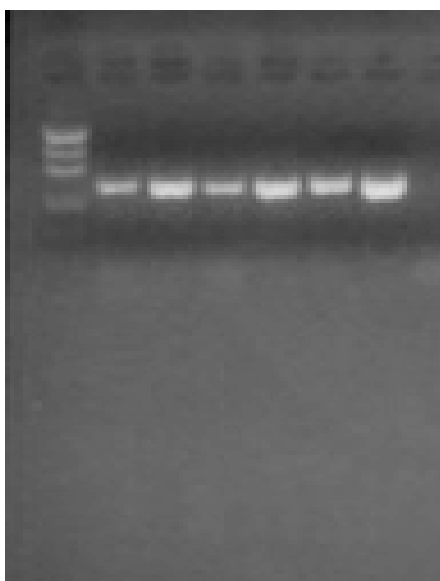


Figure 2: ITS Gel d'amplification d'ADN d'*Alternaria* utilisant la paire d'amorces ITS1 / ITS4

Séquence partielle des champignons par ITS DNA:

Le séquençage partiel des 5 souches d'*Alternaria* a confirmé l'identification phénotypique et les a classés dans le groupe *Alternaria alternata*.

Test d'activité antifongique:

La croissance mycéliale a été inhibée en confrontation directe (deux lignes de 2 cm) et aucune croissance mycélienne n'a été observée dans les deux premiers jours d'incubation. Le diamètre vertical et horizontal du mycélium inhibé par les LAB était de 5 cm et 2 cm respectivement, le parasite n'a pas dépassé les stries LAB même après 14 jours d'incubation, les résultats sont présentés dans le tableau 3.

Souches bactérienn es	5.6	4.6	14	14.18	16.16	14.16	4.13	2	35	14.2	4.25	10	14.10	31	27	16.19	4.19
07	+++	+	++	++	++	++	++	+++	+++	+	+	+	+++	+	+++	++	++
39	+++	++	+++	++	++	+++	++	+++	+++	++	++	+	++	++	++	+++	+++
32	+++	+	+	+	+	+	+	++	+	-	+	+	+	+	+++	+	+
19	+++	++	++	+	++	+	++	+++	++	+	+	+	+	+	+	+++	+
17	+++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+	++	+	++	++	+	+	++
37	+++	+++	++	++	++	++	++	+++	+++	++	++	+	+	++	++	+	++

+++ (Ø = 0) / ++ (Ø [0.5 et 1 cm]) / + (Ø [1 et 2 cm]) / - (Ø > 2)

+++ = Pas de croissance mycélienne, ++ = Faible croissance, + = La croissance ne dépasse pas les stries, - = La croissance dépasse les stries

Discussion:

L'identification des espèces de bactéries lactiques sur 45 souches obtenues à partir de lait cru de chèvre, de vache et de chamelle algérien, a révélé que les bactéries sont Gram-positives, catalase négatives et asporulés.

Les principaux groupes de bactéries lactiques mésophiles isolées dans cette étude à partir de chèvres crues, de vache et de chameaux algériens en laboratoire sont phénotypiquement similaires à *Lactococcus* sp, le même résultat a été mentionné par Merzouk et al. (2014). L'identification par méthode moléculaire RISA et l'analyse des séquences d'ADNr 16S de 16 souches de LAB qui avaient une forte activité antifongique sur les 45 souches n'a pas confirmé notre identification phénotypique d'une manière parce que les isolats étaient *Enterococcus faecium* avec l'exception d'une souche qui s'est révélée *Lactobacillus plantarum*. Ceci peut être expliqué par le fait que *Lactococci*, *Enterococci* et *Lactobacilli* ont les mêmes caractéristiques biochimiques et phénotypiques, ce qui a été confirmé par Schleifer et Ludwig, 1995, Shalini et al., 2005, Carre et al. 2002.

La dominance d'*Enterococcus* dans le lait a déjà été soulignée par de nombreux auteurs dont Helene et al. 2015, Zamfir et al. 2006 dans le lait de vache, Badis et al. 2004 dans le lait de chèvre ainsi que pour *Lactobacillus plantarum* par Fowoyo et al 2015. La prédominance d'*Enterococcus* (*E. faecium*) ou de *Lactobacillus plantarum* semble être due en partie à certaines caractéristiques propres à la ferme. L'habitat naturel des entérocoques est l'intestin des humains et des animaux Falcklam et al., 2002. Gelsomino et al., 2011 ont montré que les Entérocoques étaient présents dans les matières fécales des bovins, les matières fécales humaines et le lait. Detomi 2009 a montré que les Enterococci étaient des bactéries lactiques prédominantes dans la litière de chèvre (50 des 51 souches étaient entérocoques) et confirmées par Hélène et al 2015.

Alternaria alternata sp ont été isolés des tiges et des feuilles de tomates et de carottes avec des taches semblables à celles d'*Alternaria* sp qui ont indiqué qu'elles étaient responsables de la détérioration et cela est confirmé au travail de Kanstantinova 2002, Simmons 2007 et Bessedet et al., 2014. Les caractéristiques culturelles et morphologiques de 5 isolats étaient très semblables à celles décrites par Simmons 2007. Les conidiophores trouvés seuls ou en petits groupes ont produit des spores dans les chaînes et les conidiospores étaient larges avec des septes longitudinaux et transversaux et un bec Short pour *Alternaria alternata* et des espèces apparentées. L'identification moléculaire par PCR

RISA et analyse des séquences ITS d'ADN d'*Alternaria alternata* a confirmé notre identification phénotypique.

Enterococcus spp sont rarement décrits dans les activités antifongiques (Roy et al 2009, Belguesmia et al., 2012).

Dans cette étude, nous avons démontré que sur 45 isolats de bactéries lactiques isolées, seulement 16 souches étaient fortement actives contre les champignons contre 5 souches d'*Alternaria alternata*. La croissance du mycélium et des conidies a été inhibée par les souches lactiques. En effet, nos résultats sont similaires à ceux de Nora et al 2014. Cette inhibition peut s'expliquer par le fait que les LAB peuvent sécréter des acides organiques, des toxines et d'autres produits anti-fongiques. Lavermicocca et al. 2003 ont suggéré que l'activité antifongique de *Lactobacillus plantarum* pourrait résulter de nombreux acides organiques tels que l'acide lactique, l'acide acétique et l'acide phényllactique.

Conclusion :

Plus d'un composé est responsable de l'activité anti fongique d'*E. faecium* et *Lb plantarum*. Nous avons besoin d'études supplémentaires pour utiliser ces composés seuls ou en combinaison pour leur utilisation potentielle dans la biopréservation alimentaire. *E. faecium* peut être utilisé comme culture starter dans les aliments.

References bibliographiques:

Adrian M, Calina P C (2014) Antifungal activity of some lactic acid bacteria isolated from materials of vegetal origin. Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies, Vol. XVIII, ISSN-L 2285-1364

Badis, A, Guetarni D, Boudjema BM, Henni DE, Kihal M (2004) Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiology 21, 579-588

Bani M (2011) Prospection, isolation and phenotypic characterization isolates of *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl f.sp. Albedinis (Killian and Marie). Tests of bacterial antagonism. Memory magister in plant biotechnology. Superior National School of Agronomy - El Harrach - Algeria. Pp: 30-31

Bessedet N, Simoneau Ph, Benichou S, Setti B, Kihal M, et Henni D E (2014) Morphological, physiological and pathogenic variability of small-spore *Alternaria* sp. Causing leaf blight of solanaceous plant in Algeria. African Journal Of Microbiology Research. Vol 8(37), pp. 3422-3434.

- Bryden WL (2012)** Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed and Science Technology*, 173, 134-158
- Cabo ML, Braber AF, Koenraad PMFJ (2002)** *Journal of Food Protection*, 65, 1309–1316
- Carr FJ, Chill D, Maida N (2002)** The Lactic Acid Bacteria: A Liter Survey. *Crit Rev in Microb*, 28(4):281–370
- Cotter PD, Hill C, Ross RP (2005)** Developing innate immunity for food. *Nat Rev Microbiol*, 3:777-88, PMID:16205711. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1273>
- De Man JC, Rogosa M, Sharpe ME (1960)** A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J. Appl. Bacteriol.* 23: 130-135
- Detomi C. 2009.** Environmental microflora which could contaminated the milk. Traineeship report. Engineering school of Purpan, Toulouse, France. 54p
- Dicks LMT, Endo A (2009)** Taxonomic status of lactic acid bacteria in wine and key characteristics to differentiate species, *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 30 (1): 72-90
- Djerbi M (1990)** Bayoud diagnostic methods. *OEPP/EPPO Bulletin*, 20: 607-613
- EFSA (2011)** Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternariatoxins* in feed and food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. *EFSA Journal*, 9(10):2407
- Facklam R, Carvalho MG, Teixeira L, (2002)** History, taxonomy, biochemical characteristics and antibiotic susceptibility testing of enterococci. In : Gilmore, M(Eds), *The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology and Antibiotic Resistance*. ASM Press, Washington, DC (20036-2904)
- Fowoyo PT, Uzoma EO (2015)** Studies on the Antifungal Activity of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus fermentum* on Spoilage Fungi of Tomato Fruit. *Journal of Microbiology Research*. pp 95-100
- Fuchs S, Sontag G, Stidl R, Ehrlich V, Kundi M, Knasmüller S (2008)** Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. *Food and Chemical Toxicology* 46, 1398–1407
- Gelsomino R, Vancanneyt M, Condon S, Swings J, Cogan TM (2001)** Enterococcal diversity in the environment of an Irish Cheddar- type cheesemaking factory. *IntJounal of Food Microbiol*, 71, pp.177-188.

Gerbaldo GA, Barberisa C, Pascuala L, Dalceroa A, Barberisa L (2012) Antifungal activity of two *Lactobacillus* strains with potential probiotic properties, FEMS Microbiology Letter, 332, 27-33

Gurtler V, Stanisich VA (1996) New approaches to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA spacer region. Microbiology, 142: 3-16.

<http://dx.doi.org/10.1099/13500872-142-1-3>

Helene T, Djamila A H L, RoquesC (2015) Phenotypic and genotypic characterisation of

lactic acid bacteria isolated from raw goat milk and effect of farming practices on the dominant species of lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology.168-1605

Jiahui G, Brid B, Ambrose F, Elke A, Padraigin M, Aidan C (2012) Antifungal activity of *Lactobacillus* against *Microsporiumcanis*, *Microsporiumgypseum* and *Epidermophytonfloccosum*. Bioengineered Bugs 3:2, 104–113

Laeref N, Guessas B (2013) Antifungal activity of newly isolates of Lactic Acid Bacteria. InnovativeRomanian Food Biotechnology. Vol. 13

Lavermicocca P, Valerio F, Visconti A(2003) Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products. Appl Environ Microbiol, 69:634-40, PMID:12514051. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.69.1.634-640.2003>

Lesli JF, Summerell A (2006) The Fusarium Laboratory Manuel. Blackwell publishing, USA, 387p

Lind H, Sjögren J, Gohil S, Kenne L, Schnürer J, Broberg A (2007) Antifungal compounds from cultures of dairy propionibacteria type strains. *FEMS Microbiology Letters* 271, 310–315.Magnusson and Schnurer, 2001

Magnusson J, Schnurer J (2001) Applied and Environmental Microbiology, 67, 1–5

Mauch A, Dal Bello F, Coffey A, Arendt EK(2010) The use of *Lactobacillus brevis* PS1 to in vitro inhibit the outgrowth of *Fusariumculmorum* and other common *Fusarium* species found on barley. Int J Food Microbiol 2010; 141:116-21, PMID:20580986. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.05.002>

Merzouk Y, Chahrour W, Zarour K, Zergui A, Saidi N, Henni J E and Kihal M (2014) Physico-chemical and Microbiological Analysis of Algerian Raw Camel's Milk and Identification of Predominating Thermophilic Lactic Acid Bacteria. Journal of Food Science and Engineering 3. 55-63

- Piper C, Cotter PD, Ross RP, Hill C (2009)** Discovery of medically significant lantibiotics. *Curr Drug discovtechnol*; 6:1-18, PMID, 19275538, <http://dx.doi.org/10.12174/157016309787581075>
- Pavlina K, Peter JMB, Marga PE, Van GENT-PELZER1, Patricia vdZ and Ruud vdB (2002)** Development of specific primers for detection and identification of *Alternariaspp.* in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assays. *The British Mycological Society*. Pp 23–33
- Rainey FA, Ward-Raney N, Kroppenstedt RM, Stackebrandt E (1996)** The genus *Nocardiopsis* represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycete lineage: proposal of *Nocardiopsaceae* fam. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46: 1088-1092. <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-46-4-1088>
- Roy U, Kaushik JK, Grover-Batish VK (2009)** Partial purification of an antifungal protein produced by *Enterococcus faecalis* CHD 28.3. *Ann Microbiol* 59: 279-284.
- Ryan L, Dal Bello F, Arendt EK (2008)** The use of sourdough fermented by antifungal LAB to reduce the amount of calcium propionate in bread. *Int J Food Microbiol* 2008; 125:274-8; PMID:18541323; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.04.013>
- Savadogo A, Ouattara CAT, Bassole IHN, Traore, SA (2006)** Bacteriocins and lactic acid bacteria – a minireview. *African Journal of Biotechnology*, 5, 678-683
- Sedra MH (2003)** Bayoud the date palm in North Africa. publication of the sub regional office FOA for North Africa (SNEA) in plant protection. 124p
- Simmons EG (2007)** *Alternaria*. An identification manual: CBS biodiversity series N° 06. CBS Fungal biodiversity centre, Utrecht. The Nederland. 775
- Ström K, Sjögren J, Broberg A, Schnürer J (2002)** *Lactobacillus plantarum* MiLAB393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe-L-Pro) and cyclo (L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(9), 4322-4327
- Talarico TL, Casas IA, Chung TC, Dobrogosz WJ (1988)** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 32, 1854–1858
- Terzaghi BE and Sandine WE (1975)** Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.* 29: 807-813.
- Zamfir M, Vancanneyt M, Makras L, Vaningelgem F, Lefebvre K, Pot B, Swings J, De Vuyst L (2006)** Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Systematic and Applied Microbiology* 29, 487-495.

CO3. Etude du pouvoir antimicrobien des substances bioactives de la moule *Mytilus galloprovincialis*

OTSMANE EL HAOU Siham, MOKHTAR Meriem et RIAZI Ali

Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS), département de Biologie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.

motsmaneelhaou20@gmail.com

Résumé :

La diversité des organismes vivants du monde marin offre un potentiel conséquent pour l'exploitation et la découverte de substances naturelles bioactives. Au sein de cette considérable chimiodiversité, les invertébrés marins continuellement exposés aux microorganismes pathogènes environnants et uniquement pourvus d'un système immunitaire primitif, sans mémoire, représentent un réservoir unique de molécules bioactives de défenses. Le présent travail a pour but d'explorer les propriétés antimicrobiennes des substances bioactives d'hémolymphe de la moule (*Mytilus galloprovincialis*) de la région de Mostaganem. La teneur en protéine a été dosée selon la méthode de Lowry. L'activité antimicrobienne a été testée vis-à-vis d'une panoplie de microorganismes de référence en utilisant la méthode de microdilution. Les résultats obtenus ont montré que la teneur en protéines dans l'hémolymphe augmente avec leur contamination des moules par *E. Coli*, par ailleurs, l'hémolymphe possède un pouvoir antimicrobien. Il s'est avéré que la souche *S. aureus* est la souche la plus sensible à l'action de l'hémolymphe avec une CMI de 0.7177 µg/ml. L'ensemble de ces résultats suggère que les substances associées au système immunitaire pourraient jouer un rôle essentiel dans la défense des bivalves.

Mots Clés : *Mytilus galloprovincialis* – Hémolymphe – Plasma – Protéines –Souches pathogènes.

I. Introduction

La résistance bactérienne aux agents antimicrobien apparait de nos jours comme une des préoccupations majeurs de sante publique, l'émergence et la dissémination de souches bactériennes résistantes résulte de l'usage anarchique et abusif des antibiotiques conventionnels combinées à de nombreuses mutations génétiques qui surviennent dans le monde bactérien (Perreeten *et al.*, 1999). Afin d'éradiquer cette résistance sans cesse croissante, il devient impératif et urgent de développer de nouvelles classes de composés antimicrobiens (Defer *et al.*, 2010).

Les organismes marins présentent un intérêt scientifique énorme. En effet, ils possèdent des structures, des voies métaboliques, des systèmes reproducteurs et des

mécanismes de perception et de défense uniques parce qu'ils ont su s'adapter à leur environnement, parfois hostile. L'identification de nouvelles substances naturelles marines bioactives est une voie prometteuse pour identifier des stratégies thérapeutiques innovantes (Defer *et al.*, 2010).

De nombreuses molécules extraites à partir d'invertébrés marins incluant les bivalves, sont connues pour présenter un large spectre d'activités antimicrobiennes. Ainsi, il a été mis en évidence que certaines molécules affectaient la croissance et le développement de bactéries, de virus, de champignons et de levures (Nakamura *et al.*, 1988; Mitta *et al.*, 2000c; Zasloff, 2002). Les activités antibactériennes et antivirales ont été décrites plus spécifiquement chez les bivalves tels que les moules et les huîtres au sein de l'hémolymphe, dans les branchies et le manteau (Seo *et al.*, 2005; Roch *et al.*, 2008).

II. Matériels et méthodes

II.1. Site de prélèvement

Les moules ont été prélevées à partir du port de la wilaya de Mostaganem (latitude 35°55',998 Nord et longitude 0°4',000002 Est). Ce port est situé au centre d'une importante agglomération et se trouve à une quarantaine de kilomètres du port d'Arzew. Il est cadré entre la pointe de Salamandre à l'Ouest et l'embouchure de l'Oued Ain Séfra à l'Est. Le linéaire de quai est long de 2 Km. C'est un milieu semi fermé, en eau peu profonde (2 mètres) (Fig. 1).



Figure 1: Position géographique de la côte de Mostaganem représentant le site d'échantillonnage de *Mytilus galloprovincialis* (🚩) (Google Maps, 2016).

II.2. Prélèvement des moules *Mytilus galloprovincialis*

Les échantillons de moules sont collectés durant le mois d'avril 2016 à une profondeur de 2 mètres. Environ 70 individus de taille moyenne entre 3 et 6 cm correspondant à des jeunes adultes d'environ 18 à 24 mois ont été prélevés (Andral, 2004), période pendant laquelle le métabolisme est stable (Rno, 2006). En utilisant un couteau stérile pour couper le byssus qui lui sert d'organe d'ancrage sur les rochers.

Les moules prélevées sont lavées à l'eau de mer et débarrassées des byssus et des épizoaires présents sur leurs coquilles, puis transportés dans une glacière étanche et hermétique remplie d'eau de mer. Une fois au laboratoire, elles sont rapidement transférées dans un aquarium. Les moules sont acclimatées au moins une semaine avant de procéder aux expérimentations aux conditions du laboratoire afin de réduire l'effet du stress dû au prélèvement et au transport (1.5 l d'eau de mer/ individu). Le renouvellement tous les quatre jours de l'eau de mer constitue leur unique source de nourriture. Les individus morts sont éliminés chaque jour (Kamel, 2014).

II.3. Mesure des paramètres biologiques

a) Biométrie

Les bivalves sont triés, nettoyés et débarrassés de leurs épibiontes, avant de prendre les différentes mesures de la coquille réalisée à l'aide d'un pied à coulisse de précision 1/20 mm, cette opération est réalisée rapidement afin d'éviter tout stress, phénomène biologique pouvant être à l'origine d'une baisse de poids de la masse molle totale et par la suite de l'indice de condition comme le montrent Beninger et al., (1984). Ainsi, les paramètres linéaires (en mm) retenus sont mentionnés dans la figure 2 (Fig. 2):

- La longueur totale (L : prise suivant l'axe antéro -postérieur) ;
- La hauteur (h : distance maximale suivant l'axe dorsa-ventral) ;
- L'épaisseur (l: est la largeur maximale de la convexité des 2 valves réunies).

b) Indice de condition

Le suivi des variations de l'indice de condition permet d'évaluer l'état de santé des organismes et les fluctuations de leurs réserves énergétiques, qu'il s'agisse d'engraissement ou d'amaigrissement. Il correspond au rapport entre le poids du ceps mou de l'individu et le poids corporel. L'IC des moules a été calculé selon la méthode recommandée par Afnor. (1984):

Poids frais du corps mou (g)

$$IC = \frac{\text{Poids frais du corps mou (g)}}{\text{Poids total sans le liquide intervallaire}} \times 100$$

Poids total sans le liquide intervallaire

Chaque individu a été pesé à l'aide d'une balance (Réf : D-72336, KERN-KB 6000-1, Allemagne) pour déterminer les paramètres suivants afin de calculer l'IC:

- **Poids total de la coquille sans liquide intra valvaire:** poids de la coquille, masse molle et sans liquide intra valvaire).
- **Poids frais total:** poids de la masse molle humide totale en gramme de l'animal vivant.

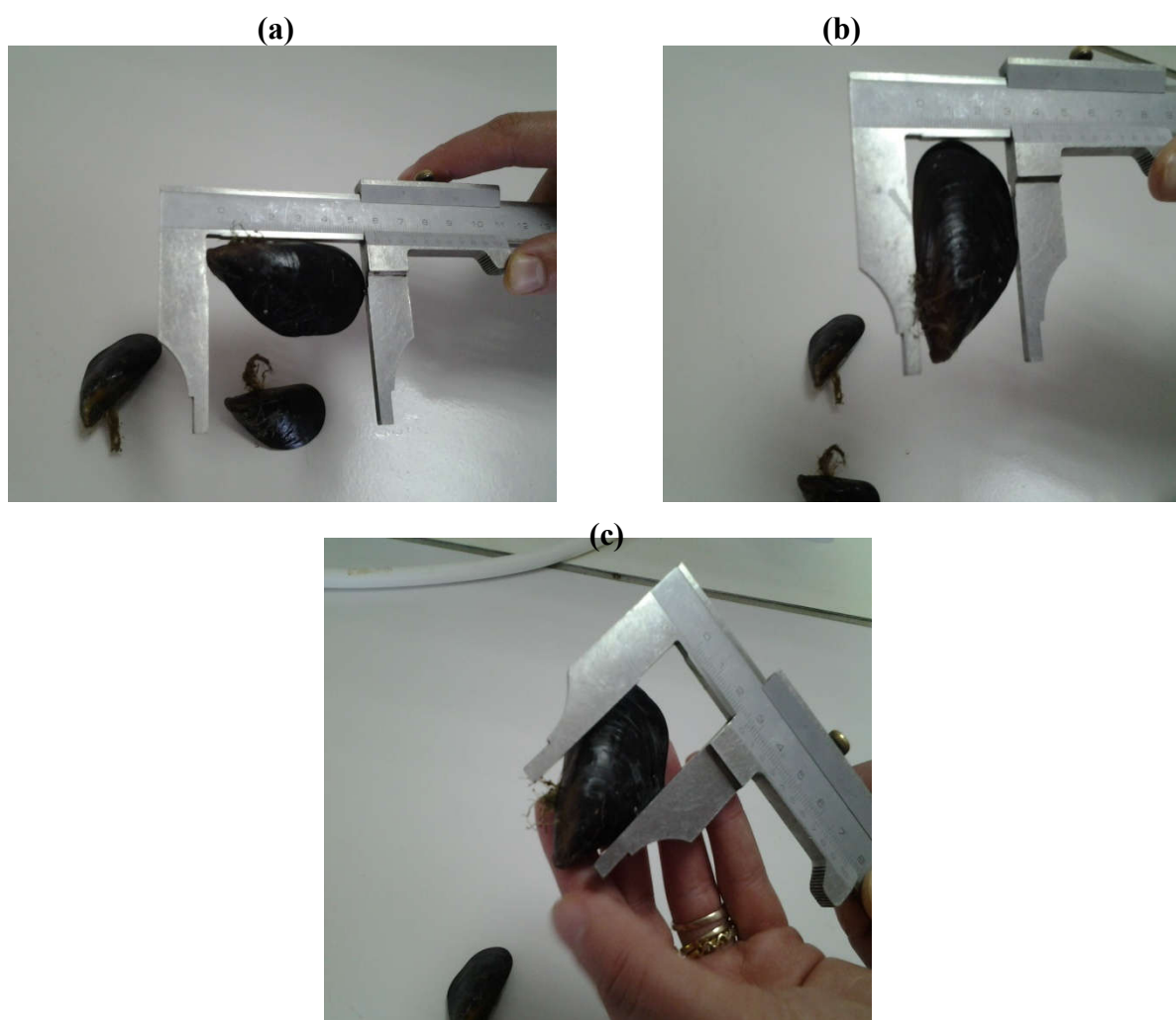


Figure 2: Les différents paramètres linéaires de la moule (a):Longueur, (b): largeur, (c): épaisseur.

II.4. La collection de l' hémolymphhe

L' hémolymphhe (approximativement 0,5 ml/animal adulte) est prélevé à partir du muscle adducteur postérieur à l'aide d'une seringue en présence de 1 volume de tampon anti-agrégant MAS (Modified Alsevier Solution : 27 mM Na-citrate, 336 mM NaCl, 115 mM glucose, 9 mM EDTA, pH 7.0) (Gonzalez et *al.*, 2007), et centrifugé immédiatement à 800g pendant 15 min à 4°C (Tasiemski et *al.*, 2007). Le surnageant, correspondant à la fraction plasmatique, est additionné d'aprotinine (5µg/ml) et congelé (-80°C) jusqu'à utilisation (Mitta et *al.*, 1999).

II.5. Extraction des fractions peptidiques

Le plasma est dilué (1:1 v/v) dans l'eau ultra pure (stérilisée par ultrafiltration MilliQ) contenant 0.1% d'acide trichloracétique. Le pH est amené à 3,9 par HCl de 1M (Bulet et *al.*, 1991), sous agitation dans un bain-marie glacé pendant 30 min. Après centrifugation (10000g, 20 min, 4°C) le surnageant est recueilli et maintenu à 4°C jusqu'à utilisation (Mitta et *al.*, 1999) (Fig. 9).

II.6. Détermination de la teneur en protéines (Méthode de Lowry et *al.*, 1951)

a) Principe

La méthode de Lowry permet le dosage des protéines en combinant la réaction au biuret et le réactif Folin-Ciocalteu. Le réactif Folin-Ciocalteu réagit avec les groupements tyrosines et tryptophanes pour donner une coloration bleue qui s'ajoute à celle de biuret, et qui est proportionnelle à la quantité de protéines de l'échantillon. La grande sensibilité de la méthode de Lowry est sa principale qualité, pouvant atteindre 5 à 10 µg.

b) Mode opératoire

La gamme d'étalonnage s'est effectuée avec une solution d'albumine de sérum bovin (BSA) (Brian-Jaisson, 2014) :

Concentration µg/ml	0	20	40	60	80	100
BSA (1mg/ml)	0µl	10µl	30µl	40µl	50µl	50µl
Eau	500 µl	490 µl	480 µl	470 µl	460 µl	450 µl

Dans des tubes, 500 µL d'échantillon ont été mélangés à 700 µL de solution de Lowry et incubés pendant 20 min à l'obscurité à température ambiante. Ensuite, 100 µL de réactif de Folin Ciocalteu ont été ajoutés et après agitation, le mélange est incubé pendant 30 min à l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 750 nm (Brian Jaisson, 2014).

c) Expression des résultats

Une courbe étalon ou standard est tracée en portant sur l'axe des abscisses, les concentrations en BSA des dilutions (gamme étalon) préalablement préparées et sur l'axe des ordonnées, les DO mesurées respectivement pour chaque dilution. La concentration de la protéine inconnue X, est déterminée en portant la valeur de la DO correspondante sur l'axe des ordonnées qui est ensuite projetée sur l'axe des abscisses (Medjour, 2014).

II.7. Stimulation de la production des peptides de la moule

Afin d'augmenter la production des peptides de la moule, 100 μ l d'*E. Coli* en suspension de charge de 10^8 UFC/ml préalablement traitée par la chaleur (121 ° C pendant 20 min) sont injectés dans la cavité palléale. Après l'injection, les moules ont été retournés à l'eau de mer, et l'hémolymphe a été prélevé après 2 jours. Les protéines sont ensuite dosées par la méthode de Lowry.

II.8. Activité antibactérienne de l'hémolymphe et la fraction peptidique de la moule par méthode de microdilution

Dans cette technique, 100 μ L de chaque suspension bactérienne ont été ajoutés aux puits d'une microplaque de 96 contenant déjà 100 μ L de l'échantillon diluée dans 100 μ L MH liquide d'une façon géométrique de raison de 2. La concentration finale de l'inoculum est $5 \cdot 10^{-5}$ CFU/mL et la concentration maximale des échantillons testés est de 735 μ g/mL pour l'hémolymphe et 153.125 μ g/mL pour les peptides.

Des puits contenant du milieu de culture seul ou bienensemencé avec la souche testée mais sans l'échantillon ont été utilisés comme témoin. Les microplaques ont été incubées à 37°C. La lecture des résultats est effectuée après 24h d'incubation. La plus faible concentration qui a totalement inhibé le germe étudié est considérée comme la CMI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008).

III. Résultats et Discussion

III.1. Analyse des paramètres biométriques

c) Biométrie

Les mesures des paramètres biométriques des moules *Mytilus galloprovincialis* provenant de site du port de Mostaganem (Tableau.2) révèle que le facteur age affecte très significativement les trois paramètres biométriques (longueur, hauteur, épaisseur).

Ces résultats ont montré que la longueur (L), la hauteur (H) et l'épaisseur (E) de la coquilles des moules sont significativement élevés chez les moules adultes par rapport à ceux

des moules jeunes.

Concernant notre travail, la plus grande taille des individus récoltés au niveau du port de Mostaganem est de 6 cm.

Tableau 2: Les paramètres biométriques des lots d'individus échantillonnés des moules *Mytilus galloprovincialis*, provenant du port de Mostaganem.

	variance
L	4.37±0.81
H	2.4±0.5
E	1.63±0.49

L: longueur de la coquille (cm); H: hauteur ou largeur de la coquille (cm) ; E : épaisseur (cm).

d) Indice de condition

L'indice de condition (IC) reflète les conditions physiologiques des organismes vivants. Les résultats de l'indice de condition des moules *Mytilus galloprovincialis*, provenant du port de Mostaganem est de l'ordre de 29.33±0.063 (Tableau.3). Ces résultats sont en accord avec les travaux de Rouane-Hacene (2013).

Tableau 3: Indice de Condition des lots d'individus échantillonnés des moules *Mytilus galloprovincialis*.

Paramètres biométriques	Avril (port de Mostaganem)
Poids frais	2.2g±1
Poids total sans l'eau palléale	7.5g±2.44
Indice de condition	29.33±4.62

Selon Rouane-Hacene. (2013) les valeurs de l'IC des moules *Mytilus galloprovincialis*, se présentent comme suivant :

- Site 1: Le port d'Oran (35°42'31.07''N, 0° 38'26.76''W) qui est un grand port mixte (commerce, pêche et plaisance), est également caractérisé par la présence des deux plus grands émissaires d'eaux usées de la ville, avec IC de l'ordre de 33.88±0.55.
- Site 2: Hadjadj (36°06'09.59''N, 0° 19'11.48''E), qui est considéré comme station de référence, est éloigné de toute activité anthropique (industries, activités urbaines) avec IC de l'ordre de 31.01±0.61.

- Site 3: Ain Defla (S2: 35°49'03.66''N, 0°28'55.89''W), se situe au voisinage d'un petit port de pêche et reçoit les rejets domestiques du village avec de l'ordre de 28.29 ± 0.48 .

La difference entre les conditions du milieu est à l'origine de cette variabilité entre les indices de condition. La temperature, l'oxygène et le statut trophique ont un grand impact sur l'indice de condition.

Les fluctuations du poids sec total chez un individu peuvent être dues à plusieurs facteurs comme la croissance de la chair et de la coquille, la formation et l'émission des gamètes, l'utilisation des réserves pendant certaines périodes du cycle biologique ou la disponibilité de la nourriture dans le milieu (Benzaoui, 2010). Les fluctuations du poids de la chair fraîche dépendent essentiellement du degré de maturité des organes génitaux (Naciri, 1998). Selon Abada-Boudjema et Mouëza (1981), il semble que la variation des indices de condition d'une région à une autre est liée aux conditions nutritionnelles et environnementales.

III.2. Détermination de la teneur en protéines

III.2.1. Courbe d'étalonnage

La courbe est établie en utilisant l'albumine sérique bovine comme référence et les résultats sont exprimés en mg/L. L'équation de la courbe est $y = 0.0092x$ et un coefficient de corrélation de l'ordre de $R^2 = 0.9912$.

III.2.2. Dosage des protéines

La teneur en protéines dans l'hémolymphe et la fraction peptidique des deux types de moules (non infectées et infectées avec *E. coli* traitée avec la chaleur (120°C pendant 20 min) a été dosée selon la méthode de Lowry et *al.*, (1951). Les protéines réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteus (un mélange de tungstate et de molybdate de sodium en solution dans l'acide phosphorique et l'acide chlorhydrique) pour donner des complexes colorés. La couleur ainsi formée est due à la réaction du phosphomolybdate par la tyrosine et le tryptophane.

L'intensité de la coloration dépend donc de la quantité d'acides aminés aromatiques présents dans l'échantillon. La densité optique a été mesurée à 750 nm. Cette méthode permet de doser des concentrations de protéine qui varient de 5 à 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ (Pelmont, 1995).

La figure 3 montre une augmentation de la concentration des protéines après injection d'*E. Coli*. La concentration des protéines atteint une valeur maximale de l'ordre de $1304 \pm 21.84 \mu\text{g/ml}$ dans l'hémolymphe des moules témoin. Dans les moules déjà infectées par *E. coli*, on remarque une amélioration dans le taux des protéines équivalente à 12.73%. En ce qui concerne la fraction peptidique, le taux des protéines a augmenté de 33.72% dans les moules infectées par rapport au témoin.

L'hémolymphe en générale contient plusieurs substances protéiques parmi lesquelles on trouve les enzymes comme la lectine, les enzymes hydrolytiques, les enzymes lysosomaux. Le poids moléculaire de ces enzymes est élevé, elles sédimentent après centrifugation à $800\times G$ pendant 15 minutes à $4^{\circ}C$, et les protéines de faible poids moléculaire restent dans le surnageant qui sont ensuite récupérées tels que peptides antimicrobiennes.

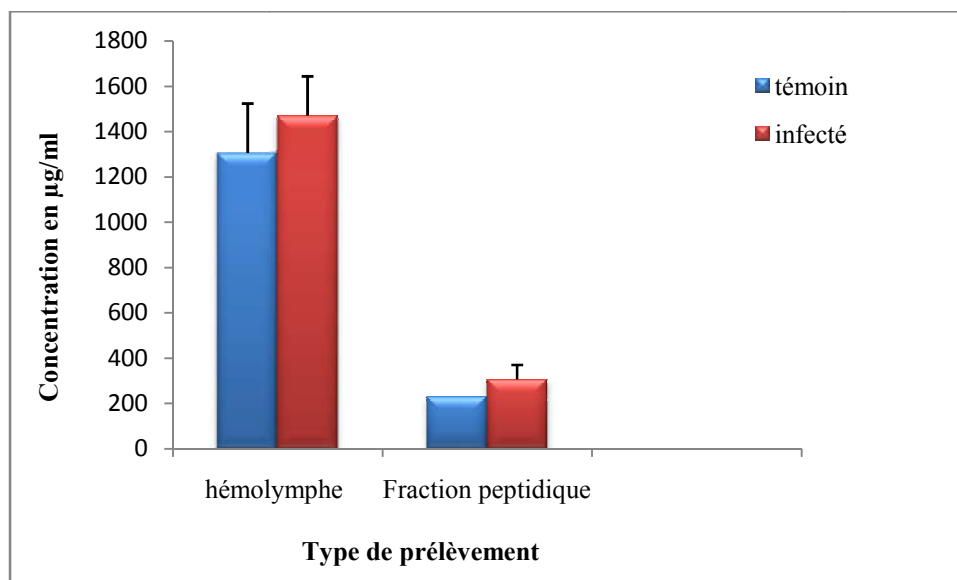


Figure 3: Teneur en protéines dans l'hémolymphe et dans la fraction peptidique dans les moules non infectées (■) et les moules infectées par *E. Coli* ATCC10536 (■).

Selon Fournier et *al.*, (2002), La contamination des aquariums ne semble pas avoir d'effet notable sur les niveaux de protéines. En effet, les concentrations moyennes de protéines des bivalves des aquariums contaminés ne différaient pas significativement de celles des bivalves des aquariums témoins (Fournier et *al.*, 2002). Dans notre travail, les moules ont été directement contaminées par la souche *E. coli*, ce qui explique cette différence dans les résultats.

Au cours de l'expérience de Robledo et *al.*, (1995), la concentration de protéine variait de 0,620 à 1,962 mg/ml dans des échantillons de profondeur de 2 m et 0,770 à 2,830 mg/ml à partir des échantillons de profondeur de 5 m. Ces résultats sont inférieurs à ceux enregistrés dans notre travail qui est de l'ordre de 1.3 mg/ml.

Santarem et *al.*, (1992) ont rapporté que les protéines de hémolymphe étaient liées à la réponse humorale et cellulaire et variaient selon la saison et l'environnement. Ces résultats suggèrent une forte dépendance des concentrations de composants de l'hémolymphe sur la température, la salinité, la disponibilité des aliments et la pollution.

III.3. Pouvoir antibactérien d'hémolymph et des fractions peptidiques de la moule *Mytilus galloprovincialis*

Durant ces deux dernières décennies, de plus en plus de cas de multirésistances bactériennes aux antibiotiques classiques ont été recensées. Au niveau de tous les microorganismes, ces multirésistances sont liées à plusieurs facteurs tels que l'utilisation abusive des antibiotiques en agriculture et élevage, l'utilisation inappropriée des antibiotiques en clinique et de manière plus spécifique, des modifications du microorganisme lui-même. Devant cette situation alarmante, il est urgent de trouver de nouveaux traitements contre lesquels les bactéries n'ont pas encore développé de résistance (Atindehou, 2012 ; Mokhtar, 2015).

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antimicrobien de l'hémolymph et des peptides de la moule vis-à-vis de 4 germes pathogènes dont 2 bactéries Gram - : *Escherichia coli* ATCC 10536 et *Salmonella* ATCC 13311 et 2 bactéries Gram + : *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, par la méthode de microdilution. Les résultats sont présentés dans le.

Conclusion

L'ensemble des essais réalisés au cours de ce travail permet de conclure que l'hémolymph et le plasma de la moule (*Mytilus galloprovincialis*) contiennent des substances antimicrobiennes présentant un grand intérêt dans une vaste gamme d'applications industrielles. Parmi ces substances, les peptides sont prédominants. Les peptides antimicrobiens sont ubiquitaires dans la nature et produits par tous les organismes pluricellulaires. Ils constituent, par ailleurs, des éléments clés du système immunitaire. Notre étude a porté sur l'évaluation de son pouvoir antimicrobien vis-à-vis des bactéries Gram – et Gram+.

Au cours de ce travail, nous avons révélé que les mollusques marins principalement *Mytilus galloprovincialis* représentent d'une part, une source potentiellement importante de nouveaux composés antimicrobiens pouvant servir de support pour la découverte de molécules bioactives antibactériennes et/ou antivirales, et ainsi contribuer au développement de nouvelles stratégies pour des actions préventives chez différentes espèces aquacoles. D'autre part, face à l'augmentation avérée de la résistance bactérienne aux antibiotiques, l'exploration de nouvelles ressources naturelles pourrait servir de support pour l'identification voire la conception de nouvelles molécules thérapeutiques à large spectre d'activité et sans

effets secondaires. La nécessité de trouver de nouveaux agents anti-infectieux est un des enjeux majeurs de la recherche et de l'industrie pharmaceutiques.

Références Bibliographiques

Abada-Boudjema, Y., M. Mouëza. (1981). Structure des populations d'une moulière naturelle en baie d'Alger., *Acta Oecol. Oecol. Gener* (2) :183-194.

Afnor. (1984). Recommandations aux Auteurs des Articles Scientifiques et Techniques pour la Rédaction de Résumés. Norme AFNOR NF Z 44□004. Paris, France: Association Française de Normalisation.

Andral, B., Stanisiere , J.Y., Sauzade, D., Damier, E., Thebault, H., Galgani, F. & Boissery, P. (2004). Monitoring chemical contamination levels in the Mediterranean based on the use of musselcaging., *Marine Pollution Bulletin* 49(9- 10):704-712.

Atindehou, M. (2012).Caractérisation structurale et biologique de nouveaux agents antibactériens naturels actifs dans les infection intestinales : des peptides de la chromogranine A et des principes actifs de chromolaena odorata, Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie, université de Strasbourg: 417.

Beninger, P.G. & lucas, A. (1984). Seasonal variations in condition reproductive activity, and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: tapes decussates L. Jefreys, 1863) and T. philippinarum (Adams et Reeve. 1850). *J. expl mar. Boil. Ecol* (79): 19-37.

Benzaoui, M. (2010). Mesure du stress sur la moule mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819) de labaied Kristel (est oranais).Biologie et pollution marines, Universite d'oran es-sénia. Pp : 101.

Brian-Jaisson F., Ortalo-Magné, A., Guentas-Dombrowsky, L., Armougom, F., Blache, Y. & Molmeret, M. (2014). Identification of bacterial strains isolated from the mediterranean sea exhibiting different abilities of biofilm formation., *Microb Ecol* (68):94–110.

Bulet, P., Cociancich, S., Dimarcq, J. L., Lambers, J., Reichhart, J. M., Hoffmann, D., Hetru, C. & Hoffmann, J. A. (1991) Isolation from a coleopteran insect of a novel inducible antibacterial peptide and of new members of the insect defensin family., *J. biol. Chem* (266) : 24520-24525.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2008).

Defer, D., Bourgougnon, N and Fleury, Y. (2009). Screening for antibacterial and antiviral activities in three bivalve and two gastropod marine molluscs., *Aquaculture* 293:1–7. doi:10.1016/j.aquaculture 03.047.

- Fournier, P. E., Fujita, H., Takada, N. & Raoult, D.** (2002). Genetic identification of rickettsiae isolated from ticks in Japan. *J Clin Microbiol* 40, 2176–2181.
- Gonzalez, J. J. A., Hernandez, J. R. O., Ibarra, O. O., Gomez, J. J. U. & Fuentes, V.O.** (2007). Poultry byproduct meal as a feed supplement in mid-lactation dairy cows., *J. Anim. Vet. Adv* (6): 139-141.
- Kamel, B.** (2014). Laboratory of Natural Products Chemistry and Biomolecules (LNPCB), Department of Industrial Chemistry, Faculty of Technology University of Saad Dahlab at Blida., *P.O. Box* 270, 09000 Blida, Algeria.
- Lowry, O. H., Rosembrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J.** (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent., *Journal of Biological Chemistry* 193(1) : 267-275.
- Medjour, A.** (2014) .Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques du lait collecté à partir de chamelles (*Camelus dromedarius*) conduites selon deux systèmes d'élevage (extensif et semi-intensif), thèse Magister en Biologie , université Mohammed Khider , Biskra : 16.
- Mitta G., Vandenbulcke F. & Roch Ph.** (2000c) : Original involvement of antimicrobial peptides in mussel innate immunity., *FEBS Letters* (486) : 185-190.
- Mitta, G., Hubert, F., Noel, T. & Roch, P.** (1999a). Myticin, a novel cysteine-rich antimicrobial peptide isolated from haemocytes and plasma of the mussel *Mytilus galloprovincialis*., *Eur. J. Biochem* (265) : 71–78.
- Mitta, G., Vandenbulcke, F., Hubert, F. & Roch, Ph.** (1999b) : Mussel defensins are synthesised and processed in granulocytes then released into plasma after bacterial challenge. *J. Cell Sci* (112) : 4233- 4242.
- Naciri, M.** (1998). Dynamique d'une population de moules, *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.), vivant sur la côte atlantique marocaine., *Bull. Inst. Sci., Rabat* (21) : 43-50.
- Nakamura, T., Furunaka, H., Miyata, T., Tokunaga, F., Muta, T. & Iwanaga, S.** (1988). Tachyplesin, a class of antimicrobial peptide from the hemocytes of the horseshoe crab (*Tachypleus tridentatus*). Isolation and chemical structure. *J. Biol. Chem* (263): 16709-16713.
- Pelmont, J.** (1995). Enzymes catalyseurs du monde vivant. Press universitaire de Grenoble.
- RNO.** (2006). Surveillance du milieu marin. Travaux du réseau national d'observation de la qualité du milieu marin. Rapport DEL/PC, RA708, Ifremer : 76.
- Roch, P., Yang, Y., Toubiana, M. & Aumelas, A.** (2008). NMR structure of mussel mytilin, and antiviralantibacterial activities of derived synthetic peptides., *Dev. Comp. Immunol* (32): 227-238.

Rouane-Hacene, O., Boutiba, Z. & Risso, C. (2013). Approche multibiomarqueurs appliquée à la biosurveillance marine. Suivi des indices biologiques et de la bioaccumulation métallique chez la moule et l'oursin. Maison d'édition : Presses Académiques Francophones: 364.

Seo, S., Richardson, G. A., & Kroll, K. L. (2005). The SWI/SNF chromatin remodeling protein Brg1 is required for vertebrate neurogenesis and mediates transactivation of Ngn and NeuroD. *Development* 132: 105– 115.

Tasiemski, A., Schikorski, D., Le Marrec-Croq, F., Pontoire-Van Camp, C., Boidin-Wichlacz, C. & Sautière P. E. (2007). Hedistin: A novel antimicrobial peptide containing bromotryptophan constitutively expressed in the NK cells-like of the marine annelid, *Nereis diversicolor*, *Dev. & Comp. Immunol* (31): 749– 762.

Zaslloff, M. (2002). Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 415(6870) : 389-395.

Session : Sciences animales

CO4. Performances de croissance, conditions générales de l'hygiène et état de santé du poulet de chair nourri avec des régimes additionnés de bentonite calcique

Bouderoua Yousra*, Ait-Saada Djamel, Selselet-Attou Ghalem

*Laboratoire de technologie alimentaire et nutrition, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem BP 300 Mostaganem, Algérie ; *Mail : yousra.bouderoua90@gmail.com
Growth performance, general conditions of hygiene and health of broilers fed with diets supplemented with calcium bentonite.*

Résumé

Ces dernières années, l'utilisation de médicaments vétérinaires dans les élevages avicoles, tels que des antibiotiques, a été restreinte en raison de ses conséquences négatives sur la santé humaine en termes de sélection de la microflore et de résistance aux antibiotiques. Dans ce cadre pour améliorer l'état de l'hygiène et l'état de santé des animaux, des poulets de chair ont été nourris avec un régime additionné de bentonite calcique, connu pour ses propriétés adsorbantes, à des doses de 2% (CaB2) et 5% (CaB5) en comparaison avec un régime standard sans addition de bentonite. En plus du contrôle de croissance, des analyses microbiologiques ont été réalisées sur la litière, les murs, les animaux et l'ambiance du bâtiment d'élevage. A la fin de l'élevage des analyses de sang prélevé sur des poulets en vue de tester l'immunité des poulets ont été réalisées. Au 35, 42 et 50^{ème}s jour, les groupes de

poulet nourris avec de la bentonite ont enregistré des poids vifs supérieurs d'environ 13%, en particulier dans le groupe CAB2 par rapport au groupe témoin.

Une très faible ($P < 0,05$) contamination due aux germes totaux a été observée dans les lots recevant la bentonite au niveau de la litière, les murs et les aliments ainsi que l'ambiance du bâtiment d'élevage, de 1,5 à 2,5 fois moins comparativement au lot témoin. La même tendance est marquée pour les levures et moisissures pour les mêmes supports de surface. Les coliformes totaux, les coliformes fécaux dénombrés dans les lots CaB2 et CaB5 ont indiqué une très faible contamination ($P < 0,05$) de l'ordre de quatre fois moins comparativement au lot témoin. Le dénombrement des *Staphylococcus aureus* des lots recevant la bentonite a indiqué une contamination encore plus réduite de 1,5 à 3 fois ($P < 0,05$) par rapport au lot témoin.

Le nombre des cellules érythrocytes, leucocytes et thrombocytes et le pourcentage d'hématocrite étaient plus faibles ($P < 0,05$) dans le groupe CaB2 des poulets de chair mais plus élevés dans le lot CaB5. Cependant, l'hémoglobine a marqué une teneur plus élevée par rapport aux autres constituants du sang ($P < 0,05$) (16,74 vs 14,29 g / dl) dans le lot CaB5%.

Ces résultats montrent que la bentonite calcique, par ses propriétés adsorbantes, peut être utilisée pour améliorer l'état de l'hygiène dans l'élevage du poulet et ainsi participer à la protection de l'environnement.

Mots clés : bentonite calcique, coliformes, poulet, hygiène, santé

Introduction

La volaille constitue une source de protéines animales appréciable et économique, notamment pour les pays en voie de développement, ce qui a justifié son développement très rapide sur l'ensemble du globe depuis une trentaine d'années. Cette évolution a été le résultat de l'industrialisation de la production grâce aux apports des différentes recherches menées en matière de sélection, d'alimentation, d'habitat, de prophylaxie et de technologie du produit final. C'est ainsi que les élevages avicoles exigent de la part de l'agriculteur, une stricte observation des conditions d'ambiance optimales. Pour une meilleure maîtrise des conditions d'élevage, il semble nécessaire de valoriser l'alimentation de poulet de chair en quelques matières premières. La bentonite est l'une de ces matières premières, réputée pour sa richesse en minéraux et susceptible d'être utilisée en alimentation de la volaille. La bentonite est utilisée comme un additif alimentaire dans l'alimentation des volailles et ne présente aucun effet nocif sur la santé des animaux (Prvulovic *et al.*, 2008; Safaeikatouli *et al.*, 2010). La

bentonite ralentit le passage de l'aliment dans les intestins, ce qui permet une meilleure utilisation des nutriments (**Damiri *et al.*, 2010**).

Notre travail expérimental a été mené afin d'étudier les effets de l'incorporation de la bentonite calcique à deux doses (2% et 5%) dans l'alimentation des poulets de chair sur les performances de croissance, l'état hygiénique des bâtiments d'élevage et la santé des animaux.

1. Matériels et méthodes

1.1 Animaux et régimes

150 poussins, objet de cette étude, ont été élevés pour une durée de 50 jours. La formulation alimentaire des régimes destinés à l'alimentation du poulet chair comprend principalement : le maïs, le tourteau de soja, le son de blé, les minéraux et vitamines. A partir de la deuxième semaine d'élevage, les poussins ont reçu l'aliment de croissance type commercial provenant de l'unité aliment de bétail de Mostaganem additionné de la bentonite type calcique.

En effet, les animaux sont séparés en trois lots expérimentaux : lot 1 témoin (aliment standard sans bentonite), lot 2 (2% bentonite brute), lot 3 (5% bentonite brute).

Le poids vif, la consommation d'aliment, le gain du poids, l'indice de consommation sont mesurés hebdomadairement durant le cycle d'élevage.

1.2 Analyses biochimiques

Au 49^{ème} jour d'élevage, des prélèvements sanguins ont été effectués sur cinq animaux de chaque lot au niveau de la veine alaire. Ensuite, le sang prélevé dans des tubes d'EDTA directement est transmis au laboratoire médicale afin d'effectuer la numérotation des érythrocytes, leucocytes, hémoglobine, hématocrite et thrombocytes.

1.3 Analyses microbiologiques

Le prélèvement des échantillons a été choisi au hasard dans différents endroits, et il a concerné : l'air ambiant, les murs des bâtiments (à 15 cm du sol), la litière et les poussins. Les germes identifiés sur les différents prélèvements ont concerné particulièrement : germes totaux, coliformes fécaux et totaux, levures et moisissures et *staphylococcus aureus*.

1.4 Analyses statistiques

Les résultats paramétriques ont subi une analyse de variance, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls (procédure GLM, SAS Institute, 1989).

2. Résultats et discussion

Le poids vif et l'indice de consommation sont présentés dans le tableau 1. Au 28^{ème} jour, aucune différence significative n'est observée entre les traitements. Cependant, au 50^{ème} jour,

les poussins nourris aux régimes à base de bentonite présentent le poids vif le plus élevé, particulièrement le groupe additionné de CaB 2% avec une différence de 13% ($P<0,05$) comparé au lot témoin. A la fin d'élevage, le poids vif a augmenté ($p<0,05$) chez les animaux ayant été nourri au régime à base de bentonite brute CaB à 2% et 5%. Par ailleurs, les animaux du lot témoin présentent le plus faible poids corporel contrairement aux autres lots. Cette amélioration en poids des animaux peut être expliquée par l'effet de la bentonite sur le ralentissement du transit intestinal, conduisant ainsi un temps de rétention accrue dans l'intestin. (Tauqir and Nawaz 2001; Pasha et al, 2008) ont montré que l'addition de la bentonite à 1, 2 et 3% augmente le gain du poids, l'indice de consommation et le poids final des animaux, par contre la bentonite à 4% les diminue.

Tableau 1. Performances de croissance des poulets de chair

	14	21	28	35	42	50
Poids vif (g)						
CaB 2%	471,25	605,00	962,95	1425,00	1977,50	2464,00
CaB 5%	485,83	596,75	1014,75	1471,75	1985,00	2381,80
C	464,17	664,85	1099,50	1560,50	1920,50	2146,00
SEM	53,01	84,05	11,88	16,85	23,96	22,64
Effet CaB	NS	NS	NS	$P<0,05$	$P<0,05$	$P<0,05$
Gain de poids (g)						
CaB 2%	256,43	367,57	481,24	631,43	736,81	842,19
CaB 5%	249,52	431,10	420,48	595,81	675,62	780,95
C	257,68	437,29	466,43	561,19	618,14	676,11
SEM	17,61	17,70	17,35	18,14	19,75	17,89
Effet CaB	NS	NS	$P<0,05$	$P<0,05$	$P<0,05$	$P<0,05$

Pour chaque groupe $n=50$, Les résultats sont exprimés en moyenne et erreur type de moyenne (SEM), PC=poids corporel, GP =gain du poids, $p<0,05$ = effet significatif, NS= effet non significatif,

Les résultats des analyses biochimiques du sang sont présentés dans le tableau 2. Le nombre des cellules erythrocytes, leucocytes et thrombocytes était significativement ($P < 0,05$) plus faible dans le groupe CaB 2% contrairement au groupe témoin, cependant, ce niveau a augmenté ($P < 0,05$) dans le groupe CAB 5%. La concentration de l'hémoglobine a marqué un effet inverse par rapport aux autres constituants du sang. Notre observation est en accord avec les résultats de **Mirsalimi & Julian (1993)** sur des poulets nourris avec des aluminosilicates de sodium et de calcium hydratés qui ont induit un rétablissement des paramètres hématologiques, des niveaux d'activités enzymatiques biochimiques du sérum.

Tableau 2. Paramètres hématologiques.

	CaB 2%	CaB 5%	C	SEM	Effet CaB
Erythrocytes $\times 10^6 / \text{mm}^3$	2,45	2,77	2,69	0,08	$P < 0,05$
Leucocytes $\times 10^6 / \text{mm}^3$	75,50	77,81	85,52	2,38	$P < 0,05$
Hémoglobine g/dl	16,42	16,74	14,29	0,87	$P < 0,05$
Hématocrite%	13,73	15,45	14,12	0,82	$P < 0,05$
Thrombocytes $\times 10^3 \text{ mm}^3$	94,34	98,66	155,33	2,54	$P < 0,05$

Pour chaque groupe $n=5$, Les résultats sont exprimés en moyenne et erreur type de moyenne (SEM), $p < 0,05$ = effet significatif, NS= effet non significatif,

Les résultats des analyses microbiologiques sont présentés dans le tableau 3. Le niveau de contamination de la litière, les murs, les animaux et l'ambiance est plus faible ($p < 0,05$) chez les groupes ayant consommé de la bentonite. En effet, les germes totaux ainsi que les levures et moisissures se développent moins dans les groupes CaB 2% et CaB 5% comparé au groupe témoin. Le nombre des coliformes totaux est significativement plus faible ($P < 0,05$) dans la litière, les murs du lot recevant la bentonite par rapport au groupe témoin. Quel que soit le groupe, la contamination par les coliformes fécaux est faible, voire absente, dans toutes les surfaces analysées. Le nombre de staphylocoques aureus est inférieur de 1,5 à 2 fois ($P < 0,05$) dans les groupes recevant la bentonite. Ces résultats sont certainement dus au fait que les fientes, provenant de poulets sont sèches. Il est bien établi que l'argile composée

principalement de smectite absorbe les liquides (eau, urine, etc ,,,) et diminue l'humidité de la litière, résultant d'une meilleure absorption des nutriments et entraînant une réduction significative du fumier humide (**Carpenter, 1991, Tauquir et Nawaz, 2001**). Les propriétés absorbantes de cette argile vis-à-vis de l'humidité (**Bouanga et al, 1986; Abdelouahab et al,, 1987**) peuvent nous suggérer cette argile comme un additif alimentaire naturel en diminuant l'activité de l'eau, induisant ainsi une faible prolifération de germes contaminants et une meilleure conservation de l'aliment,

Tableau 3. Résultats microbiologiques. Pour chaque groupe n=5, Les résultats sont exprimés en moyenne et erreur type de moyenne (SEM),, $p < 0,05$ = effet significatif, NS= effet non significatif,

Germes totaux (UFC/US)	Témoin	CaB (2%)	CaB (5%)	Effet régime
Litière	Ind	$2,10^3$	$2,10^3$	$P < 0,05$
Murs	$193,10^1$	$80,10^2$	$50,10^2$	$P < 0,05$
Animaux	$30,10^2$	$13,10^2$	$13,10^2$	$P < 0,05$
Ambiance	$26,10^2$	$17,10^2$	$10,10^2$	$P < 0,05$

Levures et Moisissures (UFC/US)

Litière	Ind	20,10 ³	8,10 ³	P<0,05
Murs	156,10 ¹	100,10 ¹	166,10 ¹	P<0,05
Animaux	33,10 ¹	33,10 ¹	0	P<0,05
Ambiance	50,10 ¹	30,10 ¹	16,10 ¹	P<0,05

Coliformes totaux (UFC/US)

Litière	166,10 ²	23,10 ¹	33,10 ¹	P<0,05
Murs	40,10 ²	33,10 ¹	33,10 ¹	P<0,05
Animaux	66,10 ¹	66,10 ¹	0	P<0,05
Ambiance	166,10 ¹	0	0	P<0,05

Coliformes fécaux (UFC/US)

Litière	20,10 ²	10,10 ²	66,10 ¹	P<0,05
Murs	53,10 ¹	0	0	P<0,05
Animaux	0	66,10 ¹	0	P<0,05
Ambiance	0	0	0	P<0,05

Staphylococcus aureus(UFC/US)

Litière	26,10 ²	11,10 ²	8,8, 10 ¹	P<0,05
Murs	22 10 ¹	13,10 ¹	8,7,10 ¹	P<0,05
Animaux	17,10 ¹	11,10 ¹	7,10 ¹	P<0,05
Ambiance	25,10 ¹	1410 ¹	9,5 10 ¹	P<0,05

Conclusion

Les résultats de cette expérience reflètent que l'addition de la bentonite calcaïque à 2% dans le régime alimentaire des poulets de chair a exercé des effets positifs sur les performances de croissance, l'état de santé des poulets de chair, ainsi que sur les conditions d'hygiène des bâtiments d'élevage,

Références bibliographiques

Carpenter G.A. Ventilation of buildings for intensively housed livestock, 1991, In Heat Loss from Animals and Man (Monteith, J, L., Mount, L, E., Eds), London: Butter worths, 1974, pp, 389-404.

Damiri H, Chaji M, Bojarpour M, Eslami M and Mamoei M, 2010. The effect of sodium betonites on economic value of broiler chickens diet. *J Anim Vet Adv* 9: 2668-2670.

Mirsalimi S.M, & Julian R.J, 1993. Effect of excess sodium bicarbonate on the blood volume and erythrocyte deformability of broiler chickens. *Avian Pathology* 22:3, 495-507.

Pasha T.A, Mahmood F, Malik M, Jabbar A of gastrointestinal tract and subsequently liver weight and A,D, Khan, 2008, The Effect of Feed reduction [34], Table 5 Anim, Sci., 32(4): 245-248

Prvulovic D, Kojic D, Grubor-Lajsic G and Kosarcic S, 2008. The effects of dietary inclusion of hydrated aluminosilicate on performance and biochemical parameters of broiler chickens. *Turk J Vet Anim Sci* 32: 183-189.

Safaeikatouli M, Boldaji F, Dastar B and Hassani S, 2010. Effect of different levels of kaolin, bentonite and zeolite on broilers performance. *J Biol Sci* 10: 58-62.

SAS Institute Inc 1989: SAS/STAT User's guide/Version 6, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina,

Tauqir NA and Nawaz H, 2001. Performance and economics of broiler chicks fed on rations supplemented with different levels of sodium Bentonite. *Int J Agri Biol* 3: 149-150,

CO5. Evaluation morphométrique et polymorphisme génétique par amplification du microsatellite ASB02 chez les chevaux Barbe, Arabe-Barbe et Pur –Sang Arabe du nord- ouest Algérien

Kacem Nacéra, Mouats Aziz Et Halbouche Miloud

Laboratoire de physiologie animale appliquée, Université de Mostaganem (UMAB), 10 Avenue Hocine Hamadou, 27000 Mostaganem, Algérie.

Resumé :

Le manque de connaissances concernant la diversité et les caractéristiques du matériel génétique équin d'Algérie ne permet pas d'assurer actuellement de façon efficace sa conservation et sa valorisation ; il est donc impératif de préserver la variabilité génétique des races équines algériennes pour une meilleure conservation et une meilleure exploitation. C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude où nous nous sommes intéressés à deux axes d'étude :

Le premier axe correspond à une enquête sur terrain qui vise en premier à contribuer à la caractérisation morphologique de trois principales races équines existantes en Algérie à savoir le Barbe, l'Arabe-Barbe et le Pur-Sang Arabe

Le Barbe présente une taille moyenne au garrot de $150,5 \pm 3,27$ cm, un poids vif de $451,36 \pm 24,47$ kg, un périmètre thoracique de $176,85 \pm 4,38$ cm et un indice de compacité de $3,00 \pm 0,199$ kg/cm. La taille au garrot de l'Arabe est de $147,25 \pm 3,43$ cm, son poids vif est de $378,57 \pm 16,22$ kg, son périmètre thoracique est de $166,54 \pm 7,59$ cm. Il présente un indice de compacité de $2,6 \pm 0,00$

Le deuxième axe porte sur l'initiation à la contribution de la caractérisation génétique du Barbe et du Pur-Sang Arabe par l'étude du polymorphisme du marqueur microsatellite

ASB02 en utilisant la méthode d'amplification d'ADN *in vitro* par la PCR, suivi d'une électrophorèse sur gel d'agarose.

Nous avons constatés que ce microsatellite présente un haut niveau de polymorphisme prouvés par ces différentes formes alléliques et les génotypes ont été estimés entre 160 – 200 pb. Ce travail nous a permis de constituer la première banque d'ADN équine au sein du laboratoire de recherche de Physiologie Animale Appliquée de l'Université de Mostaganem à partir des prélèvements sanguins d'animaux non apparentés de race Barbe et Pur - Sang Arabe.

Mots clés : Morphométrie, Barbe, Pur-Sang Arabe, Banque d'ADN, caractérisation génétique, , PCR, microsatellite ASB02.

Introduction

Les races équines Algériennes présentent diverses caractéristiques d'endurance, de longévité et de résistance ce qui leur permettent d'avoir une grande importance économique et socio-culturel.

Ce travail a pour objectif d'améliorer les connaissances sur le cheval, démontrer les différences marquées entre les races et préserver la variabilité génétique des races équines Algériennes pour une meilleure exploitation et pour établir des programmes de sélection des races plus performantes.

Les marqueurs moléculaires au niveau de l'ADN constituent les principales sources de données pour caractériser la diversité génétique et les filiations entre les races.

Matériel et méthodes

Une étude morphométrique a été effectuée sur un effectif total de 59 chevaux adultes âgés de 4 ans et plus inscrites au stud- book du cheval algérien en tant que reproducteurs de pure race situé au nord-ouest algérien.

L'extraction d'ADN a été réalisée selon la technique à NaCl à partir du sang total prélevé des chevaux non apparentés. Elle consiste à traiter uniquement le lysat cellulaire par une solution saline pour éliminer les protéines fixées sur l'ADN (Miller *et al.*, 1989).

Le dosage de l'ADN s'effectue par spectrophotométrie dans l'Ultra-Violet et le test de sa qualité a été réalisé par la technique d'électrophorèse sur gel d'agarose.

Le polymorphisme génétique des deux races équines d'Algérie ; Barbe et Pur-Sang Arabe a été étudié à partir des ADN choisis de la biothèque d'ADN que nous avons constitué au sein du laboratoire de recherche de physiologie animale appliquée.

Les amplifications de l'ADN *in vitro* ont été réalisées par la technique PCR dans un thermocycleur, et le test d'amplification est réalisé par électrophorèse sur gel d'agarose.

Résultats et discussion

Le Barbe présente une taille moyenne au garrot de $150,5 \pm 3,27$ cm ce qui est relativement homogène avec les résultats rapporté par Rahal et *al.*, (2009). Un poids vif de $451,36 \pm 24,47$ kg, un périmètre thoracique de $176,85 \pm 4,38$ cm supérieur à la limite minimale de 170 cm exigée par l'OMCB pour l'inscription au stud-book du cheval Barbe (Tamzali, 1989 ; Chabchoub et *al.*, 2004 ; Guedaoura et *al.*, 2011), un indice de compacité de $3,00 \pm 0,199$ kg/cm et un indice dactylo thoracique de $0,106 \pm 0,006$.

La taille au garrot de l'Arabe est de $147,25 \pm 3,43$ cm, son poids vif est de $378,57 \pm 16,22$ kg, son périmètre thoracique est de $166,54 \pm 7,59$ cm. Il présente un indice de compacité de $2,6 \pm 0,00$ et un indice dactylo-thoracique de $0,106 \pm 0,005$ kg/cm ce qui est conforme aux résultats décrit par Gladys (1974).

La comparaison entre les races étudiées a montré que le croisement Arabe - Barbe donne d'excellents résultats puisque l'Arabe -Barbe présente la majorité des caractères appréciés des deux ascendants à savoir la finesse et l'élégance de l'Arabe, la rusticité et la sobriété du Barbe.

La technique à NaCl nous a permis de construire la 1^{ère} biothèque d'ADN équin au sein du Laboratoire de Physiologie Animale Appliquée de l'Université de Mostaganem.

La détection du polymorphisme du microsatellite ASB02 montre qu'il présente un haut niveau de polymorphisme prouvé par ces différentes formes alléliques et les génotypes ont été estimés entre 160 – 200 pb

Conclusion

Les chevaux Barbes et Pur-Sang Arabes étudiés correspondent à leurs standards internationaux. La population Arabe-Barbe issue de leur croisement est très hétérogène vu qu'elle est constituée de chevaux ayant des degrés variables de sang Arabe

La détection du polymorphisme du microsatellite ASB02 montre que la résolution en gel d'agarose est satisfaisante pour mettre en évidence l'ADN génomique, mais ne permettra cependant pas d'avoir une sensibilité suffisante nécessaire pour étudier le polymorphisme de l'ADN microsatellite. Les différences attendues entre les fragments de loci amplifiés chez les différents individus sont en effet minimales de l'ordre de quelques paires de bases, il sera donc nécessaire d'augmenter la sensibilité de discrimination par l'utilisation d'un gel de polyacrylamide ce qui peut mettre en évidence de très légères variations de poids moléculaire.

D'après ces résultats, on peut dire que les ADN extraits constituent un bon outil de travail pour des études de génétique : étude de polymorphisme de marqueurs génétiques par la technique PCR (Polymerase Chain Reaction), étude de cartographie génétique...

Références

- CHABCHOUB A., LANDOLSI F., JARY Y. (2004) Etude des paramètres morphologiques de chevaux Barbes de Tunisie. Rev. Méd. Vét., 155, 31-37.
- GLADYS .B.E (1974) : Faites connaissance avec le cheval arabe. Ed : EdisemInc
- GUEDAOURA S., CABARAUX J.F., MOUMENE A., TAHRAOUI A., NICKS B. (2011) Evaluation morphométriques de chevaux de race Barbe et dérivés en Algérie Ann. Méd. Vét., 2011, 155, 14-22
- MILLER S.A., DYKED D.D., POLESKI H.F. (1989) A simple salting out procedure for extraction of DNA from human nucleate cells nucleic acid ; 16, 1215.
- RAHAL K., GUEDIIOURA A., OUMOUNA M. (2009) Paramètres morphométriques du cheval Barbe de Chaouchaoua. Rev. Méd. Vét., 2009, 160, 586-589.
- TAMZALI Y. (1989) La situation du cheval barbe en Algérie. In : Recueil de tous les textes officiels sur le cheval barbe, Organisation mondiale du Cheval Barbe. Caracole : Lausanne, 107-115.

C06 : Effets des régimes alimentaires à base d'herbe sur la composition en acides gras du lait de brebis

BELABBES Mohamed^{1,2}, BOUDEROUA Kaddour¹, ATTOU Sahnoun²

(1) : Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition BP 300, 27000 Univ –Mostaganem

(2) Laboratoire des Sciences et Techniques des Production Animales BP 188,27000 Univ-Mostaganem

Resumé :

L'objectif de ce travail est de tester l'effet des régimes à différentes proportions d'herbe dans la ration des brebis dans des conditions d'élevage contrôlées sur la composition en acides gras du lait. Les échantillons de lait de brebis de la race locale Ouled Djellal sont collectés à partir de 3 groupes de brebis ayant reçu une proportion croissante d'herbe: groupe 1 sans herbe(SH), groupe 2 avec 50% d'herbe complété avec un aliment concentré(MH) et groupe 3 (TH) le pâturage complet (100% d'herbe). Dans ce cadre, les extraits lipidiques des laits sont

méthylés puis passés en chromatographie phase gazeuse, en vue d'une analyse de la composition en acides gras.

Les résultats d'analyse montrent que le pâturage à plein temps des brebis du groupe (3) a entraîné une diminution du pourcentage en acides gras saturés mais une augmentation significative ($P < 0,05$) dans la proportion en acides gras insaturés dont le C18 :3 et le C 18 : 1 trans11 avec des teneurs de 0,44% et 1,64% comparativement à ceux du groupe (2) 0,24% et 1,07% et groupe (1) 0,21% et 0,82%. Par contre, aucun effet n'a été enregistré sur le C18: 2 cis9 trans11(CLA). Le rapport n-6/n-3 diminue avec l'augmentation de la part d'herbe totale dans la ration et atteint des valeurs inférieures à 5, compatibles avec les recommandations des nutritionnistes. En conclusion, il est ressort que la proportion d'herbe agit de façon notable sur l'amélioration de la qualité nutritionnelle et diététique des acides gras du lait de brebis.

Mots clés : herbe, acide gras, lait, brebis, taux butyreux.

1. Introduction

En Algérie, l'élevage de ruminants est principalement représenté par la filière ovine. Cette dernière est exploitée principalement pour la production de viande mais aussi pour le lait et de la laine. Le lait de brebis est généralement utilisé pour les agneaux en premier lieu, il est aussi consommé par les agriculteurs ou transformé traditionnellement (Yabrir et al 2013). Plusieurs études ont montré que la viande et le lait provenant d'animaux élevés sous un système d'alimentation extensive présentent une valeur nutritive plus élevée par rapport aux produits obtenus dans les systèmes d'alimentation d'intérieur (Scollan et al. 2006). De plus, la notion « image verte » et le mieux-être des animaux de pâturage sont très appréciés par les consommateurs ; par conséquent, il y a une demande croissante du marché pour la viande et le lait produit dans ces conditions (Prache et al. 2005). La filière laitière est interpellée sur la composition du lait et notamment sur son profil en acides gras. En effet, le lait est critiqué à cause de sa richesse relative en acides gras saturés. Mais les produits laitiers demeurent une source importante d'acides gras d'intérêt nutritionnel en alimentation humaine (acides gras mono et polyinsaturés, acides linoléiques conjugués ou CLA et les oméga3). Il est fondamental d'individualiser certains marqueurs du système d'alimentation qui permettent la discrimination entre les produits obtenus à partir d'animaux au pâturage et ceux obtenus à partir d'animaux de concentré nourris. Récemment, Prache et al. (2005) ont examiné les approches possibles disponibles pour le traçage des systèmes d'alimentation des animaux. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet des régimes alimentaires à base d'herbe sur la qualité nutritionnelle en acides gras du lait de brebis locales.

2. Matériel et méthodes

Des brebis de race locale (Ouled Djellal) sont élevées au pâturage selon plusieurs proportions de l'herbe dans la ration. : groupe 1 sans herbe(SH), groupe 2 avec 50% d'herbe complété avec un aliment concentré(MH) et groupe 3 (TH) le pâturage complet (100% d'herbe). Les échantillons de lait proviennent de la traite manuelle dumatin (une traite seulement par jour) avant la sortie des animaux. Le lait prélevé est recueilli dans des flacons stériles et conservés à 4°C à l'aide d'une glacière électrique et acheminéimmédiatement au laboratoire pour les analyses.

2.1. Analyse des acides gras

Les lipides totaux de chaque échantillon (lait et régime alimentaire)ont été extraits par du chloroforme-méthanol (2: 1) (Folch et al. 1957). Les AG ont été libérées par la saponification (NaOH), puis méthylées par le méthanol-BF₃ (Morrison et Smith, 1964). Les esters méthyliques ont été séparés et quantifiés par chromatographe en phase gazeuse (Perkin - Elmer Auto System XL) équipé d'un détecteur d'ionisation de flamme et d'une colonne capillaire (100m x 0,25 mm de diamètre intérieur).

3. Analyse statistique des données

Les résultats de différents paramètres sont traités en fonction des moyennes par analyse de variance selon le test de Bonferroni à l'aide du logiciel Software SPSS, version 20.

4. Résultats et discussion

	SH	MH	TH
Analyzed composition (%)			
dry mater	86.5	88.4	82.3
Lipids	3.2	4.9	2.8
Ash	3	8.4	7.5
Crude protein	12.4	16.5	15.3
FA analysis (Percentage of the identified FA)			
C14:0	1,54	1,81	1,73
C16:0	37,89	52,48	45,11
C16:1	0,28	0,30	0,55
C18:0	27,15	19,28	34,10
C18:1 n-9c	12,24	3,43	7,84
C18:2 n-6c	26,41	34.61	9,66
C18:3 n-3	1,90	2,26	7,50
SFA	58,94	89,04	74,34
MUFA	12,52	3,73	8,39
PUFA	28,31	6,96	17,16

n-6	26.64	34.85	9.77
n-3	1,90	2,26	7,50
n-6/n-3	14.02	15.42	1.3

Tableau 1 : Composition des régimes expérimentaux.

Les différents régimes (tableau 1) ont montré des variations dans la teneur en matières sèches et minérales lipides, mais aussi dans la composition en acides gras en raison de la proportion d'herbe et de chaque régime (Hurtaud et al. 2008). Les quantités d'acides gras ingérés variaient selon la proportion d'herbe. La quantité de C18: 3 n-3 ingérée (ALA) était plus grande avec la grande proportion, tandis que la quantité de C18: 2 n-6 ingérée était plus élevée avec la complémentation du concentré.

Fatty acid (g/100 g FA)	diets			significance
	TH	MH	SH	
C 14 : 0	7,37±0,58	7,02±0,58	8,48±0,58	ns
C 16 : 0	26,94±0,56	26,98±0,56	28,22±0,56	ns
C 16 : 1	1,48±0,07	1,45±0,07	1,72±0,07	P<0.05
C 16 : 1 n-9	0,36±0,01a	0,28±0,01b	0,34±0,01a	P<0.05
C 18 : 0	16,21±1,23	15,02±1,23	13,37±1,23	P<0.05
VA C 18 : t11	1,64±0,11a	1,07±0,11b	0,82±0,11	P<0.001
C 18 : 3 n- 3ALA	0,44±0,03a	0,24±0,03b	0,21±0,03b	P<0.01
CLA c9 t11	0,43±0,08a	0,36±0,08b	0,39±0,08b	P<0.05
C 20 : 0	0,23±0,01a	0,14±0,01b	0,21±0,01a	P<0.01
C 20 : 3 n-6	0,04±0,01	0,12±0,01	0,10±0,01	P<0.05
C 20 : 5 n-3	0,01±0,01	0	0	ns
C 22 : 5 n-3	0,13±0,02	0,07±0,02	0,08±0,02	ns
C 22 : 6 n-3	0,07±0,04	0,12±0,04	0	ns
SFA	62,03±1,57	59,16±1,57	63,17±1,57	ns
MUFA	35,18±1,52	37,85±1,59	34,25±1,59	ns
PUFA	2,45±0,09	2,57±0,09	2,30±0,09	ns
n-6	1,83±0,08	2,13±0,08	1,96±0,08	ns
n-3	0,62±0,05a	0,43±0,05ab	0,34±0,05b	P<0.05
n6/n3	2,95±0,82	5,00±0,82	6,33±0,82	P<0.05
IA				
	1,55±0,21	1,41±0,30	1,77±0,16	P<0.05

P: full-time grazing, PC: pasture + concentrate, C: concentrated feed, SFA: saturated fatty acids, MUFA: monounsaturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids.

Tableau 2 : Composition en acides gras des laits de brebis selon le système alimentaire dans

chaque régime en% $\text{Atherogenicity index} = [(12:0 + 4(14:0) + 16:0) / [(n-6 + n-3) \text{ PUFA} + 18:1 + \text{MUFA}]]$ (Ulbricht and Southgate, 1991).

La composition en acides gras du lait est présentée dans le tableau 2. Les groupes avec différentes proportions d'herbes ont été associés à des changements dans quelques concentrations des acides gras du lait. Les concentrations en acides gras saturé tel que le : C 14 : 0, C 16 : 0 étaient stables, tandis que celles du C 18 : 0 et C 20 : 0 ont tendance à augmenter avec l'augmentation des proportions d'herbes fraîches dans le régime alimentaire des brebis.

Concernant les acides gras mono insaturé AGMI seulement le C 16 : 1, C 16 : 1 n-9, C 18 : 1 t11, ont varié selon le régime alimentaire (tableau 2) dont le premier était plus élevés dans le groupe SH (1.72 %), par contre les concentrations des deux autres (C 16 : 1 n-9, C 18 : 1 t11) augmente avec augmentation de la proportion d'herbe dans le régime alimentaire.

Une tendance similaire a également été observée dans les groupes de pâturage à plein temps pour le C 18 : 3 n-3 et le C 18 : 2 c9 t11 (CLA) par des teneurs suivants : 0,44 et 0,43 g / 100 g respectivement dans le groupe 1, alors que les teneurs de ces deux acides gras étaient de 0,24 et 0,36 g / 100 g et de 0,21 et 0,39 g / 100 g dans le groupe 2 et 3 respectivement (Tableau 2).

Cependant, aucun effet significatif du système alimentaire sur les acides gras à chaîne longue notamment : C 20 : 5 n-3, C 22 : 5 n-3, C 22 : 6 n-3 et sur la somme des AGS, AGMI, AGPI avec des proportions plus ou moins similaires. L'augmentation de la proportion d'herbe dans le régime alimentaire a conduit à un niveau plus élevé (le double) des Oméga 3 ($P < 0,05$) par des proportions plus élevées dans le groupe des brebis ayant subi le pâturage d'herbe (0.62%) contre (0,43 et 0,34%) dans le groupe de 2 et 3 respectivement. Le rapport n-6/ n-3 était plus faible dans le groupe des brebis nourris avec l'herbe exclusivement (2,95) que les brebis élevés dans un système alimentaire basé sur le concentré et la combinaison entre l'herbe et le concentré par des rapports (6.33 et 5).

Ce travail a mis en évidence que le système alimentaire a un effet global sur les acides gras du lait de brebis, ce résultat est en accord avec les résultats de Coppa et al., 2013; Couvreur et al., 2006. Une augmentation de la proportion de C 18 : 0 dans le régime alimentaire à base d'herbe résultant de la mobilisation des réserves de corps par rapport à la disponibilité de l'énergie

(Palmquist et al., 1993). Chilliard et al. (2000), Hurtaud et al. (2008) ont rapporté que le C18 :1 cis9 est plus lié au bilan énergétique des vaches que la proportion d'herbe dans les régimes et est donc un bon témoin de la mobilisation des animaux ce qui est en cohérence avec notre essai. La part d'herbe dans la ration augmente ($P < 0.01$) le C18 :3 n-3 dans le lait (0.44% contre 0.24 et 0.21% dans le groupe MH et SH respectivement). Ces résultats obtenus correspondent à ceux trouvés par Couvreur et al. (2006) qui a mis en évidence l'importance d'herbe. Un régime alimentaire avec 60 % d'herbe totale lors du pâturage augmente la teneur en CLA C18 :2 c9 t11. Cette teneur est très fortement liée à l'eau C18 :1 t11 (Ferlay et al., 2008) ; dans notre étude nous avons observé une tendance similaire pour : CLA et VA avec des proportions élevées (CLA : 0.43% et VA : 1.64%) dans le groupe TH. Cet effet spécifique de l'herbe verte a déjà été mis en évidence par Hurtaud et al. 2009 avec de l'herbe d'automne (plus de 6 % de C18 :1 t11). Les effets marqués du pâturage sur la teneur du d'ALA, VA et CLA sont liés à la teneur élevée en ALA dans les pâturages verts, qui est partiellement biohydrogénée en VA dans le rumen puis sécrétée dans le lait et partiellement converti en C18 : 2 c9, t11 CLA dans le tissu mammaire par l'action de la stéaroyl-CoA désaturase (Nudda et al., 2014).

Le rapport n-6/n-3 a diminué avec le pourcentage d'herbe totale dans la ration, il est très élevé (jusqu'à 6.33) avec des rations comportant peu d'herbe, mais atteint des valeurs inférieures à 5 (limite Afssa, 2010) dès que la ration contenait au moins 20% d'herbe totale ; Ce rapport est en relation directe avec l'alimentation (Hurtaud et al., 2008). Bien que l'augmentation de la proportion des AGM du lait analysée dans cette étude soit souhaitable du point de vue de la nutrition humaine (Gillingham et al., 2011) l'indice d'athérogénicité a nettement diminué avec un pourcentage de 50 % de herbe dans le régime. Cet indice apparaît moins élevé par rapport à celui trouvé par Vargas-Bello-Pérez et al (2013) avec une alimentation par des feuilles d'olives. Par contre, Chiofalo et al. (2004) ont signalé des indices d'athérogénicité inchangés lorsque les brebis ont été nourries avec des feuilles d'olives.

Conclusion

En conclusion, ce travail a permis de confirmer que le régime alimentaire dont la proportion d'herbe est importante modifie le profil en acides gras des laits dans un sens qui peut être qualifié de positif d'un point de vue nutritionnel dans l'état actuel des connaissances. Cela paraît particulièrement intéressant pour améliorer les propriétés nutritionnelles du lait de brebis pendant des périodes de plein pâturage. Ils confirment aussi que la composition du lait dépend à la fois de la composition de la ration et du bilan énergétique des animaux.

Bibliographie

Afssa, 2010. Saisine n°2006-SA-0359.

Anna Nudda, Gianni Battacone, Oscar Boaventura Neto, Antonello Cannas, Ana Helena Dias Francesconi, Alberto Stanislao Atzori, Giuseppe Pulina 2014. Feeding strategies to design the fatty acid profile of sheep milk and cheese. *R. Bras. Zootec.*, 43(8):445-456.

Chilliard Y., Ferlay A., Mansbridge R.M., Doreau M., 2000 Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids, *Ann. Zootech.* 49, 181-205.

Chiofalo, B., Liotta, L., Zumbo, A., Chiofalo, V., 2004. Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. *Small Rum. Res.* 55,169–176.

Coppa, M., Ferlay, A., Chassaing, C., Agabriel, C., Glasser, F., Chilliard, Y., Borreani, G., Barcarolo, R., Baars, T., Kusche, D., Harstad, O.M., Verbič, J., Golecký, J., Martin, B., (2013). Prediction of bulk milk fatty acid composition based on farming practices collected through on-farm surveys. *J. Dairy Sci.* 96,4197–4211.

Couvreur, S., Hurtaud, C., Lopez, C., Delaby, L., Peyraud, J.L., (2006). The linear relationship between the proportion of fresh grass in the cow diet, milk fatty acid composition, and butter properties. *J. Dairy Sci.* 89, 1956–1969.

Ferlay, A., Agabriel, C., Sibra, C., Journal, C., Martin, B., Chilliard, Y., 2008. Tanker milk variability in fatty acids according to farm feeding and husbandry practices in a French semi-mountain area. *J. Dairy Sci. Technol.*, 88:193–215.

Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497–509.

Gillingham, L.G., Harris-Janz, S., Jones, P.J.H., 2011. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *Lipids* 46, 209–228.

Hurtaud C. Pérez-ramírez E. Delaby L. Delagarde R., (2008). Composition en acides gras du lait : impact d'une restriction du temps d'accès au pâturage des vaches laitières en interaction avec la quantité de maïs à l'auge. *Renc. Rech. Ruminants*, 15. 105-107.

Hurtaud, C., Peyraud, J.L., Michel, G., Berthelot, D., Delaby, L., 2009. Winter feeding systems and dairy cow breed have an impact on milk composition and flavour of two protected designation of origin French cheeses. *Animal* 3, 1327–1338.

Morrison, W.R., Smith, M., 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron fluoride–methanol. *J. Lipid. Res.*, 5, 600–608.

- Palmquist, D.L., Beaulieu, A.D., Barbano, D.M., 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 76, 1753–177.
- Prache, S., Cornu, A., Berdagué, J.L., Priolo, A., (2005). Traceability of animal feeding diet in the meat and milk of small ruminants. *Small Rum. Res.* 59, 157–168.
- Scollan, N. D., Hocquette, J. F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, I., & Moloney, A. (2006). Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of lipids and their relationship with meat quality. *MeatScience*, 74, 17–33.
- Ulbricht, T.L., Southgate, D.A., 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 338, 985–992.
- Vargas-Bello-Pérez, E., Vera, R.R., Aguilar, C., Lira, R., I. Peña, J. Fernández, H., 2013. Feeding olive cake to ewes improves fatty acid profile of milk and cheese. *Animal Feed Science and Technology* 184.94– 99.
- Yabrir, B. , Hakem A. (Ex Akam), Mati A. (2013). Factors affecting milk composition of Algerian ewe reared in central steppe area (Algeria). *J. Anim. Sci.*, 2(8) 215-221.

Session : Sciences alimentaires

CO7. Influence de la cuisson en grillade sur la composition en acides gras de la viande d'agneaux élevés sur des pâturages steppiques et des hauts plateaux.

Nabila Berrighi^{1}, Kaddour Bouderoua¹, Marina Santaella², Gema Nieto².*

1. Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.

2. Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia. Campus d'Espinardo, 30071, Murcia

Email : nabilaberrighi@gmail.com

Resumé :

Le traitement de la viande par la cuisson permet d'améliorer sa qualité. Cette étude a été menée dans le but d'une part de mesurer l'impact de l'herbe des pâturages de steppe et des hauts plateaux sur les performances d'élevage et d'autres part d'étudier l'effet de la cuisson en grillade sur la composition en acides gras de la viande d'agneaux. Deux groupes de 10 agneaux, de race Rembi, âgés de sept mois, avec un poids moyen de $32,2 \pm 2,38$ kg ont fait

l'objet de cette étude. Le premier groupe a été mis au pâturage dans les hauts plateaux de Tiaret et le deuxième groupe dans les pâturages steppiques de Djelfa durant la période allant de la fin de février à la fin mai 2014. Les régimes alimentaires sont composés de 85% pâturages (P), 15% foin (F) dans les hauts plateaux (Tiaret) et de 80% pâturages (P), 10% foin (F) et 15% de concentré (C) dans les régions steppiques (de Djelfa). Après 95 jours d'élevage, les agneaux ont été abattus. Les muscles hachés ont été cuits dans un four ménager jusqu'à atteindre une température à cœur de 250°C pendant 30 minutes. Les résultats ont montré plus de graisse intra musculaire dans la viande cuite d'agneaux ayant pâturés dans les steppes de Djelfa (3.80 vs 7.48%) par rapport à celle de Tiaret (1.94 vs. 5.79%) ($p < 0.001$).

L'analyse du profil en acides gras du muscle *Biceps femoris* a permis d'établir des différences claires entre les viandes des deux régions. ($p < 0,001$), respectivement. La cuisson semble avoir modifié d'une manière importante les rapports C18:2/C18:3 des muscles ovins de Djelfa (3.01% vs 10.17%) en comparaison à ceux de Tiaret (2.55 vs. 6.50) ($p < 0.001$), qui dépassent, d'après les résultats obtenus, la valeur de 5 préconisée par les nutritionnistes. Toutefois, elles peuvent être prises en considération au regard du rapport enregistré en Europe, voisin de 11. A travers les résultats de l'effet de la cuisson, il est permis de constater que l'évolution du rapport n-6/n-3 a varié différemment ; une élévation significative a été constatée pour les muscles ovins de Djelfa (5.67 vs. 10.03) par rapport à ceux de Tiaret (5.04 vs. 8.03) ($p < 0.001$). Ces résultats s'expliqueraient par la stabilité de ces acides gras dans la matrice de la viande, puisqu'ils sont principalement associés aux phospholipides et donc bien intégrés dans les membranes cellulaires. La cuisson n'altérerait pas la valeur santé de la viande surtout que cette viande provenant du Djelfa renferme plus d'AGPI n-3 que celle provenant de Tiaret.

Mots clés: Acides gras; grillade; viande d'agneau; pâturage.

Introduction

La viande produite exclusivement à base d'herbe bénéficie d'une bonne réputation (Daley et al., 2010). Une conduite en extensif des animaux et de leur alimentation naturelle sont responsables des modifications des lipides intramusculaires, clairement en faveur d'une amélioration de la qualité nutritionnelle de la viande (Aurousseau et al., 2004). En effet, les muscles des agneaux nourris à l'herbe, comparés à ceux d'agneaux nourris à base d'un aliment concentré, sont moins riches en lipides, et possèdent des teneurs accrues en C18:3n-3 intéressant pour la santé (Bauchart et al. 2004). Ces régimes favorisent non seulement le dépôt tissulaire de cet acide gras polyinsaturé à propriétés hypocholestérolémiantes, souvent

déficitaire dans l'alimentation humaine (Simopoulos et al 2000), mais également celui de ses dérivés à longues chaînes (AGPILC) notamment l'acide docosahexaénoïque (DHA) essentiel (Benatti et al., 2004).

La cuisson de la viande permet d'améliorer sa qualité mais pourra aussi conduire à l'oxydation de ses lipides et de ses protéines avec un impact négatif sur la qualité nutritionnelle. Ce sont les lipides insaturés (triglycérides et phospholipides) qui sont les plus sensibles à ce type de réaction (Gatellier et Lhoutellier, 2009). Dans ce travail on vise à caractériser sur le plan nutritionnel la viande d'agneau de la race locale Rumbi soumise aux pâturages herbeux steppiques et des hauts plateaux et de mesurer l'impact de la cuisson sur le taux des lipides intramusculaires et de la composition en acides gras.

Matériel et méthodes

Animaux et alimentation

Vingt agneaux âgés de sept mois, avec un poids moyen de $32,2 \pm 2,38$ kg ont été divisés en deux groupes ($n = 10$). Le premier groupe d'agneaux a été soumis au pâturage du 21 mars au 21 Juin 2014 dans des exploitations agricoles des hauts plateaux de Tiaret (34° de latitude et la longitude de $55^\circ 0' N$ $34^\circ 1' 59' E$), et le second groupe sur les pâturages steppiques de Djelfa (34° de latitude et la longitude $3^\circ 40' 22'' N$ $15^\circ 46' E$). Les agneaux ont été choisis au hasard parmi un grand troupeau de moutons. Tous les agneaux ont été soumis aux pâturages, et ceux de la steppe ont reçu comme complément de l'aliment concentré (Tab 1), avec un accès libre à l'eau. Parmi les espèces dominantes des pâturages nous citons: Armoise (*Artemisia herba-alba*), Alfa (*Stipa tenacissima*), Sparta (*Lygeum spartum*), l'Atriplex (*Atriplex halimus*) à Djelfa, ray-grass (*Lolium perenne L.*), Laser blanc (*Laserpitium latifolium*), fruits Kava (*Pometia pinnata*), la roquette (*Eruca sativa*) à Tiaret.. L'échantillonnage pour les régimes consistait à prendre 3 à 4 kg d'herbe brute à travers tous les territoires pâturés par plusieurs poignées pour une analyse biochimique.

Tableau1 : Composition du régime en (%).

Ingredients %	Hauts plateaux de Tiaret	Steppe de Djelfa
Fourrage- Pâturage	85%	-
Foin	15%	-
Steppe Pâturage	-	70%
Concentré ©	-	30%

© Le concentré est composé de: 15% maïs, 10% farine de soja, 4% Orge et 1% minéraux.

Mesures à l'abattage

Après 92 jours d'engraissement et de pâturage, les agneaux ayant pâturés au niveau des hauts plateaux de Tiaret et de la steppe de Djelfa ont été abattus à un poids corporel de $42,06 \pm 2,95$ kg et $49,72 \pm 3,22$ kg, respectivement. Ils ont été saignés et éviscérés dans l'abattoir. Les échantillons de viande de *Longissimus dorsi* ont été prélevés de chaque carcasse puis transportés dans une glacière au laboratoire de technologie alimentaire et nutrition (Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem). Les muscles ont été découpés, hachés dans un hachoir à viande, emballé en aluminium, étiquetés et stocké à -20°C pour des analyses ultérieures.

Procédures de la cuisson

La cuisson est la dernière étape de préparation de la viande avant consommation. Cependant, le mode de cuisson, la durée et l'intensité sont adaptés à l'origine et à la qualité de la viande. La totalité des prélèvements des deux lots (Tiaret, Djelfa) dont le poids était équivalent à 100g de viandes conservées ont été utilisés pour cette fin. La cuisson grillade a été effectuée sans ajout d'ingrédients ni corps gras. Cependant, le couple température/temps préconisé pour cette cuisson était de $250^{\circ}\text{C}/30\text{mn}$. La température interne a été surveillée à l'aide d'un thermomètre (thermomètre numérique ST-131 imperméable à l'eau), tandis que la viande crue a été échantillonnée directement en tant que témoin non cuit.

Mesures et analyses

Des analyses biochimiques sur les viandes ont été réalisées au niveau du " Department of Human Nutrition and Food Science (E098-02) of Murcia-Spain University ", il s'agit de :

- Mesure du taux des lipides intramusculaires par la méthode de Folch et al., 1957.
- Quantification des acides gras par Chromatographie phase gazeuse (Perkin Elmer Autosystem XL).

Analyse statistique

Le traitement effectué aux données est une analyse de variance organisée principalement en blocs et une comparaison des moyennes. Nous avons considéré deux facteurs qui sont la région et la cuisson. La comparaison des moyennes des acides gras des échantillons de viande ont été analysés selon le test et *Newman & Keuls* en utilisant un logiciel Stat box "version 2006".

Résultats et discussions

Il s'avère que la cuisson affecte sensiblement la répartition et les proportions de différentes catégories de lipides et d'acides gras de la viande (tab 3, Fig 1,2 et 3). Les taux d'AGPI n-3 totaux sont significativement supérieurs dans la viande des agneaux élevés aux pâturages de Tiaret ($P<0,05$), et sont dominés par le C18:3 n-3, montrant des quantités significativement plus élevées ($P<0,001$) dans la viande d'agneau cuite (0,92%) que crue (0,49%) (tab 2). Les AGPI n-6 sont en quantité moyenne ($P<0,05$), représentées essentiellement par l'acide linoléique surtout dans la viande d'agneaux ($p<0,05$) ayant reçu un complément de concentré (Djelfa) (tab 2).

Tableau 2: Proportions en humidité et en acides gras en (%) dans la viande crue.

	Tiaret	Djelfa	SEM	Effet régime
Humidité (%)	81,32	81,53	2,80	$P<0,05$
pH	5,20	5,12	0,22	NS
TL (%)	1,94	3,80	2,47	$p<0,001$
C18:1 n-9c	34,80	41,47	0,28	NS
C18:2c n-6	3,21	2,97	1,25	$p<0,05$
C18:3 n-6	0,19	0,23	1,12	$p<0,05$
C18:3 n-3	0,49	0,28	0,75	$p<0,05$
AGS	47,73	48,28	1,11	$p<0,05$
AGM	46,99	47,76	1,32	NS
AGPI	12,99	14,74	1,62	$p<0,001$
LA/ALA	3,45	5,67	0,26	$p<0,001$
n-6/n-3	9	3,01	0,07	$p<0,001$
AGPI/AGS	0,31	0,27	0,05	NS

Moyenne $\pm$ SE; n=10,

Tableau 3 : Proportions en humidité et en acides gras en (%) dans la viande cuite.

	Tiaret	Djelfa	SEM	Effet cuisson
Humidité (%)	62,24	64,33	2,12	$P<0,05$
pH	6,38	6,47	0,43	NS
TL (%)	9,64	11,83	3,33	$p<0,05$
C18:1 n-9c	37,44	42,67	0,97	$p<0,001$

C18:2c n-6	2,91	1,97	2,79	p<0,001
C18:3 n-6	0,22	0,24	0,95	p<0,05
C18:3 n-3	0,92	0,61	0,89	p<0,05
AGS	52,25	53,74	1,12	p<0,05
AGM	45,76	49,87	1,47	p<0,05
AGPI	16,11	16,37	1,78	p<0,05
LA/ALA	4,20	6,34	0,24	p<0,05
n-6/n-3	13,23	8,21	0,14	p<0,05
AGPI/AGS	0,37	0,30	0,17	p<0,05

Moyenne $\pm$ SE; n=10,

La cuisson conduit à une perte significative ($P<0,05$) en eau par évaporation dans les muscles étudiés (côtes, gigots) (Tab 2 et 3). Les pertes en eau à la cuisson sont souvent liées à la dénaturation des protéines musculaires.

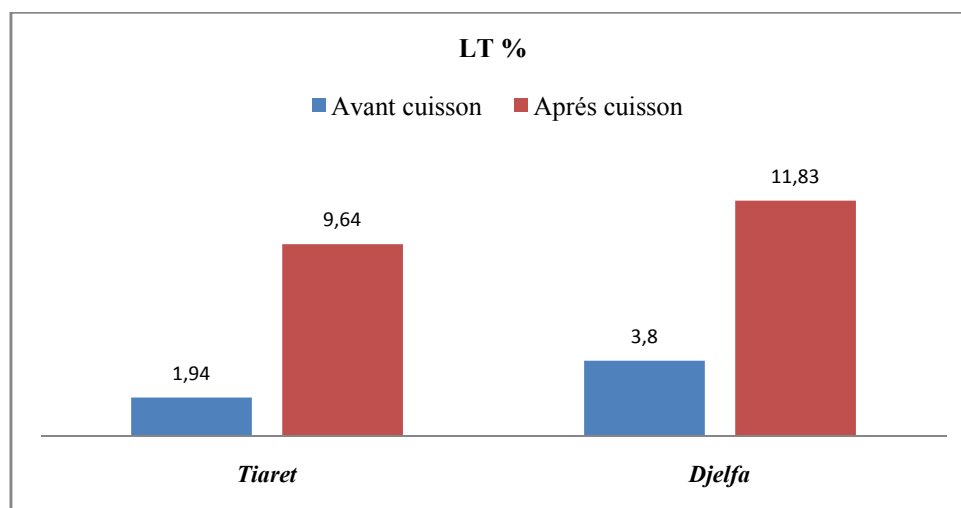


Figure 1 : Proportions des LT en (%) dans la viande d'agneaux avant et après cuisson.

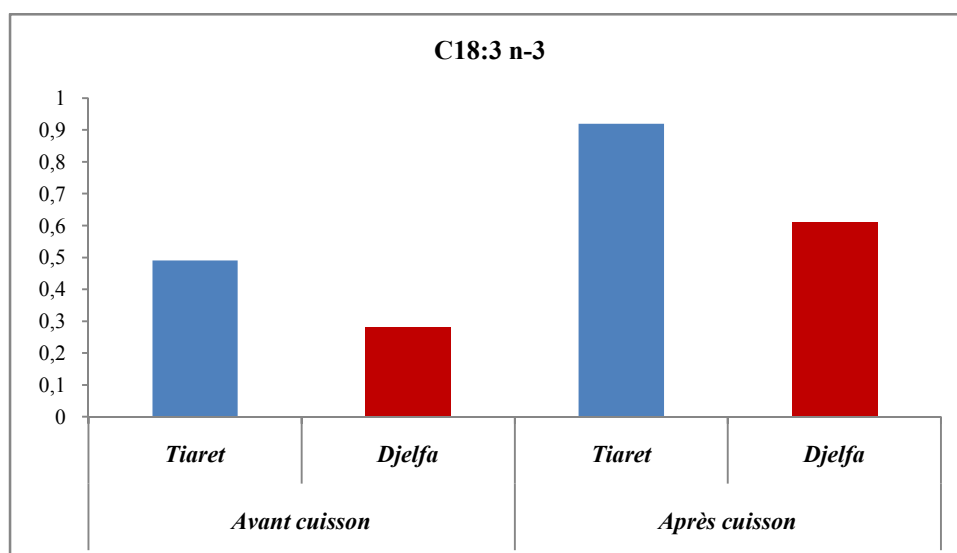


Figure 2 : Proportions du C18:3 n-3 en (%) dans la viande d'agneaux crue et cuite.

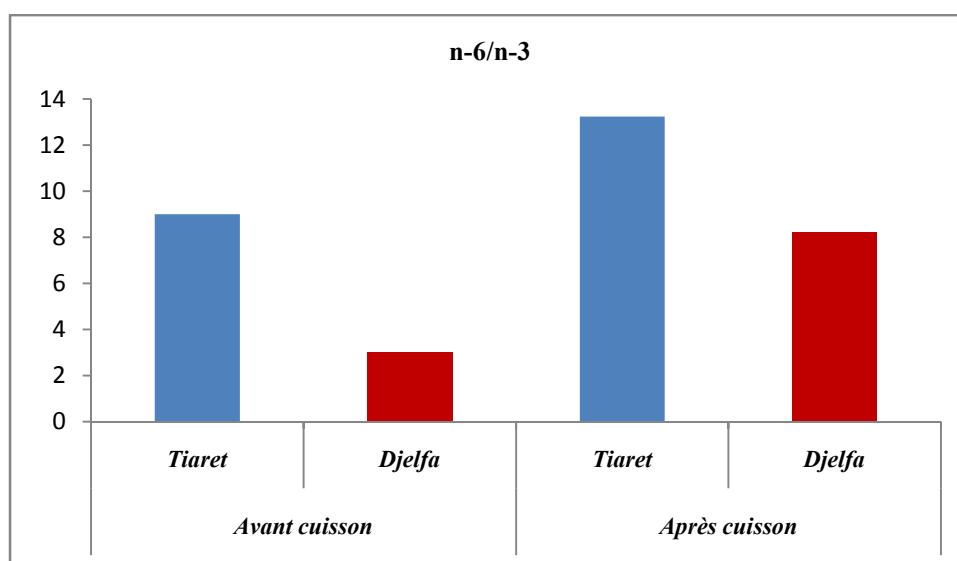


Figure 3 : Proportions du rapport n-6/n-3 en (%) dans la viande d'agneaux crue et cuite.

Dans la présente étude, la composition en acides gras dans la viande diffère entre la région de Steppe et celle des hauts plateaux. Wood et al (2008) et Nuernberg (2009) ont montré que le profil en AG du tissu musculaire peut être affecté par des facteurs tels que l'alimentation, l'espèce, l'âge, le sexe, la race et la saison. Par rapport à la viande crue représentant la viande témoin, la cuisson a entraîné une perte importante d'humidité et, par conséquent, une teneur

en graisse intramusculaire significativement plus élevée, avec des différences significatives ($P < 0,05$) pour les deux régions d'élevage.

Nos résultats confirment le fait que la teneur en humidité totale diminue à mesure que la teneur en matière grasse augmente (Woolsey & Paul, 1969). Les différences dans les variations des pourcentages en acides gras après cuisson, s'expliquent selon Normand et al (2006) par un simple phénomène de concentration lié aux pertes d'eau à la cuisson,

Une différence hautement significative a été révélée pour le taux de C18:1n-9c entre les 2 groupes d'animaux après cuisson. Nos observations corroborent les résultats obtenus par Gatellier (2005). La cuisson semble modifier d'une manière importante les rapports C18:2 n-6/C18:3 n-3 (3,45 vs 4,20% à Tiaret et 5,67 vs 6,34% à Djelfa, respectivement pour la viande crue et cuite) ($p < 0,05$),

A travers les résultats de l'effet de la cuisson, il est permis de constater que l'évolution de l'acide linoléique, de l'acide alpha linolénique et des AGPI ont varié différemment et des élévations significatives ont été constatées.

Ces résultats s'expliqueraient par la stabilité de ces acides gras dans la matrice de la viande, puisqu'ils sont principalement associés aux phospholipides et donc bien intégrés dans les membranes cellulaires, Cela peut être du aussi à la richesse de l'herbe de pâturages en antioxydants naturels qui auraient protégé les acides gras contre l'oxydation (Normand et al, 2006).

Cependant, les rapports n-6/n-3 et AGPI/AGS s'avère plus important dans le groupe Tiaret (9 vs 3,01) par rapport à celui de Djelfa (0,31 contre 0,27) ($p < 0,01$). Ces différents ratios sont plus souhaitables pour la santé humaine, vu les intérêts nutritionnels et l'effet positif des acides gras polyinsaturés de la famille (n-3) sur la prévention des maladies cardio-vasculaires,

Conclusion

Les résultats de cette expérience suggèrent que les régimes de steppe et des hauts plateaux jouent un rôle important dans la composition en acides gras de la viande, La proportion des AGPI n-3 était plus élevée et le rapport C18: 2 n-6/C18: 3 n-3 baisse pour être plus conforme aux recommandations des nutritionnistes,

La cuisson affecte sensiblement les proportions en AG. Ces variations s'expliquent par la perte en eau durant la cuisson.

Enfin, l'élevage à l'herbe améliore les qualités nutritionnelles de cette viande d'agneau ce qui est souhaitable par le consommateur.

Références bibliographiques

- Aurousseau B, Bauchart D, Calichon E, Micol D, Priolo A, 2004, Effect of grass or concentrate feeding systems and rate of growth on triglyceride and phospholipids and their fatty acids in the muscle *Longissimus thoracis* of lambs. *Meat Sci* 66(3): 531-541.
- Bauchart D, Scislowski V, Gruffat, D, & Durand D, 2004. Effects of linseed oil-supplemented diets on specific fatty acids in total lipids and in their neutral and polar components of Rectus abdominis and *Longissimus thoracis* muscles and of intermuscular adipose tissue of finishing steers. *Brit J Nutr*,
- Benatti F , Floreanini R, Piani M, 2004. Quantum dynamical semigroups and nondecomposable positives maps. *Physics Letters A* 326 (3–4): 187-198.
- Daley C.A, Abbott A, Doyle P.S, Nader G.A, Larson S, 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutr J* 9:10,
- Gatellier P, Mercier Y, Renerre M, 2005. Effect of finishing mode (pasture- or mixeddiet) on lipid composition, colour stability and lipid oxidation in meat from charolais cattle. *Meat Sci* 69: 175-186.
- Normand F, Monahan F.J, French P, Moloney A.P, 2006. The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of pasture-fed beef heifers: Influence of the duration of grazing. *J Anim Sci* 83: 1167-1178.
- Nuernberg, K, Fischer, A, Nuernberg G, Ender K, Dannenberger D, 2009. Meat quality and fatty acid composition of lipids in muscle and fatty tissue of Skudde lambs fed grass versus concentrate. *Small Ruminant Research* 74: 279-283.
- Simopoulos A.P & Sidossis L.S, 2000. What is so special about the traditional diet of Greece – the scientific evidence. *World Review of Nutrition and Dietetics* 87: 24-42.
- Wood J.D, Enser M, Fisher A.V, Nute G.R, Sheard P.R, Richardson R.I, Hughes S.I, Whittington F.M, 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review. *Meat Science* 78: 343-358.
- Woolsey & Paul, 1969. Juiciness-its importance and some contributing factors, In *Quality Attributes and their measurement*, in: Pearson A.M, Duston T.R, (Eds). *Meat, Poultry and Fish Products*, pp 94-124.

CO8. Effets du transport avant abattage sur les indicateurs de qualité technologique de la viande de poulet de chair nourri avec un régime additionné des feuilles d'olivier

Asma Khaouchene¹, Kaddour Boudroua¹ et Jacques Mourot²

¹Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition, Université de Mostaganem, BP 300, Mostaganem (27000), Algérie. ² INRA, UMR 1348 Systèmes d'élevage Nutrition Animale et Humaine, 35590 Saint-Gilles, France.

Email : imy-snv@hotmail.fr Numéro de téléphone : 07-97-35-06-99

Résumé :

L'objectif de ce travail est d'évaluer les effets d'un transport avant abattage sur la perte de poids et les indicateurs de qualité technologique de la viande de poulet de chair nourri avec une alimentation additionnée de la graine de colza et des feuilles d'olivier. Des poussins de la souche ISA F15 ont été nourris avec un régime additionné de 5 % de la graine de colza comme une source d'acides gras polyinsaturés. A partir du 28^{ème} jour d'élevage, les poulets ont été divisés en deux groupes dont le premier groupe constituant le témoin recevant un régime renfermant du « colza » sans addition de feuilles d'olivier alors que le deuxième groupe a reçu un régime « colza » supplémenté en feuilles d'olivier à raison de 10g/kg (groupe expérimental). Le jour de l'abattage, chaque groupe d'animaux a été divisé en deux sous groupes; l'un est placé en situation de repos et l'autre a été soumis à un stress de transport pendant une durée de 2 heures. Des échantillons de muscles de la cuisse ont été prélevés et congelés à -20°C jusqu'à analyse. Les résultats ont montré que la supplémentation en feuilles d'olivier n'a pas eu d'effet remarquable sur le poids vif à l'abattage et le rendement en carcasse des poulets de chair. En revanche, le transport avant abattage a diminué significativement ($p < 0.05$) les poids vifs des animaux, soit une perte de poids estimée de 0,72% pour les deux sous groupes. De plus, ce stress a causé une augmentation significative ($p < 0.05$) des valeurs du pH musculaire dans les deux groupes d'animaux (6,07 vs 6,22 et 6,05 vs 6,25) qui s'accompagne d'une diminution très marquée ($p < 0.05$) de la luminance de la viande (51,35 vs 50,71 et 51,72 vs 50,83). Cependant, les feuilles d'olivier additionnées au régime alimentaire des poulets ont exercé un effet antioxydant très marqué qui a permis de réduire de 18% la peroxydation lipidique de la viande de la cuisse.

Mots clés : Poulet de chair – Transport – Feuilles d'olivier – Perte de poids – Qualité – Peroxydation.

Introduction

Le transport est une composante essentielle de l'industrie de la volaille, et peut causer des différents degrés de stress pour les oiseaux, allant d'un léger inconfort jusqu'à la mort (**Schwartzkopf-Genswein *et al.*, 2012**). Le transport est un facteur de stress complexe qui implique l'état des oiseaux à la grange (état de santé avant le transport), la manutention, le chargement, le déchargement, les fluctuations de la température et de la densité, la mise à jeun, les mouvements et vibrations, les bruits et la durée du transit (**Schwartzkopf-Genswein *et al.*, 2012; Vimiso et Muchenje, 2013; Pereira *et al.*, 2015**). En outre, le stress de transport a été associé à l'augmentation du métabolisme énergétique du muscle squelettique et de la glycogénolyse, la diminution du taux du glycogène dans les muscles de filet et de la cuisse des poulets de chair, l'accélération de la peroxydation lipidique et l'augmentation de la concentration des espèces réactives de l'oxygène conduisant à un stress oxydatif, de ce fait, l'effet de transport ne s'arrête pas à l'abattage, mais affecte la conversion du muscle en viande et les paramètres de qualité de la viande qui en résultent ce qui pourraient avoir des effets négatifs sur l'acceptabilité du consommateur et la fonctionnalité de traitement des autres produits transformés, qui à son tour peut provoquer des pertes supplémentaires pour l'industrie (**Zhang *et al.*, 2010 ; Schwartzkopf-Genswein *et al.*, 2012**). Cependant, des sources d'antioxydants apportées dans l'alimentation des animaux comme les feuilles d'olivier peuvent limiter la lipoperoxydation des viandes. Celles-ci sont connues par leur activité antioxydante qui est liée à et la synergie entre plusieurs constituants comme les flavonoïdes, les oleuropéosides et les phénols (**Benavente-Garcia *et al.*, 2000; Botsoglou *et al.*, 2010**). L'objectif de ce travail est d'évaluer les effets des réponses au stress de transport avant abattage sur la perte de poids et les indicateurs de qualité technologique de la viande de poulet de chair nourri avec une alimentation additionnée de la graine de colza et des feuilles d'olivier comme une source d'antioxydants naturels.

1. Matériels et Méthodes

1.1. Animaux et régimes alimentaires

Les graines de colza "00" sont fournies par l'institut des grandes cultures d'Alger. Ces graines sont finement broyées à l'aide d'un moulin à grain avant d'être mélangées dans le régime alimentaire, dont le tourteau de soja est substitué par 5% des graines de colza broyées. Les feuilles d'olivier ont été récoltées pendant la période d'Avril 2015 dans la région de la wilaya

de Mostaganem. Ces feuilles sont d'abord séchées par étuvage à 45°C pendant trois jours, ensuite broyées et conservées dans des flacons opaques.

L'étude a été menée sur 100 poussins, de la souche ISA caractérisés par un poids initial à 14 jours de $350,33 \text{ g} \pm 7,02$. Tous les animaux ont été nourris avec un régime additionné de 5 % de la graine de colza. A partir du 28^{ème} jour d'élevage, les poulets ont été divisés en deux groupes dont l'alimentation du premier groupe n'a subi aucune modification (groupe témoin), alors que celle du deuxième groupe a été supplémentée en feuilles d'olivier à raison de 10g/kg (groupe expérimental). Avant abattage, les animaux de tous les groupes ont été mis à jeun pendant une durée de 8 heures. En outre, le jour de l'abattage qui correspond à un âge de poulet de 42 jours, chaque groupe d'animaux a été divisé en deux sous groupes; l'un est placé en situation de repos sans transport ou l'autre soumis à un stress de transport. Les animaux soumis au transport, ont été chargés dans des caisses (7 poulets par caisse), transportés pendant une durée de 2 heures et abattus immédiatement dès qu'ils arrivaient à l'abattoir. Ils ont été pesés avant le chargement et à la fin du trajet. Tandis que, ceux restés en repos, ont été mis dans des caisses et ramenés directement à l'abattoir où ils ont été sacrifiés. Après le sacrifice des animaux et la découpe des carcasses, des échantillons de 100 g des muscles *Sartorius* des cuisses ont été prélevés, pesés, désossés, emballés dans des sachets de congélation, étiquetés puis conservés à -18°C. Dans le but de déterminer les différents rendements à l'abattage, le foie et le gras abdominal ont aussi été prélevés et pesés individuellement.

1.2. Analyses biochimique des régimes et de la viande

La teneur des phénols totaux des feuilles d'olivier est déterminée selon **Milliauskas et al. (2004)**. Les échantillons de muscles sont utilisés pour la mesure du potentiel hydrogène (pH) musculaire qui s'effectue par insertion directe de la sonde d'un pH-mètre à l'intérieur du muscle, la mesure de la couleur de la viande selon le système trichromatique CIE 1976 et la détermination du degré d'oxydation des lipides par la méthode de **(Botsoglou et al., 1994)**.

L'analyse statistique des résultats est réalisée par une analyse de la variance selon le logiciel SAS (procédure GLM, SAS Institute, 1989). La comparaison entre les moyennes est effectuée en utilisant le test de Bonferroni.

2. Résultats et discussions

2.1. Paramètres des carcasses

Les effets du transport avant abattage sur les paramètres des carcasses des poulets de chair sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Effets du stress du transport sur les paramètres de carcasses des poulets

Groupe	T	FO		SEM	Effet facteur	
Transport (h)	0	2	0	2	G	Trp
Poids vif à l'abattage (g)	1825	1812	1823	1810	3,50	NS
Perte de poids (%)	–	0,72	–	0,71	0,10	p 0,05
Rendement en carcasse (%)	70,25	69,92	70,32	70,06	0,32	NS
Poids du gras abdominal (% PCE)	1,48	1,58	1,56	1,50	0,08	NS
Poids des cuisses (% PCE)	18,95	18,86	19,03	18,99	0,21	NS
Poids du foie (% of PCE)	2,81	2,84	2,65	2,60	0,10	NS

Chaque valeur est la moyenne de 10 animaux, T : Témoin, FO : Feuilles d'olivier, G: Groupe, Trp: Transport, Les résultats sont exprimés comme moyenne et erreur standard de la moyenne, $P < 0,05$: effet significatif, NS : effet non significatif.

Nos résultats (tableau 1) ne montrent aucun effet significatif de l'addition des feuilles d'olivier à l'alimentation des poulets de chair pendant la phase de finition sur les différents paramètres pondéraux des carcasses. Nos observations corroborent avec celles de **Leonel et al. (2007)** et **Varmaghany et al. (2012)**.

Toutefois, les poids vifs à l'abattage sont sensiblement plus faibles ($p < 0,05$) pour les animaux transportés (2h Trp) comparativement à ceux restés en repos (0h Trp), soit une perte de poids estimée de l'ordre de 0,72 et 0,71% pour les deux groupes d'animaux. De même, **Oba et al. (2009)** ont constaté une diminution des poids vifs de l'ordre de 2,11- 3,03 et 4,82% pour 30, 90 et 180 minutes de transport respectivement. La perte de poids qui se produit au cours du transport, dépend de plusieurs facteurs comme la densité de chargement, la privation d'eau et de nourriture, l'âge et le poids des oiseaux, la durée du transport et les conditions environnementales au cours du transport (**Nijdam et al., 2005 ; Elrom, 2000**). En outre, **Warrisset al. (1993)** ont rapporté que les animaux peuvent perdre du poids quand ils sont soumis à une forte demande d'énergie, comme celle nécessaire pour maintenir l'équilibre ou la thermorégulation pendant le transport qui induit une perte importante d'eau par transpiration.

Globalement, les rendements en carcasse ne sont pas significativement différents pour tous les groupes. Cependant, une faible diminution de poids des carcasses éviscérées a été observée pour les poulets transportés sans pour autant atteindre le seuil de signification. Nos résultats

confirment ceux de **Karaman *et al.* (2009)** qui n'ont pas observé un écart significatif entre les rendements en carcasse des animaux transportés pendant 2h et ceux non transportés.

En revanche, les poids du gras abdominal enregistrés pour les animaux transportés et ceux restés en repos ne sont pas significativement différents (1,48 vs 1,58 et 1,56 vs 1,50%). Cette observation est aussi valable pour le poids des cuisses et du foie dont les valeurs varient de 18,86 à 19,03% et de 2,60 à 2,84%. Dans ce cadre, nos résultats confirment ainsi ceux des travaux précédents (**Bianchi *et al.*, 2005 ; Doctor et Poltowicz, 2009**).

2.2.pH et couleur de la viande

Les effets du transport avant abattage sur le pH et la couleur de la viande de muscle de la cuisse sont rapportés dans le tableau 2.

Tableau 2: Effets du stress du transport sur le pH et la couleur de la viande de muscle de la cuisse

Groupe	T		FO		SEM	Effet facteur	
Transport (h)	0	2	0	2		G	Trp
pH	6,07 ^a	6,22 ^b	6,05 ^a	6,25 ^b	0,10	NS	p 0,05
L*	51,35 ^a	50,71 ^b	51,72 ^a	50,83 ^b	0,47	NS	p 0,05
b*	6,38	6,47	6,50	6,62	0,24	NS	NS
a*	11,45	11,60	11,47	11,33	0,11	NS	NS

Chaque valeur est la moyenne de 10 animaux, T : Témoin, FO : Feuilles d'olivier, G: Groupe, Trp: Transport, pHu: pH de muscle à 24h *post mortem*, L*: Luminosité, a*: Indice de rouge, b*: Indice de jaune. Les résultats sont exprimés comme moyenne et erreur standard de la moyenne, P<0,05 : effet significatif, NS : effet non significatif.

Nos résultats (tableau 2) indiquent une augmentation significative du pHu de la viande de la cuisse pour tous les animaux soumis au transport. Cette tendance a été aussi observée par **Owens et Sams, (2000)** et **Début *et al.* (2003)** pour 3h et 2h de transport des dindes et des poulets respectivement. Les études ainsi menées ont montré que le stress subi par l'animal au cours des différentes étapes de l'abattage pouvait être à l'origine du quasi épuisement des réserves en glycogène (**Terlouw et Rybarczyk, 2008**). **Warris *et al.* (1999)** ont aussi rapporté que le transport avant abattage est une source d'épuisement pour les oiseaux, qui se traduit par une diminution des réserves hépatique et musculaire en glycogène mais également par un ralentissement de l'acidification du muscle post mortem. En définitive ces résultats semblent

indiquer que l'effet associé du stress et de l'épuisement des réserves en glycogène pourrait expliquer les niveaux de pHu plus élevés après le transport.

Contrairement au pH, la présente étude montre que la luminance (L^*) de la viande diminue significativement après le transport des animaux. Des observations analogues ont été constatées par **Owens et Sams, (2000)** qui ont trouvé que les valeurs de la luminance de la viande de filet de la dinde baissent significativement suite à l'effet d'une durée de 3h de transport. Selon **Barbut et al. (1993)**, le pH qui est inversement proportionnel à la luminance et donc la diminution du paramètre (L^*) peut être expliquée par les valeurs élevées du pHu trouvées dans le cas de nos échantillons.

2.3. Peroxydation lipidique

Les effets du transport de pré-abattage et de la supplémentation du régime alimentaire des poulets en feuilles d'olivier sur la peroxydation lipidique de la viande de muscle *Sartorius* de la cuisse sont illustrés dans la figure 1. Les concentrations du Malondialdéhyde (MDA) augmentent significativement dans la viande des poulets ayant subi le stress lié au transport (2h) par rapport à celle des poulets témoins (0h). Cela peut être expliqué par l'augmentation de la concentration des espèces réactives de l'oxygène suite à l'effet du stress de pré abattage, ce qui accroît la susceptibilité de la viande aux réactions oxydatives et conduit donc au phénomène du stress oxydatif (**Chulayo et Muchenje, 2015**), ce dernier est à l'origine de la peroxydation lipidique qui se manifeste par l'augmentation des taux des produits d'oxydation comme le MDA dans le plasma et les tissus (**Sahin et al., 2002; Taysi et al., 2006; Guo et al., 2013**).

Toutefois, nos résultats indiquent que la supplémentation alimentaire en 10g/kg de feuilles d'olivier permet de réduire de 18% la peroxydation lipidique générée par le stress dans la viande de la cuisse. Ainsi, les faibles concentrations du MDA enregistrées avec le régime (GCO) dans la présente étude sont probablement le résultat de la forte capacité des feuilles à piéger les radicaux libres comparativement aux autres parties de l'arbre d'olivier (**Japón-Luján et al. 2006**). Aussi, l'activité antioxydante et la synergie entre plusieurs constituants de ces feuilles comme les flavonoïdes, les oleuropéosides et les phénols (**Benavente-Garcia et al., 2000; Botsoglou et al., 2010**) sont à l'origine de la réduction de la lipoperoxydation générée par le stress.

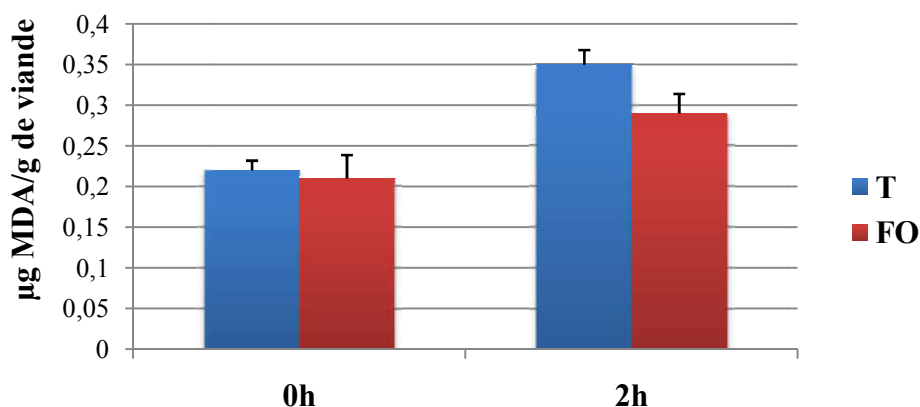


Figure 1 : Effets du transport de pré-abattage et de la supplémentation alimentaire en feuilles d'olivier sur la peroxydation lipidique de la viande de muscle *Sartorius* de la cuisse.

Conclusion

Notre étude a permis de montrer que le transport avant abattage d'une durée de 2h cause une perte significative de poids des poulets et affecte significativement les indicateurs de la qualité technologique de la viande, car il a entraîné une augmentation du pH musculaire qui s'accompagne d'une diminution de la luminance de la viande de muscle de la cuisse. Ce stress a également engendré un accroissement significatif du niveau de la peroxydation lipidique. Cependant, la supplémentation alimentaire en 10g/kg de feuilles d'olivier a exercé un effet antioxydant très marqué qui a permis de réduire de 18% la lipoperoxydation générée par le stress.

Références bibliographiques

- Barbut, S., & Mittal, G. S. (1993) . Effects of pH on Physical Properties of White and Dark Turkey Meat. *Poultry Sci.* 72: 1557-1565.
- Benavente-Garcia O., Castillo, J., Lorente J., Ortuno A. and Del Rio J.A. (2000) Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry* 68: 457–462.
- Bianchi, M., Petracci, M & Cavani, C. (2005) Effects of transport and lairage on mortality, liveweight loss and carcass quality in broiler chickens, *Italian Journal of Animal. Science*, 4:sup2, 516-518, DOI: 10.4081/ijas.2005.2s.516.
- Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G.E., Vassilopoulos, V.N., Mantis, A.J. & Trakatellis, A.G., 1994. A rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissues, food, and feedstuff samples. *J. Agric. Food Chem.* 42, 1931–1937.

- Botsoglou, E., Govaris, A., Moulas, A & Dr Botsoglou, N. (2010): Oxidative stability and microbial growth of turkey breast fillets during refrigerated storage as influenced by feed supplementation with olive leaves, oregano and/ or α -tocopheryl acetate, *British Poultry Science*, 51:6, 760-768.
- Chulayo, A.Y et Muchenje, V. 2015. A balanced perspective on animal welfare for improved meat and meat products. *South African Society for Animal Science*. vol 45 (No. 5) 452- 469.
- Debut, M., Berri, C., Baéza, E., Sellier, N., Arnoud, C., Guémené, D., Bouten, B., Jehl, N., Jégo, Y., Beaumont, C., & Le Bihan-Duval, E. (2003). Variation of Chicken Technological Meat Quality in Relation with Genotype and Stressing Pre-Slaughter Conditions. *Poultry Sci.* 82: 1829-1838.
- Doctor, J et Poltowicz, K (2009). Effect of transport to the slaughterhouse on stress indicators and meat quality of broiler chickens. *Ann. Anim. Sci.*, Vol. 9, No. 3 307 – 317.
- Elrom, K. 2000. Handling and transportation of broilers-welfare, stress, fear and meat quality. Part IV: Handling of broilers. *Israel J. Vet. Med.* 55:121–125.
- Guo, Y., Xu, X., Zou, Y., Yang, Z., Li, S. & Cao, Z., 2013. Changes in feed intake, nutrient digestion, plasma metabolites, and oxidative stress parameters in dairy cows with subacute ruminal acidosis and its regulation with pelleted beet pulp. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 4, 31-41.
- Japón-Luján, R.; Ruiz-Jiménez, J. & Luque de Castro, M.D. (2006). Discrimination and classification of olive tree varieties and cultivation zones by biophenol contents. *J. Agric. Food Chem.*, 54(26): 9706–9712.
- Karaman, M. (2009) Effect of transport time on body performance of broilers during transport to slaughter house. *J. Ani. Vet. Adv.* 8: 1555-1557.
- Leonel, FR., Oba, A., Pelicano, ERL., Zeola, NMBL., Boiago, MM., Scatolini, AM., Lim, TMA., Souza, PA., Souza, HBA. Performance, Carcass Yield, and Qualitative Characteristics of Breast and Leg Muscles of Broilers Fed Diets Supplemented with Vitamin E at Different Ages. *Brazilian Journal of Poultry Science*. ISSN 1516-635X Apr - Jun 2007 / v.9 / n.2 / 91 – 97.
- Milliauskas, G., Venskutonis, P.R., van Beek, T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem*, 85: 231–237.
- Nijdam E, Delezie E, Lambooij E, Nabuurs MJA, Decuypere E, Stegeman JA (2005): Processing, products, and food safety - Comparison of bruises and mortality, stress

parameters, and meat quality in manually and mechanically caught broilers. *Poult Sci* 84: 467-474.

- Oba, A., Alemeida, M.D., Pinheiro, J.W., Ida, E.L., Marchi, D.F., Soares, A.L. and Shimokomaki, M. (2009) The effect of management of transport and lairage conditions on broiler chicken breast meat quality and DOA (Death on Arrival). *Brazilian Arch. of Biol. And Technol.* 52: 205-211.
- Owens, C. M., & Sams, A. R. (2000). The Influence of Transportation on Turkey Meat Quality. *Poultry Sci.* 79: 1204-1207.
- Pereira, T. L.; Corassa, A.; Komiyama, C. M.; Araújo, C. V.; Kataoka, A. (2015). The effect of transport density and gender on stress indicators and carcass and meat quality in pigs. *Spanish Journal of Agricultural Research*, Volume 13, Issue 3, e0606, 11 pages. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2015133-6638>.
- Sahin, K., O. Kucuk, N. Sahin and M. Sari. 2002. Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation status, some serum hormone, metabolite, and mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress (34°C). *Int. J. Vitamin Nutr. Res.* 71:91-100.
- SAS Institute Inc 1989: SAS/STAT User's guide/Version 6. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- Schwartzkopf-Genswein K.S., Faucitano L., Dadgar S., Shand P., González L.A., Crowe T.G. (2012). Road transport of cattle, swine and poultry in North America and its impact on animal welfare, carcass and meat quality. *Meat Science* 92 (2012) 227–243.
- Taysi, S., Ulsu, C., Yilmaz, A., Aktan, B. & Altas, E., 2006. Lipid peroxidation and some antioxidant enzymes in nasal polyp tissue. *Cell Biochem. Funct.* 24, 461-465.
- Terlouw E.M.C. et Rybarczyk P. (2008). Explaining and predicting differences in meat quality through stress reactions at slaughter: The case of Large White and Duroc pigs. *Meat Science*, 79: 795-805.
- Varmaghany, S., Rahimi, S., Karimi Torshizi, M.A., Lotfollahian, H and Jafari, H.(2012). The effect of olive leaf as medicinal plant supplementation on carcass characteristics and mortality in broiler chickens. *Metabolism and Nutrition: Feed Additives.Poult. Sci.* 91(Suppl. 1), pages 119.
- Vimiso, P. & Muchenje, V., 2013. A survey on the effect of transport method on bruises, pH and colour of meat from cattle slaughtered at a South African commercial abattoir. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 43, 105-111.

- Warriss, P. D., Knowles, T. G., Brown, S. N., Edwards, J. E., Ketlewell, P. J., Mitchell, M. A., & Baxter, C. A. (1999). Effects of Lairage Time on Body Temperature and Glycogen Reserves of Broiler Chickens Held in Transport Modules. *Vet. Rec.* 145: 218-222.
- Warriss P.D., Kestin S.C., Brown S.N., Knowles T.G., Wilkins L.J., Edwards J.E., Austin S.D., Nicol C.J., 1993. The depletion of glycogen stores and indices of dehydration in transported broilers. *Br. Vet. J.*, 149, 391-398.
- Zhang L, Yue HY, Wu SG, Xu L, Zhang HJ, Yan HJ, Cao YL, Gong YS, Qi GH. 2010. Transport stress in broilers. II. Superoxide production, adenosine phosphate concentrations, and mRNA levels of avian uncoupling protein, avian adenine nucleotide translocator, and avian peroxisome proliferator-activated receptor-c coactivator-1 α in skeletal muscles. *Poult Sci.* 89:393–400.

CO9. CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES DES FROMAGES A PATES MOLLES TYPE CAMEMBERT ISSUS DES LAITS DE DIFFERENTS STADES DE LACTATION

Bouterfa Asma⁽¹⁾, Bekada Ahmed⁽¹⁾, Homrani Abdelkader⁽¹⁾, Nemmiche Said⁽¹⁾, Homrani Mounia⁽¹⁾, Meghoufel Naima Leila⁽¹⁾, Benkrizi Nawel⁽¹⁾, Ketrouci Leyla., Zelmat Nadia

(1) Laboratoire des Sciences et techniques de production animale. Université Abdelhamid

Ibn Badis. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Mostaganem, 27000. Algérie.

Email : bouterfa_asma@yahoo.com, **Tel :** 0558840552

Resumé :

L'objectif principal de ce travail de recherche est d'étudier la variabilité de la composition de lait de vache en tenant en compte la variation du stade physiologique de lactation des vaches laitières et son influence sur la qualité des fromages à pâtes molles de type Camembert. Pour ce faire, un prélèvement des échantillons de lait de vache cru provenant des trois stades de lactation (premier, deuxième et troisième stade) a été effectué dans des régions de la wilaya de Mostaganem. Ensuite des analyses biochimiques et physico-chimiques ont été réalisées sur les différents laits prélevés afin de définir leurs qualités biochimiques et leur composition de départ (Dosage des : protéines, lipides totaux, minéraux, lactose, ESD...). A partir des laits prélevés, des camemberts ont été fabriqués à échelle de laboratoire. Les résultats ont révélé une teneur en protéines égale à 30,86% pour le lait du premier stade de lactation contre 38,06 % pour celui du deuxième stade et de 23,38 % pour le

dernier stade de lactation. La teneur en lipides totaux a révélé que le lait du premier stade de lactation est riche en LT par rapport à celui du deuxième et troisième stade (41,56% Vs 33,1% et 28,4%). Le dosage des LT contenus dans les Camemberts du premier, deuxième et du troisième stade de lactation a révélé que les taux étaient de l'ordre de : 23 %, 15,66% et 14,66% respectivement. Enfin, la teneur en protéines contenues dans les Camemberts produits est de l'ordre de 19,25% dans celui du premier stade de lactation contre 20,04% dans celui du deuxième stade et de 17% pour le Camembert du dernier stade de lactation.

Mots clés : Lait cru, Stade de lactation, Camembert, protéine, lipide.

I- Introduction

L'Algérie est un pays de tradition laitière. Le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens ils apportent la plus grosse part de protéines d'origine animale. En regard de son contenu en énergie métabolisable, le lait présente une forte concentration en nutriments. Mais le lait n'a pas seulement un intérêt alimentaire, il occupe une place centrale dans l'imaginaire des algériens. Ce n'est d'ailleurs pas par hasard qu'il est offert comme signe de bienvenue, traduisant, ainsi par l'acte notre tradition d'hospitalité.

L'intégration du lait local dans le circuit de la production au niveau des laiteries connaît une évolution encourageante. Son utilisation comme matière première dans la fabrication de nombreux produits dérivés du lait tel que le fromage est tributaire de sa qualité (physique, chimique et hygiénique), souvent instable et douteuse.

La qualité nutritionnelle des fromages dépend d'un grand nombre de facteurs liés à la fois à la technologie de fabrication et aux caractéristiques chimiques et microbiologiques de la matière première mise en œuvre. Ces dernières dépendent elles-mêmes de nombreux facteurs d'amont (d'origine génétique, physiologique, alimentaire.)

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude. Elle donne comme objectif d'évaluer l'impact de la variabilité de la composition de lait de vache en tenant compte la variation du stade physiologique de lactation des vaches laitières et son influence sur la qualité physico-chimique des pâtes molles de type camembert.

II-Matériels et Méthodes:

1) Echantillonnage

Les échantillons des différents laits destinés pour la fabrication de camembert de notre expérimentation proviennent de 4 zones de la wilaya de Mostaganem (Mazagran, Ouled

Hamou, Hassi Mameche et Ain Tedles). Notre choix se repose sur la disponibilité des cheptels bovins destinés pour la production du lait. Les échantillons de lait récoltés dans les différentes zones ont subi une standardisation distincte, ensuite orienté pour la fabrication de 10 camemberts pour chaque stade de lactation.

Procédé de fabrication du Camembert

Coagulation du lait ou caillage :

Le caillage se manifeste par l'ajout de présure environ 1,5 à 2 ml à 10 L de lait dans le cas des fromages à pâte molle ainsi par l'addition de ferments lactiques.

Tranchage, Moulage et égouttage du caillé obtenu :

Il s'agit d'éliminer 50 à 70% de lactosérum (petit-lait) du caillé par le tranchage de ce dernier à l'aide d'une tranche caillée (dont l'écartement des lames ou des fils est au minimum de 2,5 cm). Deux passages au maximum de cet instrument sont autorisés dans la bassine.

L'élimination du petit lait est assurée à l'aide d'une louche ensuite le caillé est déposé dans des moules sans fond (10,5 à 11,5 cm de diamètre et de 3 cm d'épaisseur), sur un support permettant l'égouttage du petit lait restant.

Pendant encore 18 heures, les fromages s'égouttent. Cependant il est important de les retourner plusieurs fois. Les fromages sont recouverts (plaqués) d'une plaque métallique qui exerce une légère pression sur le fromage.



Figure 1 : Opération de moulage du camembert



Figure 2 : Opération d'égouttage du camembert

Salage des fromages :

Les fromages sont salés au sel sec. Après salage, le fromage peut être ressuyé avant le début de l'affinage pendant une période qui ne dépasse pas 24 heures.

Maturation ou affinage :

L'affinage des fromages s'effectue dans un réfrigérateur à une température comprise entre 10 et 12 °C. Avec pulvérisation du *Penicillium Camemberti*.



Figure 3 : Affinage du fromage

2) Analyses physico-chimique du lait

Les composés concernés pour le dosage sont obtenus à l'aide de l'appareil : « **LactoStar** »

- ✚ **Détermination de la teneur en Matière grasse**
- ✚ Détermination de la teneur en Protéine
- ✚ Détermination de la teneur en lactose
- ✚ Détermination de la teneur en extrait sec dégraissé

3) Analyses biochimique du fromage produit : Camembert

Détermination de la matière grasse : Dosage des lipides totaux (M.G) (Méthode de Folch et al, 1975)

A partir de chacun des prélèvements, les lipides ont été extraits par la méthode de **Folch et al, 1975**.

Principe de la méthode Folch et al, 1975.

Cette technique repose sur le principe d'une extraction à froid des lipides par un mélange de solvant chloroforme/méthanol (2/1, v/v). L'addition d'une solution aqueuse de NaCl à 0, 58% permet la séparation des phases.

La phase supérieure constituée méthanol et d'eau, contient les composés hydrophiles (glucides et protéines) dont la dissolution est favorisée par la présence de sel, tandis que les lipides sont dissous dans la phase organique inférieure. La pesée du ballon contenant l'extrait lipidique après évaporation du solvant permet de calculer la teneur en lipides exprimée en pourcentage.

Le pourcentage des lipides totaux peut être déterminé par la formule suivante :

$$\% \text{ des lipides totaux} = \frac{M1-M0}{M} \times 100$$

Avec :

M1 : Masse du ballon plein (contenant les lipides)

M0 : Masse du ballon vide

M : Masse de l'échantillon

Détermination de l'extrait sec total (EST) :

L'extrait sec total est déterminé à l'aide d'une étuve. Le principe consiste à sécher l'échantillon. Le pourcentage d'humidité ou de solide est calculé par la différence entre le poids humide initial et le poids sec final. L'extrait sec dégraissé (ESD) est déterminé en faisant la différence entre l'extrait sec total (EST) et la matière grasse (MG).

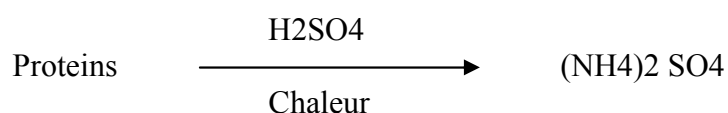
Détermination de la teneur en protéines:

Dosage de l'azote (méthode de Kjeldahl):

L'azote est dosé selon la méthode de **Kjeldahl** qui est une méthode de référence. Son principe peut être subdivisé en trois étapes:

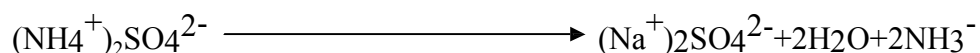
- Minéralisation:

La matière organique est détruite à chaud par l'acide sulfurique concentré. L'azote se retrouve sous forme de sulfate d'ammonium:



Distillation:

L'ammoniac (du sulfate d'ammonium) est déplacé par une solution d'hydroxyde de sodium concentré puis entraîné par la vapeur d'eau:



Titration:

L'ammoniac est distillé et titré par une liqueur d'acide sulfurique centinormale en présence de 5 ml d'indicateur coloré. Le mode opératoire est donné en annexe3.

Le taux protéique est déterminé en utilisant un facteur de conversion égal à 6,38.

III- Résultats et discussions :

Résultats du lait

Tableau 1. Teneur en matière grasse, matière protéique, extrait sec dégraissé (ESD) et du lactose des laits issus des différents stades de lactation en g/l.

	1 ^{er} stade de lactation	2eme stade de lactation	3eme stade de lactation
MG (g/l)	41.56	33,13	28,4
MP (g/l)	30,86	38,06	23.38
ESD (g/l)	78.76	83.7	85.44
Lactose (g/l)	41.95	53	50.83

Matière grasse

Les teneurs en lipides selon le stade de lactation sont illustrées dans le **tableau 1**.

La comparaison des teneurs en lipides selon le SL montre une supériorité plus marquée sur le lait du premier stade par rapport au deuxième et troisième stade de lactation. En effet, il ressort que les contenus lipidiques des laits du deuxième et du troisième stade de lactation ont enregistré une baisse par rapport à celui du premier stade de lactation (41.56 Vs 33,13 et 28,4 g/l).

Matière protéique

Les contenus protéiques des différents laits récoltés laissent observer que celui du deuxième stade de lactation surclasse ($P < 0,05$) les laits du premier et du troisième stade de lactation de 19% et de 38.5% respectivement (tableau 1)

Extrait sec dégraissé (ESD)

Le contenu en extrait sec dégraissé entre les trois laits récoltés apparait dans des proportions comparables (**Tableau 1**). Toutefois, le stade de lactation présente un effet significatif ($P < 0,05$) sur le taux de l'ESD. A cet effet, une augmentation de ESD de l'ordre de 6 et 8 % pour les laits du deuxième et du troisième stade de lactation est observée respectivement par rapport à celui du premier stade (78.76 Vs 83.7 et 85.44g/l).

Teneur en lactose

L'analyse de variance a révélé que le stade de lactation présente un effet significatif sur le taux de lactose. Il en découle une teneur en lactose plus élevée dans le lait du deuxième

stade de lactation que dans les laits du troisième et premier stade de lactation (53 Vs 50.83 et 41.95 g/l) avec des différences de l'ordre de 4% et 21% respectivement.

Résultats du Camembert

Tableau 2. Teneur en matière grasse, matière protéique et Extrait Sec Total (EST) des camemberts issus des différents stades de lactation en g/100g.

	1 ^{er} stade de lactation	2eme stade de lactation	3eme stade de lactation
M.G (g/100g)	23	15,66	14,66
Protéine (g/100g)	19,25	20,04	17
E.S.T (g/100g)	64,1	41,66	41,6

Teneur en matière grasse (MG)

L'étude statistique a fait ressortir que le stade de lactation présente un effet significatif sur la teneur en matière grasse. Le taux de MG est plus élevé dans le camembert du premier stade de lactation par rapport à celui du deuxième et du troisième stade de lactation (**tableau 2**).

En outre, Il est constaté que le taux de MG était de 23g/100g dans le camembert du premier stade de lactation contre 15.66 g/100g et 14.66 g/100g pour les camemberts du deuxième et du troisième stade respectivement.

Teneur en protéine

L'analyse de variance a fait ressortir que le stade de lactation a un effet significatif ($P < 0,05$) sur la teneur en protéine des différents camemberts fabriqués. (**Tableau 2**).

S'agissant du camembert du premier stade de lactation, la proportion en protéine était de 19,25g/100g pour progresser à 20,04g/100g dans le camembert du deuxième stade de lactation ensuite chuter à 17g/100g dans le camembert du troisième stade de lactation, soit une baisse de l'ordre de 15% (**Tableau 2**)

Extrait Sec Total (EST)

Les teneurs en EST apparaissent en concentrations supérieures dans le camembert du premier stade de lactation que dans les camemberts du deuxième et du troisième stade de lactation avec des écarts estimés à 35% (64,1g/100g Vs 41.66 et 41.6g/100g) (**Tableau 2**).

Le stade de lactation a un effet sur tous les composants du lait observable à travers des changements significatifs dans l'état physiologique de la vache (**Gaunt, 1973; Walker et al., 2004**).

La teneur en MG décline après le vêlage et atteint son nadir lorsque les vaches sont entre 40 à 60 jours post-partum, avec une légère augmentation journalière par la suite (**Schutz et al., 1990; Barber et al., 1997; Walker et al., 2004**). Cette baisse peut être expliquée principalement par un effet de dilution puisque la teneur MG évolue de façon inverse à la production de lait (**Coulon et al., 1991; Varga et Ishler, 2007**). Les teneurs plus élevées en MG et en protéines sont dans le colostrum et à environ au 250 JEL, une fois que la production de lait commence à diminuer (**Heinrichs et al., 1997**). Des variations allant jusqu'à 0,75 unité de pourcentage dans la TMG peuvent être expliquées par les différences de JEL (**Oetzel, 2007**).

Le stade de lactation a aussi un effet sur la teneur en protéine du lait (**Beever et al., 2001**). Après le vêlage, la TP du lait est la plus haute et descend pour atteindre son nadir entre 5 et 6 semaines de lactation et va augmenter à nouveau graduellement à la fin de la lactation (**Beever et al., 2001**).

Les premières traites après le vêlage, la TP du lait est très élevée, en moyenne $14,9 \pm 3,3$ % dans le colostrum, principalement à cause de la présence d'immunoglobulines provenant du sang (**Murphy et O'Mara, 1993; Kehoe et al., 2007**). Ensuite, la teneur diminue rapidement au cours des cinq premiers jours de lactation, puis plus lentement par la suite jusqu'à l'atteinte d'un minimum entre la cinquième et la dixième semaine après le vêlage (**Murphy et O'Mara, 1993**). Aussi, la TP est généralement plus faible chez les vaches primipares que chez les multipares (**Brun-Lafleur et al., 2010**). Cette différence peut s'expliquer par la difficulté des vaches primipares à mobiliser leurs réserves de protéines puisqu'elles en ont aussi besoin pour leur croissance.

La production laitière est soumise, comme toutes les activités de l'agriculture, à des pressions économiques grandissantes dont il faut produire à meilleur compte. Sous l'impulsion de PSL et de la Haute Ecole Suisse d'Agronomie (HESA) un projet intitulé «OptiMilch» a vu le jour en 1999. La synchronisation des vêlages a fait l'objet d'essais. Les «technologues fromagers» d'ALP sont d'avis que cette pratique pourrait poser des problèmes de fromageabilité du lait, surtout en début et en fin de lactation, certains auteurs décrivant le phénomène rencontré en Nouvelle-Zélande et en Irlande, en production de Cheddar. Les buts de ces essais étaient, du point de vue de la technologie fromagère, de connaître l'influence de la synchronisation des vêlages sur la fromageabilité du lait et de connaître les variations de l'aptitude à la coagulation durant la lactation et de détecter les variations de la composition du lait, en complément des connaissances relatives au déficit d'énergie, durant la lactation.

Il a été noté que la fromageabilité du lait est influencée par la synchronisation des vêlages ainsi la qualité des fromages produits en début de lactation est moins bonne. (**Jean-Pierre et al., 2004**)

Il importe de signaler que l'aptitude à la coagulation diminue en fin de lactation mais dans une mesure insignifiante du point de vue technologique. Par ailleurs la durée de coagulation est d' 1 à 2 minutes plus longues et enfin la composition du lait varie dans le même sens que lors d'un déficit d'énergie chez les vaches. (**Jean-Pierre et al., 2004**)

Il est aléatoire d'en conclure que ces variations sont attribuables au stade de lactation, au déficit d'énergie ou à un cumul des deux. (**Jean-Pierre et al., 2004**).

ESD : extrait sec dégraissé

EST : extrait sec total

LT : lipides totaux

MG : matière grasse

SL : stade de lactation

TMG : taux de matière grasse

TP : taux protéique

Références bibliographiques :

- Barber, M. C., R. A. Clegg, M. T. Travers, et R. G. Vernon. 1997. Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochi. Biophys. Acta (BBA) – Lipids Lipid Met.* 1347:101-126. [http://dx.doi.org/10.1016/S0005-2760\(97\)00079-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0005-2760(97)00079-9).
- Beever, D. E., J. D. Sutton, et C. K. Reynolds. 2001. Increasing the protein content of cow's milk. *Aust.J Dairy Technol.* 56:138.-149.
- Brun-Lafleur, L., L. Delaby, F. Husson, et P. Faverdin. 2010. Predicting energy × protein interaction on milk yield and milk composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:4128- 4143. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-2669>.
- Coulon, J. B., Y. Chilliard, et B. Rémond. 1991. Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques (aptitude à la coagulation, lipolyse). *INRA Prod. Anim.* 4:219-228.
- Folch J, Lees M, Sioane-Stanley GA (1957) A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 266,497-509
- Ishler, V. A. 2008. Interpretation of milk urea nitrogen (MUN) values. [En ligne] Disponible. :<http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrient-management/certifieddairy/tools/interpretation-of-mun-values> (Page consultée le 20 juillet 2015).
- Jean-Pierre Hänni, Ernst Jakob Photos/rédaction Agroscope Liebefeld–Posieux Mise en page Helena Hemmi Copyright Reproduction autorisée sous condition d'indication de la source et de l'envoi d'une épreuve à l'éditeur. 12.2004
- Kehoe, S. I., B. M. Jayarao, et A. J. Heinrichs. 2007. A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. *J. Dairy Sci.* 90:4108-4116. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2007-0040>.

- Murphy, J. J., et F. O'Mara. 1993. Proceedings of the joint E.A.A.P./A.S.A.S. Workshop
- nutritional manipulation of milk protein concentration and its impact on the dairy
- Oetzel, G. R. 2007. Subacute ruminal acidosis in dairy herds: physiology, pathophysiology, milk fat responses, and nutritional management. Preconvention Seminar 7A. Am. Assoc. Bovine Pract. 40th Annu. Conf.
- Schutz, M. M., L. B. Hansen, G. R. Steuernagel, et A. L. Kuck. 1990. Variation of milk, fat, protein, and somatic cells for dairy cattle. J. Dairy Sci. 73:484-493. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78696-1](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78696-1).
- Walker, G. P., F. R. Dunshea, et P. T. Doyle. 2004. Effects of nutrition and management on the production and composition of milk fat and protein: A review. Aust. J. Agric. Res. 55:1009-1028. <http://dx.doi.org/10.1071/AR03173>.

CO10. Caractérisation génotypique de la flore lactique d'un fromage à pâte molle « le camembert du Tessala » fabriqué à base d'un lait de vache thermisé

Dahou Abdelkader Elamine¹, Bekada Ahmed Mohammed Ali², Homrani Abdelkader¹, Latreche Bilel³, Nemmiche Said¹ et Meghoufel Naima¹

¹*Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem Algérie.*

²*Centre universitaire Ahmed Benyahia El Wancharissi de Tissemsilt Algérie.*

³*Laboratoire de recherche en biotechnologie et qualité des aliments université des frères Mentouri Constantine Algérie*

E-mail : amine2369@gmail.com

Résumé

Les communautés microbiennes jouent un rôle important dans la maturation du fromage à pâte molle type camembert et déterminent dans une large mesure sa qualité gustative. Cette communauté est appelée microflore lactique naturelle rapportée par le lait et qui permet de préserver la typicité et une certaine diversité et richesse sensorielle du camembert du Tessala. Dans la présente étude nous avons, après isolement et purification, caractérisé génotypiquement la microflore lactique de ce type de fromage en fin de maturation issu de la transformation d'un lait de vache thermisé. 22 isolats ont été retenus des échantillons de fromage récupérés de la fromagerie à fin de maturation et analysés à l'aide des méthodes phénotypiques par les galeries API 50 CHL. L'isolement de l'ADN bactérien à partir de la culture purifiée a été établi par une amplification de l'ADN ribosomal 16S par des amorces universelles spécifiques des procaryotes avec des souches de référence de chaque espèce bactérienne isolée, utilisées comme témoins positifs. La

quantification par électrophorèse des produits de la PCR en temps réel a révélé l'identification de 22 espèces différentes avec une prédominance de 05 *Lactococcus lactis* subsp *cremoris*, 03 *Lactococcus lactis*, 04 *Enterococcus faecalis*, 02 *Enterococcus faecium*, 02 *Lactobacillus delbrueckii*, 01 *Lactobacillus acidophilus*, 01 *Lactobacillus fermentum*, 01 *Lactobacillus casei*, 01 *Pediococcus acidilactici*, 01 *Pediococcus pentosaceus* et 01 *Leuconostoc mesenteroides* subsp *cremoris*. Ces résultats montrent la typicité du camembert du Tessala par la diversité de sa flore lactique originelle préservée par la thermisation initiale du lait caractéristique utilisée industriellement pour la destruction des bactéries indésirables et pathogènes dans sa fabrication, le maintien de l'écosystème microbien laitier utile pour sa maturation en affinage et l'uniformisation de ces caractéristiques sensorielles.

Mots clés : Camembert du Tessala, microflore lactique, caractérisation moléculaire, thermisation du lait, caractéristiques sensorielles

1. Introduction

La flore microbienne des fromages est très diversifiée ; selon son intérêt et ses conséquences en fromagerie à pâte molle, on peut la scinder en 3 groupes :

- La flore utile ou technologique : lactocoques, lactobacilles, leuconostocs, flore de surface (levures, microcoques, etc.)
- La flore indésirable : Coliformes, *Pseudomonas*,...
- La flore potentiellement pathogène : *E.coli*, *Staphylococcus* à coagulase positive, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*,...

Cette flore microbienne, dite naturelle ou indigène, joue un rôle important dans la qualité des fromages au lait cru ou simplement traité modérément par une simple thermisation, en particulier sur le plan gustatif. Elle permet de préserver la typicité et une certaine diversité sensorielle des fromages (Luquet et *al.*, 2005 ; Mallet et *al.*, 2012 ; Monnet et *al.*, 2015 et Verdier et *al.*, 2009).

En Algérie, le lait de vache est transformé en fromage à pâte molle type camembert soit traditionnellement ou industriellement. Les produits issus d'une technologie traditionnelle retiennent leurs qualités désirables même après une longue conservation à température ambiante à cause des aptitudes technologiques développées par la microflore naturelle apportée par le lait (Aissaoui et *al.*, 2006)

Les fromages traditionnels hébergent un microbiote diversifié, composé de populations microbiennes endogènes, qui jouent un rôle majeur dans le développement des qualités

nutritionnelles et organoleptiques très sollicitées (Beuvier et *al.*, 2004 et Leclercq et *al.*, 2011).

Cette diversité de la microflore lactique sera spécifiée, dans cette étude, par la caractérisation phénotypique et génotypique de l'écosystème bactérien lactique isolé du camembert de Tessala en maturation fabriqué par la technologie traditionnelle.

2. Matériel et méthodes

2.1 Origine des fromages

Les fromages étudiés étaient issus de trois fabrications industrielles traditionnelles de l'ouest de l'Algérie, réalisés en printemps (du 15 mars au 15 juin) et référencées de la même région de la commune Sidi-Lahcène wilaya de Sidi-Belabbès à un mois d'intervalle. La fabrication et l'affinage étaient effectués selon le procédé habituel de la fromagerie « Tessala » à partir d'un lait de vache thermisé à 63°C issu de 03 exploitations d'élevage de la race locale « Brune de l'Atlas Guelmoise » et nonensemencé en levains lactiques.

2.2 Prélèvement des échantillons du camembert du Tessala

Des échantillons de fromage à fin de maturation soit au 10^{ème} jour d'affinage, ont été prélevés aseptiquement dans des récipients stériles de la fromagerie du Tessala en fin de maturation et conservés à basses températures jusqu'à la mise en route des analyses expérimentales au laboratoire.

2.3 Analyses microbiologiques

La solution mère a été préparée en réalisant une dilution au dixième. A partir de cette solution mère, des dilutions décimales adaptées à l'échantillon ont été effectuées.

2.4 Dénombrement des bactéries lactiques

Les milieux utilisés pour la culture de la flore lactique sont respectivement les suivants :

□□le milieu MRS : Ce milieu très riche, permet un développement rapide de toutes les espèces de lactobacilles.

□□le milieu M17 :Ce milieu est préconisé pour la flore lactique en coques.

L'ensemencement des boîtes de Pétri se fait dans la masse et sont incubées à 30°C, 37°C et à 45°C pendant 48 heures à 72 heures. Les résultats sont exprimés en nombres de cellules par ml (Fricker et *al.*, 2011).

2.5 Isolement et purification

Après dénombrement, les colonies apparemment caractéristiques des groupes bactériens à étudier sont prélevées des boîtes de Pétri pour étude de la morphologie.

Les bactéries, en coques et en bâtonnets, Gram-positives, catalase négative, sont retenues comme étant des bactéries lactiques. Parmi les colonies bien isolées et purifiées qui

apparaissent sur boîtes de Pétri, une colonie bien caractéristique est prélevée de chaque boîte et conservée à 4°C sur tubes à eppendorf avec du MRS-15% glycérol en vue de son identification (Irlinger et *al.*, 2015).

2.6 Caractérisation phénotypique des isolats

L'identification des souches de bactéries lactiques est faite selon les critères biochimiques préconisés par Gill et *al.*, (2006) et Raats et *al.*, (2011) et selon la "classification de Bergey's manual of determinative bacteriology et ensuite confirmée par le système API bioMérieux en utilisant la galerie API 50 CH avec API 50 CHL medium (bioMérieux, Marcy l'étoile, France). L'ensemencement et la lecture de la galerie ont été réalisés selon les instructions du fabricant, le profil biochimique obtenu pour chaque espèce lactique a été lu grâce à un logiciel d'identification APILAB (bioMérieux, Marcy l'étoile, France).

2.7 Caractérisation génotypique des isolats purifiés

L'identification des isolats purifiés par les méthodes phénotypiques ne permet pas d'identifier de façon fiable les isolats purifiés selon Raats et *al.*, (2011). Nous avons développé au niveau du laboratoire un outil basé sur la biologie moléculaire qui repose sur l'amplification de l'ADN ribosomal 16 S par des amorces universelles spécifiques des procaryotes, une analyse critique de la séquence obtenue et une comparaison avec les témoins positifs des espèces : *Enterococcus faecalis* ATCC 14506, *Enterococcus faecium* ATCC 27270, *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 et ATCC 4356, *Lactobacillus casei* ATCC 393, *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 11842, *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338, *Lactococcus lactis* ATCC 49032, *Leuconostoc mesenteroides subsp cremoris* ATCC 19254 et *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 .

3. Résultats : Les résultats des analyses microbiologiques sont représentés comme suit :

3.1 Dénombrement des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été dénombrées dans tous les échantillons de fromage étudiés à base de lait de vache en haute lactation. Leur nombre varie de $1,9 \cdot 10^2$ ufc /g à $2,3 \cdot 10^2$ ufc/g pour celle isolée sur le milieu MRS et de $2,5 \cdot 10^5$ à $4,5 \cdot 10^5$ sur le milieu sélectif M17. Cette différence de nombre de bactéries lactiques dans les échantillons analysés est le résultat de la variabilité de l'écosystème microbien laitier au sein de la même race animale locale « la Brune de l'Atlas » avec une prédominance à 38% Lactocoques, 29% Entérocoques lactiques, 19% Lactobacilles, 10% Pédiocoques et 4% Leuconostocs. Le nombre se détermine

avec la qualité de l'échantillonnage en relation avec la race animale d'une même exploitation d'élevage et de transformation comme décrite par Delbès et *al.*, (2015).

3.2 Isolement et purification

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés uniquement aux bactéries lactiques isolées en fin de maturation du camembert au 10^{ème} jour d'affinage et qui présentent un intérêt appliqué. 22 isolats d'espèces apparentées aux bactéries lactiques ont été retenus pour une caractérisation phénotypique ; 08 isolats de Lactocoques, 06 isolats d'Entérocoques lactiques, 05 isolats de Lactobacilles, 02 isolats de Pédicoques et 01 isolat de Leuconostoc. Les tests physiologiques et biochimiques ont montré que tous les isolats se sont avérés à Gram positif et catalase négative ce qui est caractéristique des bactéries lactiques.

Tableau 01 : Incidence des bactéries lactiques dans le fromage traditionnel de type pâte molle « le camembert du Tessala »

Analyse microbiologique	Lait 1 ^{ère} exploitation	Lait 2 ^{ème} exploitation	Lait 3 ^{ème} exploitation	Fromage 1 ^{ère} exploitation	Fromage 2 ^{ème} exploitation	Fromage 3 ^{ème} exploitation
Flore totale						
ufc/ml ou g	2 10 ⁸	1,5 10 ⁸	1,7 10 ⁸	2 10 ⁶	1,5 10 ⁶	1,8 10 ⁶
Flore lactique						
sur MRS ufc/ml ou g	2 10 ⁴	8 10 ³	1,5 10 ⁴	2,3 10 ²	1,9 10 ²	2,1 10 ²
Flore lactique						
sur M17 ufc/ml ou g	8 10 ⁵	4 10 ⁵	6 10 ⁵	4,5 10 ⁵	2,5 10 ⁵	3,5 10 ⁵

Tableau 02 : Profil physiologique et biochimique des souches lactiques isolées

Caractères de la souche	Coloration Gram	Forme	Catalase	Type fermentaire	Croissance à 30°C	Croissance à 37°C	Croissance à 45°C
Entérocoques	+	Coque	-	hétéro	-	+	+
Lactobacilles	+	bâtonnet	-	hétéro	-	+	+
Lactocoques	+	Coque	-	homo	+	+	-
Leuconostocs	+	Coque	-	hétéro	+	+	-

Pédiocoques + Coque - hétéro + + -

3.3 Caractérisation phénotypique et génotypique des isolats purifiés

L'analyse phénotypique de nos 22 isolats à base des galeries API par le test de la dégradation des carbohydrates a confirmé la typicité de nos fromages et également les études établies dans ce sens (Irlinger et *al.*, 2015 ; Jany et *al.*, 2008 ; Montel et *al.*, 2012)

L'étude génotypique réalisée par une caractérisation moléculaire basée sur l'amplification puis séquençage de l'ADN bactérien a donné les résultats escomptés. La visualisation des profils obtenus après électrophorèse sous lumière ultraviolette a donné un dendrogramme comparatif avec des degrés de similitude aux témoins caractéristiques des souches lactiques de références utilisées. En effet à une masse moléculaire déterminée en paire de base (Pb), la bande d'ADN caractéristique pour les 22 souches purifiées a été amplifiée et visualisée positivement après électrophorèse sur gel d'agarose 2%. La révélation des bandes sur le gel a été faite sous ultra -violet ($\lambda=321$ nm) et a été ensuite photographié sur le GBOX, SYNGENE, l'acquisition et l'analyse de l'image est réalisée par le logiciel GenSnap.

Tableau 03 : Identification des bactéries lactiques isolées des fromages en haute lactation par la technique de l'ARNr16s

Souches	Identification moléculaire	% I.D	Marquage bande ADN
Lac15	<i>Lactococcus lactis subsp cremoris</i>	100	320 Pb
Lac16	<i>Lactococcus lactis subsp cremoris</i>	100	320 Pb
Lac22	<i>Lactococcus lactis</i>	100	380 Pb
Lac 25	<i>Lactococcus lactis subsp cremoris</i>	100	320 Pb
Lac26	<i>Lactococcus lactis</i>	100	380 Pb
Lac28	<i>Lactococcus lactis</i>	100	380 Pb
Lac29	<i>Lactococcus lactis subsp cremoris</i>	100	320 Pb
Lac30	<i>Lactococcus lactis subsp cremoris</i>	100	320 Pb
Leuc8	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp cremoris</i>	100	610 Pb
Ped2	<i>Pediococcus acidilactici</i>	100	810 Pb
Ped5	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100	720 Pb
Lb5	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	100	480 Pb
Lb6	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	100	480 Pb
Lb7	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	510 Pb
Lb8	<i>Lactobacillus fermentum</i>	100	540 Pb
Lb9	<i>Lactobacillus casei</i>	100	580 Pb
Ent 1	<i>Enterococcus faecalis</i>	100	840 Pb
Ent 13	<i>Enterococcus faecalis</i>	100	840 Pb

Ent 15	<i>Enterococcus faecalis</i>	100	840 Pb
Ent 16	<i>Enterococcus faecalis</i>	100	840 Pb
Ent17	<i>Enterococcus faecium</i>	100	890 Pb
Ent18	<i>Enterococcus faecium</i>	100	890 Pb

4. Discussions

Les dénombrements bactériens effectués sur les 03 fromages issus des 03 exploitations de la même région présentaient une excellente répétabilité pour les 03 flores étudiées (**Tableau 01**) ; l'écart type de répétabilité s'élevait à 0.5 ufc/g pour la flore totale, 0.2 ufc/g pour la flore lactique isolée sur milieu MRS et 1 ufc /g pour la flore lactique caractérisée sur milieu M17. Les niveaux de populations atteints sont comparables à ceux qui ont été observés sur des fromages similaires fabriqués à partir de lait cru (Desmasures, 1995 et Dubernet et *al.*, 2008) mais comparablement différents à cause du traitement thermique de thermisation appliqués sur nos laits transformés.

La connaissance de la diversité de la flore lactique du fromage le camembert du Tessala fut d'abord acquise par des méthodes d'isolement, d'identification et de purification de 22 isolats basées sur des cultures avec des milieux spécifiques, enrichie en deuxième lieu par des analyses phénotypiques à base des galeries API CHL, le profil biochimique ainsi obtenu a été lu grâce à un logiciel d'identification APILAB (bioMérieux, Marcy l'étoile, France) et a confirmé la typicité de 22 espèces de bactéries lactiques. Les bactéries lactiques isolées forment un groupe hétérogène composé majoritairement de coques et de bâtonnets, dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique, non pathogènes, ces bactéries à coloration de Gram positive (Gram+) ont un métabolisme anaérobie facultatif et ne produisant pas de catalase (**Tableau 02**).

L'analyse taxonomique de plus en plus fine grâce aux méthodes moléculaires appuyés par les techniques PCR de séquençage de l'ADN a permis d'affilier et de confirmer l'analyse phénotypique comme décrite par Depouilly et *al.*, (2004) et Quigley et *al.*, (2011); en effet l'étude génotypique réalisée par la PCR des profils en poids moléculaire différents (en Pb) comparables à ceux des souches de références utilisées soit des bandes d'ADN caractéristiques pour les 22 espèces visualisées positivement après électrophorèse sur gel d'agarose 2% (**Tableau 03**).

En comparant ces résultats avec ceux de la bibliographie (Casalta, 2003 ;et Leclercq-Perlat et *al.*, 2004 ; Monnet et *al.*, 2015) au cœur des fromages à pâte molle type camembert fabriqués au lait de vache, les bactéries lactiques acidophiles restent les mieux adaptées aux

conditions prévalant dans la pâte de nos fromages ; les lactocoques homofermentaires , les entérocoques et les lactobacilles hétérofermentaires dominant largement au cours de la transformation traditionnelle avec une activité protéolytique favorisant la production de facteurs de croissance les acides aminés nécessaires au développement de la microflore lactique secondaire fortement dépendante dont les leuconostocs et les pédiocoques.

Divers résultats dans le même contexte de notre étude et dont ceux de Irlinger et *al.*,(2009), Mallet et *al.*, (2012) et Verdiez-Metz et *al.*,(2009) ; soulignent le rôle de l'abondance et de la diversité du microbiote des laits modérément traités dans la préservation de l'écosystème microbien des fromages affinés et la formation des composantes organoleptiques très typées .

Conclusion

Notre étude réalisée a confirmé que la microflore naturelle joue un rôle important dans la qualité des fromages fabriqués traditionnellement et fabriqués au lait de vache thermisé, en particulier sur le plan organoleptique.

Cette microflore représentée essentiellement par les lactocoques, les entérocoques et les lactobacilles permet de préserver la typicité par leurs aptitudes technologiques confirmés soit par leur activité enzymatique surtout protéolytique qui donne au camembert du Tessala une valeur nutritionnelle appréciable par les acides aminés indispensables libérés par cette flore acidophile.

La comparaison des résultats avec ceux cités dans la bibliographie dont ceux de Delbès et al. 2015 ; Irlinger et al., 2015 et Montel et al.,2012 ont donné des résultats similaires sur la diversité de la communauté bactérienne dans la pâte des fromages en maturation

D'autre part, dans les pays industrialisés, les pratiques de nettoyage et de désinfection des trayons à la traite ont amélioré la qualité hygiénique du lait cru et de façon concomitante diminué sa charge microbienne et ainsi influé sur l'écosystème microbien laitier naturel des fromages. Des espèces de bactéries lactiques devenues rares dans ces pays sont fréquentes dans nos fromages fabriqués traditionnellement ce qui contribue à l'enrichissement du créneau et à la connaissance de leur écologie.

De plus, grâce aux développements technologiques de la dernière décennie, nous commençons à obtenir une image fiable de la diversité microbienne de nos fromages fabriqués à base de lait de notre cheptel local qu'il va falloir exploiter pour l'uniformisation et standardisation des caractéristiques sensorielles de nos fromages.

Références bibliographiques

- AISSAOUI D., ZIDOUNE M.N., 2006. Le fromage traditionnel algérien « BOUHEZZA ». Séminaire d'animation régional. Technologie douce et procédé de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments. INSAT.Tunis, Tunisie/27-28-29 Novembre 2006.
- BEUVIERE., BUCHINS., 2004. Raw milk cheeses : chemistry, physics and microbiology Timothy Academic Press. Vol 1 (2004) 319-345
- BERGEY'S MANUAL, Manual of determinative bacteriology, William and Wilkin, Baltimore, (1986-1989).
- CASALTA E. 2003. Bases scientifiques de la qualité du Venaco, fromage traditionnel au lait cru. Mise au point de ferments sélectionnés spécifiques. Thèses, Université de Bourgogne.
- DELBESC., MONNETC., IRLINGERF., 2015. Des communautés microbiennes au service de la qualité des fromages, innovations agronomiques, 44(2015) ,69-86
- DEPOUILLY A., DUFRENE F., BEUVIER E., BERTHIER F., 2004. Genotypic characterisation of the dynamics of the lactic acid bacterial population of Comté cheese, Lait, 84 ,155-167.
- DESMASURES N., 1995. Etude des laits de haute qualité : caractéristiques et aptitude microbiologique à la transformation en camembert au lait cru. Thèse de Doctorat, Université de Caen.
- DUBERNET S. DESMASURES N., GUEGUEN M. 2008. Diversity and dynamics of lactobacilli populations during ripening of RDO Camembert cheese. Canadian Journal of Microbiology, 54, 218-228.
- FRICKERM., SKANSENGB., RUDIK., STASSIB., EHLING-SCHULZM., 2011. Shift from farm to dairy tank milk microbiota revealed by a polyphasic approach is independent from geographical origin. International journal of food microbiology, 145, (2011), S24-S30
- GILLJ.J., MSABOURP., GONGJ., YUH., LESLIEK.E, GRIFFITHM.W, 2006. Characterization of bacterial populations recovered from the teat canals of lactation dairy and beef cattle by 16S rRNA gene sequence analysis. Int ; dairy .journal (2006) 220-228
- IRLINGER F., LAYEC S., HELINCK S., DUGAT-BONY E., 2015. Cheese rind microbial communities : diversity, composition and origin. FEMS Microbiol. Lett. 362, 1-11. doi :10.1093 : fems lett/fnu015.
- IRLINGER F., MOUNIER J. 2009. Microbial interactions in cheese: implications of cheese quality and safety. Curr. Opin. Biotechnol. 20, 142-148. doi :10.1016/j.copbio.2009.02.016
- JANY J.L, BARBIER G., 2008. Culture-independent methods for identifying microbial communities in cheese. Food Microbiol 25: 839-848
- LECLERCQ-PERLAT M. N., BUONO F., LAMBERT D., SPINLER H. E. and CORRIEU G. 2004. Controlled Production of Camembert-Type Cheeses: Part I. Microbiological and physicochemical evolutions. Journal of Dairy Research 71(3): 346-354.
- LECLERCQ-PERLAT M.N., 2011. Cheese: Camembert, Brie and related varieties. In Editor-in-chief: John W.F, editor. Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition). San Diego: Academic Press pp. 773-782.

- LUQUET F.M et CORRIEUG, 2005. Bactéries lactiques et probiotiques. Tec.Doc, Lavoisier Paris (2005) 3-37
- MALLETA., GUEGUEN M., KAUFFMANN F., CHESNEAU C., SESBOUE A., DESMASURES N., 2012. Quantitative and qualitative microbiological analyses of raw milk reveals substantial diversity influenced by management practices. *Int. Dairy Journal* (2012), 13-21
- MONNET C., LANDAUD S., BONNARME P., SWENNEND., 2015. Growth and adaptation of microorganisms on the cheese. *FEMS Microbiol. Lett.* 362 (2015), 1-9, doi : 10.1093/Fems/Fnu025
- MONTEL M.C., BOUTON Y., PARGUEL P., 2012. Ecosystèmes des laits et des fromages au lait cru enjeux pour leur maîtrise. *Renc. Rech. Ruminants*, 2012, 19. INRA 545 F-15000 Aurillac
- QUIGLEY L., O'SULLIVAN O., BERESFORD T.P., ROSS R., FITZGERALD G.F., COTTER P.D., 2011. Molecular approaches to analysis the microbial composition of raw milk and raw milk cheese, *International journal of food and microbiology*, 150 (2-3), (2011), 81-94
- RAATS D., OFFEK M., MINZ D., HALPERN M., 2011. Molecular analysis of bacterial communities in raw cow milk and the impact of refrigeration on its structure and dynamics. *Food Microbiology* 28(3), 465-471.
- VERDIER-METZ I., MICHEL V., DELBES C., MONTEL M.C., 2009. Do milking practices influence the bacterial diversity of raw milk? *Food Microbiology* 26(3), 305-310.

CO11. Identification Microbiologique et Moléculaire (PCR-Delta et PCR-ITS-RFLP) des levures de cépage Cinsault cultivé dans la région Abdelmalek Ramdan (Wilaya de Mostaganem)

Nadia Berber¹, Rachid Aissaoui², Ahmed Mohamed Ali Bekada¹, Morvan Coarer³

1-Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

2-Laboratoire de bioconversion. Université de Mustapha STAMBOLI de Mascara.

3-Laboratoire de Microbiologie et Biotechnologie. Institut français de la Vigne et du Vin de Nantes (France).

Résumé :

Le raisin est un fruit exemplaire de la diversité microbienne, il est considéré comme l'habitat de multiples microorganismes sauvages (levures). Dans ce cadre, nous avons exploré dans la présente étude, la divergence de la flore levurienne indigène dans les vignobles de la région Abdelmalek Ramdan (Wilaya de Mostaganem, Algérie) en collectant des échantillons de raisin de cépage (Cinsault). Une grande diversité moléculaire de cette flore a été mise en évidence, à l'aide de deux techniques moléculaires (PCR-Delta et PCR-ITS-RFLP). Alors 4

espèces de levures sur les 11 étudiées appartenant à 4 genres différents ont été caractérisées selon leurs profils moléculaires. Ainsi les souches étudiées ont été caractérisées avec deux enzymes de restriction (Hinf I et HaeIII). Parmi les espèces de levures identifiées : *Pichia fermentans*, *Torulaspora delbrueckii*, *Zygosaccharomyces microellipsoide* et *Saccharomyces cerevisiae*. D'après les résultats obtenus, la variété Cinsault présente un excellent réservoir de levures *Non saccharomyces*.

Mots clés : Raisin, Levures, Cinsault, PCR-Delta, PCR-ITS-RFLP, Hinf I et HaeIII.

Introduction

Les levures font partie des communautés microbiennes naturelles associées aux raisins frais et sont les micro-organismes les plus importants dans la production de vin (**Fleet., 2008**). La communauté de levures sur les raisins est influencée par les facteurs biotiques et abiotiques, notamment les conditions climatiques (température et pluies), la localisation géographique et les facteurs du vignoble (âge, taille, cépage et année de vendange). Les interactions microbiennes et les activités enzymatiques (**Barata et al., 2012**).

Cinsault est un vieux raisin noir à jus blanc, ses grappes sont grandes, composées de gros fruits à chair très juteuse. C'est un cépage tardif qui a besoin de lumière, du soleil et montre une résistance à la sécheresse, assez productif, mais fragile face aux maladies. Cependant, la teneur élevée en sucre du mout de raisin Cinsault favorise la croissance des levures, ces micro-organismes occupent une place importante dans l'industrie alimentaire. Ils participent à l'élaboration de nombreux produits alimentaires (panification, fromagerie, brasserie) et dans la production de métabolites (lipides, protéines, enzymes). Le but de cette étude est d'isoler, de caractériser et d'identifier les espèces indigènes de levures trouvées dans le cépage Cinsault cultivé dans la région d'Abdelmalek Ramdane (Mostaganem, Algérie) afin de développer et d'exprimer la diversité du patrimoine phylogénétique basé sur les deux techniques moléculaires (PCR-Delta et PCR-RFLP-ITS). Notre travail est une initiative pour la création d'un "Soucier" de levures typique à l'Algérie.

Matériels et méthodes

1-Source de prélèvement de raisin (Cinsault)

Les échantillons sont prélevés de façon aléatoire au mois de Septembre 2014 dans les vignobles de la ville Abdelmalek Ramdan (Wilaya de Mostaganem). Nous avons prélevé avec des ciseaux stériles, environ 500 g de grappes de raisin sains, que nous avons recueillis dans

des sachets stériles. A l'arrivée du laboratoire, elles sont éraflées et écrasées pour obtenir un moût et laisser fermenter pendant une journée à 25°C afin d'augmenter la viabilité et la quantité des levures recherchées (**Renouf, 2006**).

2-Isolement, Purification et conservation des cultures

Nous avons effectué une série d'ensemencement par la méthode des stries sur des boites de cultures gélosés (YPG+Gentamicine) dont le but d'avoir des cultures pures. L'opération est renouvelée en prenant à chaque fois au hasard une colonie isolée. Ensuite, Les isolats purifiés sont placées dans une solution de glycérol (stérile) à environ 25 % puis stockées dans le congélateur à -18°C.

3-Identification microbiologique

3-1- Etude des caractères cultureux

Après l'incubation des cultures pendant 3 jours à 25-28°C sur milieu gélosé (YPG+Gentamicine), une observation macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies (taille, pigmentation, contour, viscosité ...) (**Larpen, 1991**).

3-2- Les caractéristiques cellulaires

L'observation microscopique permet de définir la forme, l'arrangement et le mode de division des cellules. Ces caractéristiques sont observées sur des préparations microscopiques à l'état frais (objectifs x 40) (**Pol, 1996**).

4-Identification moléculaire

4-1-Extraction d'ADN

Avant d'extraire l'ADN génomique des isolats, ces derniers sont mises en culture dans le milieu (YPG liquide +Gentamicine), ensuite une petite quantité de culture est prélevée et centrifugée afin de séparer les cellules. Le surnageant est ensuite éliminé et la lyse des cellules du culot résultant est effectuée par addition d'un volume de 660 µl du mélange 50TE-10% SDS (tampon de lyse). Ensuite le mélange est incubé à 65°C pendant 10 minutes. Afin de neutraliser le milieu, un volume de 340 µl d'acétate de potassium est ajouté au mélange, ce dernier est placé au réfrigérateur pendant 30 minutes jusqu'à ce que la suspension devienne semi-solide. Une deuxième centrifugation est réalisée pendant 10 minutes et un volume de 750 µl de surnageant est mélangé avec 750 µl d'isopropanol suivie d'une dernière centrifugation afin de précipiter l'ADN. Le culot d'ADN collecté est ensuite rincé délicatement avec environ 100µl de l'éthanol 95%, puis mis en suspension dans un volume de 300 µl de TE1X (tampon de conservation) et incubé à 65°C pendant 15 minutes. Enfin,

l'ADN est conservé au réfrigérateur à 4°C jusqu'au moment d'utilisation (Selon l'IFV de Nantes, 2012).

4-2-Amplification de la région cible par les deux techniques moléculaires (PCR-Delta et PCR-ITS-RFLP)

4-2-1-PCR-Delta (Delta 12/Delta 21)

Le typage des souches de *Saccharomyces cerevisiae* est réalisé par PCR selon la méthode développée par **Legras et Karst (2003)** avec les amorces : δ 12(5'-TCAACAATGGAATCCCAAC-3') δ 21(5'-CATCATTAACACCGTATATGA-3'). Le mélange réactionnel est résumé dans le tableau 1.

Tableau 1 : La composition du mélange réactionnel utilisé pour PCR-Delta (Selon l'IFV)

Produits	Volume en μ l pré mix MP	Volumes en μ l pré mix eurobio
H2O	1220	1230
Tampon 10X	160	160
dNTP	64	64
Amorce Delta 1 ou 12	8(40pmol réaction)	8
Amorces Delta 2 ou 21	8(40pmol réaction)	8
Mgcl2	80	80

4-2-2-PCR-ITS-RFLP (ITS1-ARNr 5.8S-ITS2)

La séquence ITS1-ARNr 5.8S-ITS2 présente une région conservée chez la majorité des espèces levuriennes et des régions variables. Les amorces : ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') et ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') décrites comme amorces universelles par **White et al. (1990)** ont été utilisées dans cette étude. Le mélange réactionnel est résumé dans le tableau 2. Ensuite, dans le but d'identifier les différentes espèces de levures, les produits de PCR-ITS sont traités par deux enzymes de restriction : HinfI et HaeIII (**Renouf, 2006**).

Tableau 2 : La composition du mélange réactionnel utilisé pour PCR-ITS-RFLP (Selon l'IFV)

Produits	Volume en μ l pré mix MP	Volumes en μ l pré mix eurobio
H2O	1220	1230
Tampon 10X	160	160
dNTP	64	64
Amorce ITS1	12,8 (40pmol réaction)	12,8

Amorces ITS4	12,8 (40pmol réaction)	12,8
Mgcl2	80	80
DMSO	31(2%)	31(2%)

La purification d'un fragment d'ADN (les produits de PCR-Delta+ PCR-ITS-RFLP) double brin est effectuée par électrophorèse sur gel d'agarose, le gel est mélangé avec le bromure d'éthidium et coulé à chaud dans la cuve d'électrophorèse. 20 µl contenus dans chaque microtube de PCR, mélangés à 5 µl de tampon de charge contenant de bleu de bromophénol, sont déposés sur les puits. Des fragments d'ADN de masse moléculaire connue appelés marqueurs sont également déposés : ils permettent de corréliser la distance de migration des fragments d'ADN à leur taille (en paires de bases). Dans cette étude, le nombre et la longueur des fragments ont été comparé au marqueur de taille (100 pb) (Guide de l'IFV).

Un voltage de 120V/30 minutes est ensuite appliqué jusqu'à la migration des fragments (**Chantal, 1996**). Les différentes bandes nucléotidiques résultant de l'électrophorèse sont visibles sur le gel sous éclairage UV (254 nm) et photographiées avec une caméra à UV.

Résultats et discussions

Un isolement et une purification par repiquages successifs réalisés suite au prélèvement des levures au mois de **Septembre 2014** à partir du cépage **Cinsault** cultivé dans la région Abdelmalek Ramdan (Wilaya de Mostaganem) ont permis d'obtenir une collection de 11 isolats de levures.

1- Etude culturelle des levures isolées

L'examen macroscopique des cultures « levuriennes », après incubation à 25°C pendant 4-5 jours montre des colonies généralement bien isolées qui sont de couleur blanchâtre, crème ou parfois jaunâtre à contour irrégulier et opaque, elles ont une odeur intense. L'observation microscopique a permis d'authentifier la forme cellulaire des isolats et leurs modes de reproduction végétatives. Parmi les 11 isolats, 10 sont sphériques ou cylindriques, de forme allongée ou courte et représentent le bourgeonnement comme mode de reproduction végétative. L'isolat restant est caractérisé par une forme ovale et possède un bourgeonnement monopolaire, il a une odeur de la levure de bière. L'uniformité des cellules confirme la purification des isolats étudiés.

Selon (**Larpent, 1991**), les levures se présentent sous forme de cellule unique libres indépendantes ou associées deux à deux ayant une morphologie caractéristique, à savoir : sphérique, ovoïde, cylindrique, apiculé, en bouteille ou pyramidale.

2- Etude moléculaire des levures isolées

2-1- PCR-Delta

Cette technique permet de distinguer entre les espèces *Saccharomyces* et les *Non Saccharomyces* de nos résultats, la Figure 1 montre que les 10 premiers isolats sont des espèces *Non Saccharomyces*, puisque aucun profil d'amplification n'est observé sur leurs colonnes, ils appartiennent donc à d'autres espèces ou ils seront identifiés par la PCR-ITS-RFLP. En ce qui concerne le dernier isolat (isolat 11), on remarque l'apparition de trois bandes sur la colonne à différentes taille moléculaire (300+350+800 pb), cela peut prédire que cet isolat appartient aux espèces des *Saccharomyces*. L'étude de l'écologie des levures *Non Saccharomyces* connaît un essor important depuis ces derniers années, on se focalise non seulement sur la répartition des espèces rencontrées sur le raisin mais également sur leur succession durant la fermentation alcoolique (Barata et al, 2012 ; Ciani et al, 1998 ; Mora & Mulet, 1991 ; Renouf, 2006 ; Setati et al., 2012). Un grand nombre des levures *Non Saccharomyces* peut coloniser la surface des baies de raisin. Mortimer & Polsini (1999) n'estiment qu'une baie de raisin sur 1000 est porteuse des *Saccharomyces cerevisiae*. Cependant, ces mêmes auteurs ont trouvé que les grappes endommagées (naturellement dans le vignoble) portent des populations importantes avec 1 baie sur 4 porteuses de *Saccharomyces cerevisiae*. Dans notre étude, les majeures espèces de levures ont été représentées par des levures *Non Saccharomyces* (10 isolats) alors que seulement un seul isolat a été identifié comme espèce *Saccharomyces* (isolat 11).

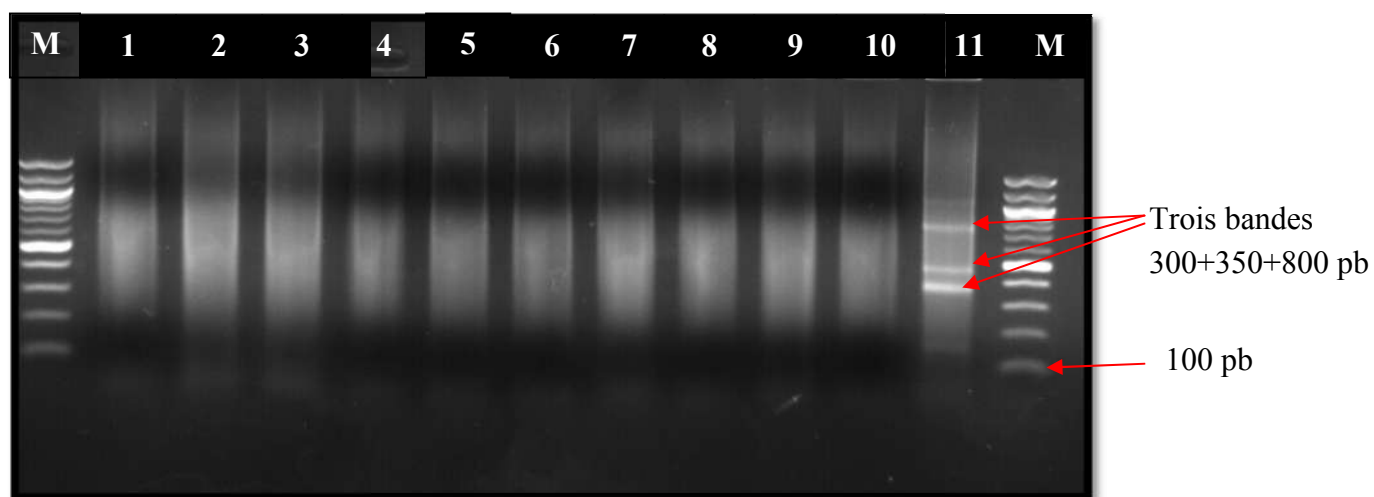


Figure 01 : Profils PCR-Delta des 11 isolats.

2-2- PCR-ITS-RFLP

Un total de 11 isolats de levures isolés à partir du moût de cépage Cinsault ont été analysés. Afin d'identifier ces levures, la région de l'ARNr de l'unité de répétition comprend deux régions non codantes désignées comme interne espaceurs transcrits (ITS1 et ITS2) et le gène ARNr 5,8S ont été amplifiés et digérés par deux enzymes de restriction (Hinf I et HaeIII). Les profils obtenus par chaque isolat ont été comparé avec les souches de référence présentes dans

le guide de détermination de l'IFV (2012). Les résultats de cette étude sont résumés dans le tableau 3. La taille des produits de la PCR et les fragments de restriction des principales espèces identifiées dans cette étude sont présentés dans Tableau 4 et les figures 3 et 4.

Les espèces de levures isolées à partir du raisin Cinsault

11 isolats de levures ont été identifiés comme appartenant à 4 genres et 4 espèces différents: *Torulaspora* (05 souches), *Pichia* (04 souches), *Zygosaccharomyces* (01 souche), *Saccharomyces* (01 souche) (Tableau 3). Ces différents genres de levures sont bien documentés dans la littérature comme présents sur raisin et en début de fermentation alcoolique (Zott et al. 2008 ; Barata et al., 2012).

Tableau 3 : Fréquences des espèces de levures isolées à partir du cépage 'Cinsault'

Source d'isolement	Espèces	Fréquences d'isolement (Nombre de souches)
Cépage 'Cinsault'	<i>Pichia fermentans</i>	04
	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	05
	<i>Zygosaccharomyces microellipsoide</i>	01
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	01

Tableau 4 : Taille en paires de bases des produits de PCR et des fragments de restriction obtenus avec deux endonucléases différentes (Hinf I et HaeIII)

Espèces	ITS total (pb)	Fragments de restriction (pb)	
		Hinf I	HaeIII
<i>Pichia fermentans</i> (Souche 1,2,3,4)	450	250+200	340+90
<i>Torulaspora delbrueckii</i> (Souche 5,6,7,8,9)	800	410+380	800
<i>Zygosaccharomyces microellipsoide</i> (Souche 10)	825	420+400	800
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Souche 11)	850	370+360+110	320+230+170+120

L'examen des résultats obtenus indique que 4 souches de levures sélectionnées (souche 1, 2, 3, 4,10) appartiennent au genre *Pichia* (tableau 4), selon le guide de détermination de l'IFV (2012), tandis que le profil moléculaire de 5 souches de levures (souche 5, 6, 7,8,9) indique qu'ils ressemblent à l'espèce *Torulaspora delbrueckii* selon le guide de détermination de l'IFV (2012). Cependant, la caractérisation moléculaire et les caractéristiques micro-macroscopiques

montrent que la souche 10 appartient à l'espèce *Zygosaccharomyces microellipsoide*. Par ailleurs, la combinaison des deux résultats (études morphologiques et moléculaires) indique que la souche (11) appartient à l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*.

Les baies de raisin sont la source primaire de levures lors de la fermentation du moût (**Fleet et al. 1998**). Dans différentes régions viticoles au monde, les travaux d'isolement et d'identifications des levures ont montré que les genres *Pichia*, *Candida*, *Metschnikowia*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Torulaspora*, *Schizosaccharomyces* et *Sporidiobolus* sont les plus fréquemment retrouvées (**Sabate et al. 2002; Fleet et al. 1998; Prakitchaiwattana et al. 2004; Raspot et al. 2006; Nisiotou & Nychas 2007**).

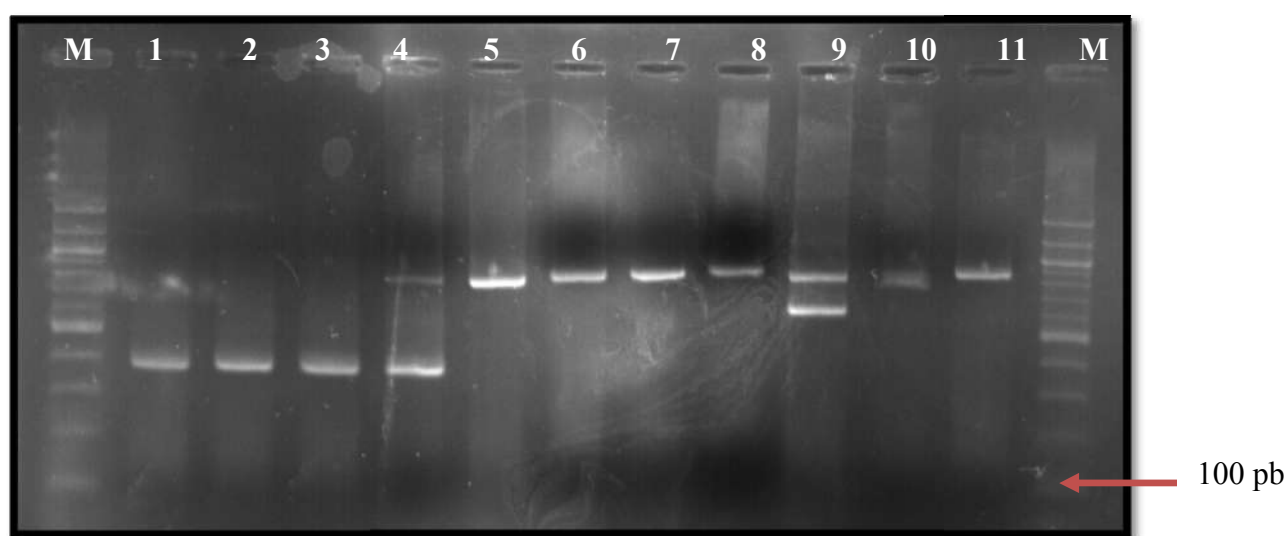


Figure 02: Visualisation de la région (ITSI-ADNr5, 8S-ITSII) amplifiée chez les 11 isolats.

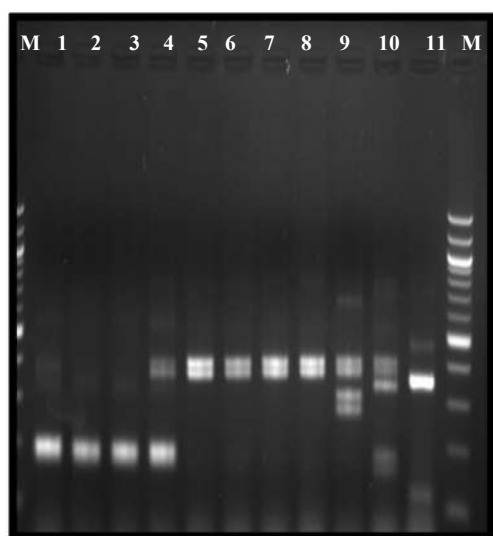


Figure 03: Visualisation de la région (ITSI-ADNr5, 8S-ITSII) digérée par la *Hinf I* chez les 11 isolats

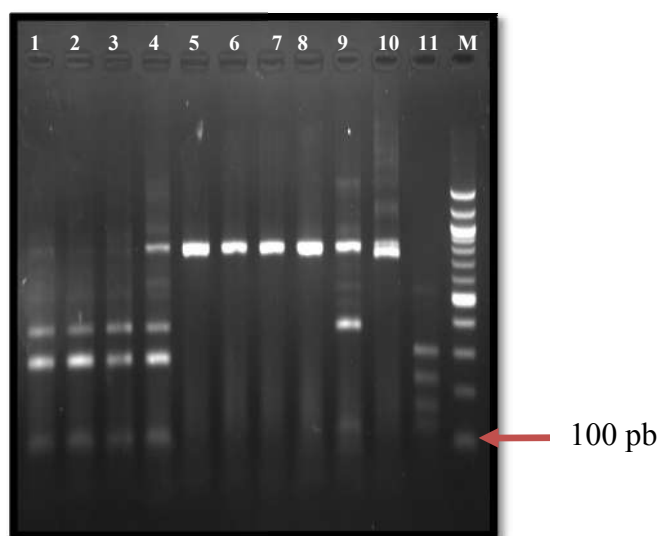


Figure 04: Visualisation de la région (ITSI-ADNr5, 8S-ITSII) digérée par la *HaeIII* chez les 11 isolats

Les espèces appartenant aux genres *Pichia*, *Candida*, *Torulaspora* et *Zygosaccharomyces* isolées ont également été fréquemment isolées dans d'autres études de fermentation de raisin pour la production de vin (Esteve-Zarzoso et al, 2000, ; Clemente-Jimenez et al., 2007, Urso et al., 2008, Settanni et al., 2012, Ortiz et al., 2013, Wang et Liu, 2013). Dans notre étude, le moût de raisin (Cinsault) est un excellent réservoir de levures *non-Saccharomyces* comme en témoignent les résultats obtenus, les espèces de levures majeures ont été représentées par la levure *Non Saccharomyces T. delbrueckii*, *P. fermentans* et *Zygosaccharomyces. microellipsoide* tandis qu'un seul isolat a été identifié comme *Saccharomyces* (souche 11). Au cours d'une fermentation spontanée avec la flore indigène, les levures *non-Saccharomyces* prédominent dans le moût pendant la pré-fermentation et au début de la fermentation alcoolique avant que la levure *S. cerevisiae* colonise le milieu pour compléter la fermentation (Zott et al, 2008; Fleet, 2008, Renouf, 2006).

Conclusion

Cette étude est basée sur l'évaluation d'un cépage de raisin cultivé en Algérie (Cinsault). Une approche génétique a été développée dans ce travail et a permis de réaliser une identification de 11 isolats appartenant à 4 genres et 4 espèces différents : *Torulaspora*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces* et *Saccharomyces*. Cette variété constitue un excellent réservoir de levures *Non Saccharomyces* comme en témoignent les résultats obtenus. En terme de notre étude, nous encourageons énergiquement les investigations visant à caractériser biotechnologiquement ces souches identifiées, est à encourager toutes les études s'intéressant à l'identification et la caractérisation d'autres variétés de raisin dans toutes les régions d'Algérie.

Références

1. Barata, A. et al., 2012. The microbial ecology of wine grape berries. *International Journal of Food Microbiology*, 153(3): 243-259.
2. Chantal, G., 1996. Caractérisation génétique des régions ITS des *phytophthora* spp qui causent le pourridié des racines du framboisier au québec.
3. Ciani, Maurizio, et Maccarelli, Francesco, 1998. Oenological properties of non-*Saccharomyces* yeasts associated with wine-making. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14: 199-203.
4. Clemente-Jimenez JM, Mingorance-Cazorla L, Martínez-Rodríguez S, Las Heras Vázquez FJ, Rodríguez-Vico F., 2004. Molecular characterization and oenological properties of wine yeasts isolated during spontaneous fermentation of six varieties of grape must. *Food Microbiol.* 2004;21:149–155.

5. Esteve-Zarzoso B, Gostíncar A, Bobet R, Uruburu F, Querol A.,2008. Selection and molecular characterization of wine yeasts isolated from the 'El Penedès' area (Spain) Food Microbiol. 2000;17:553–562.
6. Fleet, G.H., et G.M. Heard, 1998. Yeasts-growth during fermentation. In: Fleet, G.H. (Ed.), Wine Microbiology and Biotechnology. Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland.,pp: 27-57.
7. Fleet, G.H., 2008. Wine yeasts for the future. FEMS Yeast Research, 8: 979-995.
8. Larpent, J.P., 1991. Biotechnologie des levures. Ed. Masson. Paris, p: 426.
9. Legras, J-L.,F. Karst, 2003. Optimisation of interdelta analysis for *Saccharomyces cerevisiae* strain characterisation. FEMS Microbiology Letters, 221: 249-255.
10. Mora, J. andA. Mulet, 1991. Effects of Some Treatments of Grape Juice on the Population and Growth of Yeast Species During Fermentation. American Journal of Enology and Viticulture, 42(2): 133-136.
11. Mortimer, R. andM. Polsinelli, 1999. On the origins of wine yeast. Research in Microbiology, 150(3): 199-204.
12. Nisiotou, A. andG.-J.E. Nychas, 2007. Yeast Populations Residing on Healthy or Botrytis-Infected Grapes from a Vineyard in Attica, Greece Applied and Environmental Microbiology, 73(8): 2765-2768.
13. Ortiz MJ, Barrajón N, Baffi MA, Villena MA, Briones A., 2013. Spontaneous must fermentation: Identification and biotechnological properties. LWT - Food Sci Technol. 2013;50:372–377.
14. Pol., D., 1996. Travaux pratiques de biologie des levures. Edition marketing, 158: 21-56.
15. Prakitchaiwattana, C.J., 2004. Application and evaluation of denaturing gradient gel electrophoresis to analyse the yeast ecology of wine grapes. FEMS Yeast Research, 4(8): 865-877.
16. Raspor, P., 2006. Yeasts isolated from three varieties of grapes cultivated in different locations of the Dolenjska vine-growing region, Slovenia. International Journal of Food Microbiology, 109(1-2): 97-102.
17. Renouf, V., 2006. Description et caractérisation de la diversité microbienne durant l'élaboration du vin : Interactions et équilibres – Relation avec la qualité du Vin. Thèse de doctorat, Faculté d'oenologie, Université Bordeaux 2.
18. Sabate, J., 2002. Isolation and identification of yeasts associated with vineyard and winery by RFLP analysis of ribosomal genes and mitochondrial DNA. Microbiological Research, 157(4): 267-274.
19. Setati, M.E., 2012.The vineyard yeast microbiome, a mixed model microbial map. PloS One, 7(12): e52609.
20. Settanni L, Sannino C, Francesca N, Guarcello R, Moschetti G., 2012. Yeast ecology of vineyards within Marsala wine area (western Sicily) in two consecutive vintages and selection of autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains. J Biosci Bioeng. 2012;114:606–614.
21. Urso R, Rantsiou K, Dolci P, Rolle L, Comi G, Coccolin L., 2008. Yeast biodiversity and dynamics during sweet wine production as determined by molecular methods. FEMS Yeast Res. 2008;8:1053–1062.

22. Wang C, Liu Y., 2013. Dynamic study of yeast species and *Saccharomyces cerevisiae* strains during the spontaneous fermentations of Muscat blanc in Jingyang, China. Food Microbiol. 2013;33:172–177.
23. White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor, 1990. Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes tiré de PCR Protocols: A guide to Methods and Applications. M. A. Innis, D. H.
24. Zott, K., C. Miot-Sertier, O. Claisse, A. Lonvaud-Funel and I. Masneuf-Pomarede, 2008. Dynamics and diversity of non-*Saccharomyces* yeasts during the early stages in winemaking. International Journal of Food Microbiology, 125: 197-203.

CO12. Effet des Acides Linoléiques Conjugués produits par des Bactéries Probiotiques sur le Stress Oxydatif

YAHLA I^{1,2}., ZIAR H¹., BOUFADI Y¹., RIAZI A¹.

¹Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS), Université Abd El Hamid Ibn Badis, Mostaganem 27000, Algérie

²Laboratoire de Biotoxicologie, université Djilali Liabes, Sidi Bel Abbes 22000, Algérie

Mail : imeneyahla@yahoo.fr

Tel : 0777 28 99 38

Resumé :

La présente étude consiste à mettre en évidence l'effet *in vivo* des isomères conjugués de l'acide linoléique (CLA) produits par deux souches probiotiques *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS et *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis*, sur quelques paramètres du stress oxydatif. Des rats Wistar âgés de 5 semaines ont été répartis en 4 lots (n=7) dont 3 soumis à un régime hyper gras (RHG) et parmi lesquels, 2 lots recevaient quotidiennement 1x10⁹ UFC des souches bactériennes séparément et 1.4% d'acide linoléique, et un lot témoin recevant une solution de PBS stérile. Tandis que le 4^{ème} lot a été soumis à un régime standard (RS). Après 8 semaines d'expérimentation, les rats ont été anesthésiés et sacrifiés, le sang a été récupéré pour le dosage des paramètres biochimiques (CT, TG, HDL, LDL, glycémie, protéines totales, albumine), du stress oxydatif (malonaldéhyde MDA, superoxyde dismutase SOD, catalase CAT et les prostaglandines PGE₂). Les résultats obtenus montrent que les rats des lots soumis au régime RHG et traités par les souches bactériennes et l'acide linoléique ne montrent aucun changement notable dans les paramètres biochimiques mesurés par rapport au lot témoin. En revanche, les CLA produits par les deux souches ont réduit significativement (p<0.05) le niveau des indices de l'activité radicalaire (MDA, SOD et catalase) et inflammatoire (prostaglandines PGE₂) par rapport aux témoins qui ont affiché des valeurs

plus élevées. Ces résultats laissent penser que les CLA produits par les souches LBRE-LSAS et Bb12 ont un effet modulateur sur le métabolisme lipidique et glucidique ; tout comme ils exercent un effet anti-inflammatoire.

Mots clés : souches probiotiques, régime hyper gras, profil lipidique, glycémie, stress oxydatif.

Introduction

Le lien entre santé et alimentation est plus que jamais d'actualité. En effet, les recherches récentes confirment le rôle déterminant de l'alimentation dans la prévention des maladies telle que l'obésité qui représente un sérieux problème de santé publique, associée à des anomalies métaboliques résultant d'une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) susceptibles d'attaquer les cibles cellulaires, favorisant des dommages oxydatifs au niveau des lipides, des protéines, des acides nucléiques, et pouvant notamment conduire à un dysfonctionnement endothélial et à des processus inflammatoires (Mellouk *et al.*, 2016).

Le stress oxydatif est un terme général qui représente les dommages cellulaires provoqués par un déséquilibre entre les pro-oxydants tels que les antioxydants ROS et/ou les espèces réactives d'azote (RNS). Des agents ROS sont générés au cours du métabolisme cellulaire oxydant lorsque la réduction chimique d'oxygène forme des radicaux libres instables, caractérisés par un électron non apparié (Huang *et al.*, 2015).

L'objectif de la présente étude consiste à explorer l'effet des CLA (Conjugated Linoleic Acids) issus de la conversion de l'acide linoléique par deux souches bactériennes Probiotiques *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS et *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 *in vivo* sur quelques paramètres du stress oxydatif et d'inflammation sur des rats Wistar soumis à un régime hyper gras.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériels

- **Souches bactériennes testées**

Deux souches de bactéries lactiques ont été utilisées dans cette expérimentation, la souche *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS et la souche probiotique de référence *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12. Les souches ont été réactivées quotidiennement au cours de la période expérimentale.

- **Modèle animale étudié**

L'étude expérimentale a été réalisée sur des rats Wistar mâle de 5 à 6 semaines, fournis de l'institut Pasteur d'Alger, Algérie.

- **Régimes alimentaires**

Deux régimes ont été soumis pendant cette expérimentation :

- Un régime hyper gras (RHG) avec une valeur énergétique de 4791,6 Kcal /kg afin de provoquer une obésité chez les rats.
- Un régime standard (RS) d'une valeur énergétique de 3550.3 Kcal /kg, les deux régimes ont été préparés quotidiennement au cours de la période expérimentale au niveau du laboratoire.

2.2. Méthodes

2.2.1. Protocole expérimental

Les animaux ont été installés dans des cages maintenues dans les conditions favorables d'élevage avec un cycle circadien (lumière/obscurité) de 12 h, une température constante à 25C° et un taux d'humidité de 55±10%. Chaque cage est munie d'une pipette d'eau et d'une mangeoire. L'accès à la nourriture et à l'eau était *ad libitum*. L'éthique générale d'utilisation des animaux de laboratoire a été respectée (ECRA/AIBUM). Après deux semaine d'adaptation afin de stabiliser les conditions métaboliques, les rats ont été répartis en 4 lots ; 3 lots soumis au régime RHG, dont deux recevaient 1X10⁹ de souches LBRE-LSAS ou Bb12 séparément additionnée de 1.4% d'acide linoléique par administration orale pendant 8 semaines, et un témoins qui recevaient une solution de PBS stérile. Tandis que le 4ème lot recevait un régime standard (RS).

2.2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement du sang

Après 8 semaines d'expérimentation, les rats ont été anesthésiés par du chloroforme puis sacrifiés après 12 h de jeune. Les péritoines ont été récupérés, rincés à l'eau physiologique, puis conservés pour la détermination des prostaglandines PGE₂. Le sang a été prélevé par ponction dans l'aorte abdominale. Une quantité du sang prélevé est récupérée dans des tubes à EDTA et l'autre partie est recueillie dans des tubes secs. Les échantillons prélevés sur tubes EDTA sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 min. Le plasma est prélevé pour le dosage des paramètres du stress oxydatif.

2.2.3. Dosage du malondialdehyde (MDA)

Le malondialdehyde (MDA) est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique. Ce dosage a été réalisé selon la méthode de Draper et Haldey (1990).

2.2.4. Dosage de l'activité du superoxydedismutase (SOD) (kit SIGMA)

Afin de déterminer l'activité SOD, plusieurs méthodes directes et indirectes ont été développées. Parmi ces méthodes, une méthode indirecte utilisant nitrobluetétrazolium (NBT) est couramment utilisée en raison de sa commodité et sa facilité d'utilisation.

2.2.5. Détermination de l'activité de la catalase (CAT)

Cette activité enzymatique a été mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (Aebi, 1974).

2.2.6. Dosage des prostaglandines PGE₂

La prostaglandine E₂ a été mesurée par méthode Elisa (Kit Elisa Cusabio).

2.2.7. Dosage des protéines totales

Les protéines totales ont été dosées par la méthode colorimétrique de Biuret (Kit Spireact)

2.2.8. Dosage de l'albumine

L'albumine a été dosée par la méthode colorimétrique (Kit Spinreact).

2.2.9. Analyse statistique des résultats

Chaque expérience a été indépendamment répétée trois fois dans un dispositif en randomisation totale et les résultats obtenus ont été soumis à l'analyse de variance (ANOVA) en utilisant le logiciel STATBOX pro (Version 6.40, pro). La comparaison de moyennes a été réalisée par le test de Student-Newman-Keuls au seuil de 5% pour comparaison multiple. A $P < 0.05$, la différence est considérée significative

3. Résultats et discussion

3.1. Effet des CLA sur la peroxydation lipidique : taux du MDA

Les résultats relatifs aux taux du malondialdéhyde plasmatique sont illustrés dans la figure 01. Les valeurs obtenues montrent que le taux de MDA est significativement plus élevé ($p < 0.05$) chez les rats obèses consommant un RHG par rapport aux rats soumis au même régime et traités avec les souches bactériennes et l'acide linoléique. Ces derniers ayant un effet sur la réduction du taux du MDA même par rapport au lot recevant un régime standard. Cet effet a été plus prononcé par la souche LBRE-LSAS par rapport à la souche Bb12.

En ce qui concerne les effets des CLA sur la peroxydation lipidique, nous avons constaté une réduction significative de l'indice de peroxyde plasmique, ce qui suggère que la CLA produits par nos souches bactériennes pourraient agir en tant qu'agents antioxydants, ce qui est en accord avec plusieurs études sur les CLA (Eftekhari *et al.*, 2013).

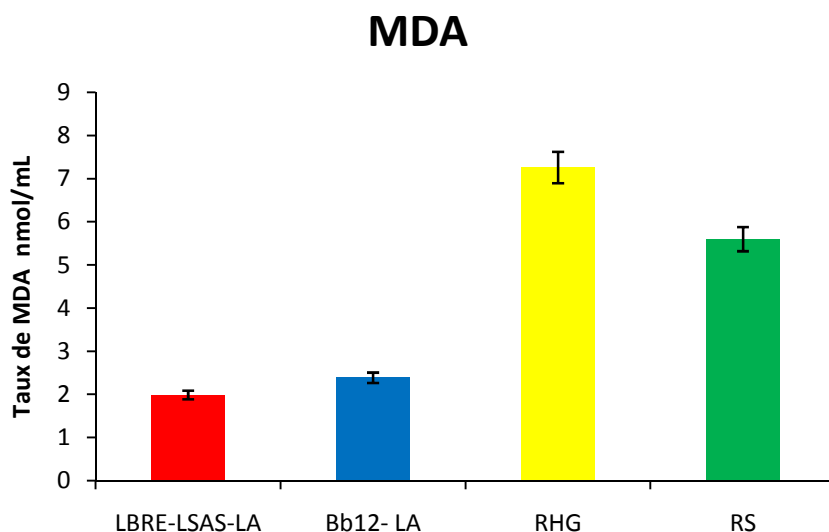


Figure 01 : Taux du malonaldéhyde plasmatique (MDA) (nmol/mL) chez les différents lots.

LBRE-LSAS-LA: Lot traité par la souche *L. rhamnosus* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **Bb12-LA** : Lot traité par la souche *B. animalis* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **RHG** : Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime hyper gras ; **RS** : Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime standard.

Les valeurs représentent les moyennes de trois expériences indépendantes $\pm$ SD ($n = 3$).

3.2. Activité des enzymes antioxydantes : SOD et CAT

Les résultats relatifs à l'activité des enzymes antioxydantes sont représentés dans la figure 2 pour l'activité de la superoxydedismutase SOD et la figure 03 pour l'activité de la catalase CAT.

Nos résultats affichent que les lots traités par les souches Probiotiques et l'acide linoléique montrent des taux d'activité de SOD et de CAT significativement plus élevés que ceux marqués par les témoins ($p < 0.05$). Cette augmentation d'activité de la SOD était de l'ordre de 87,8% et 79,10% pour les CLA produits par les souches LBRE-LSAS et Bb12 respectivement. Concernant l'activité de la CAT, l'augmentation était de l'ordre de 75,7% et 53,7% pour les CLA produits par les souches LBRE-LSAS et Bb12 respectivement.

Les résultats obtenus sont en accord avec l'étude de Chinnadurai et coll (2013), ces derniers ont montré que les CLA alimentaires présents dans le beurre clarifié d'une période de 21 à 51 jours augmentent significativement l'activité de la superoxydedismutase et de la catalase, cette augmentation était de l'ordre de 33% et 20% respectivement chez les rats Wistar.

3.3. Effet des CLA produits sur les prostaglandines E₂

Les résultats relatifs à la teneur plasmatique en prostaglandine E₂ sont illustrés dans la figure 04. Nos résultats montrent que les taux de PGE₂ ont été significativement réduits ($p < 0.05$) chez les lots traités par les souches bactériennes et l'acide linoléique par rapport au lot témoin. Cette réduction était de l'ordre de 59.12% pour le lot traité par LBRE-LSAS-LA et de 58.8% pour le lot traité par Bb12-LA. Cette réduction est due à l'effet des CLA produits par les deux souches Probiotiques par la bioconversion de l'acide linoléique *in vivo*.

Les effets bénéfiques des CLA alimentaire sur l'immunité et les réponses inflammatoires ont été rapportés chez un certain nombre de modèles animaux (Bassaganya-Riera et al., 2012)

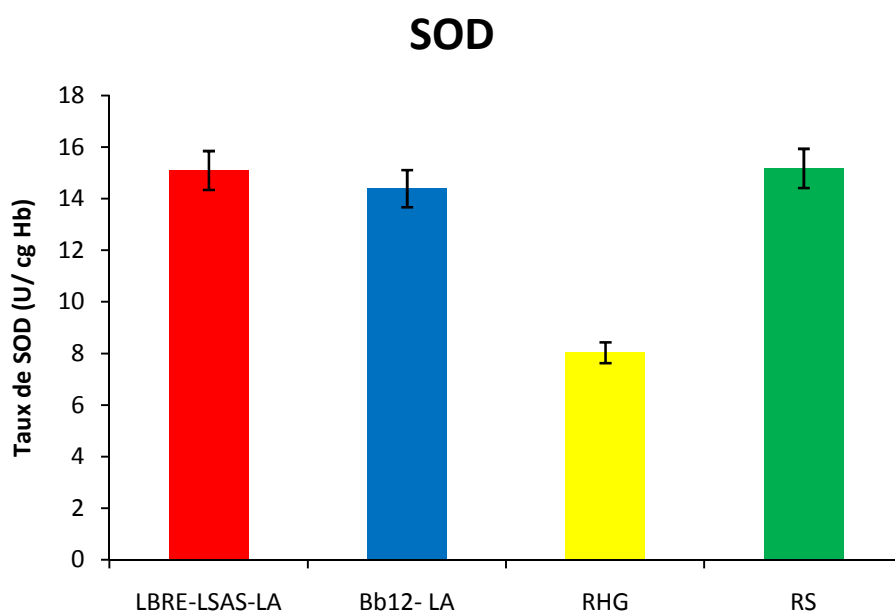


Figure 02: Taux d'activité de lasuperoxydedismutase (SOD) (U/ cg Hb) chez les différents lots. **LBRE-LSAS-LA:** Lot traité par la souche *L. rhamnosus* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **Bb12-LA :** Lot traité par la souche *B. animalis* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **RHG :** Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime hyper gras ; **RS :** Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime standard.

Les valeurs représentent les moyennes de trois expériences indépendantes $\pm$ SD ($n = 3$).

3.4. Effet des CLA produits sur les taux d'albumine et des protéines totales

Les résultats relatifs aux taux plasmatiques d'albumine et de protéines totales sont représentés dans les figures 05 et 06.

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative au niveau des protéines totales entre les lots, cependant, le taux d'albumine chez le lot témoin est significativement inférieur aux taux affichés par les lots traités avec les souches bactériennes et l'acide linoléique.

Ce résultat présente une similitude avec l'étude de Babaei et al. (2015) qui montre que le taux d'albumine s'avère moins élevé chez les sujets obèses. Cette étude a rapporté que le taux d'albumine plasmatique était inversement lié au taux de la leptine.

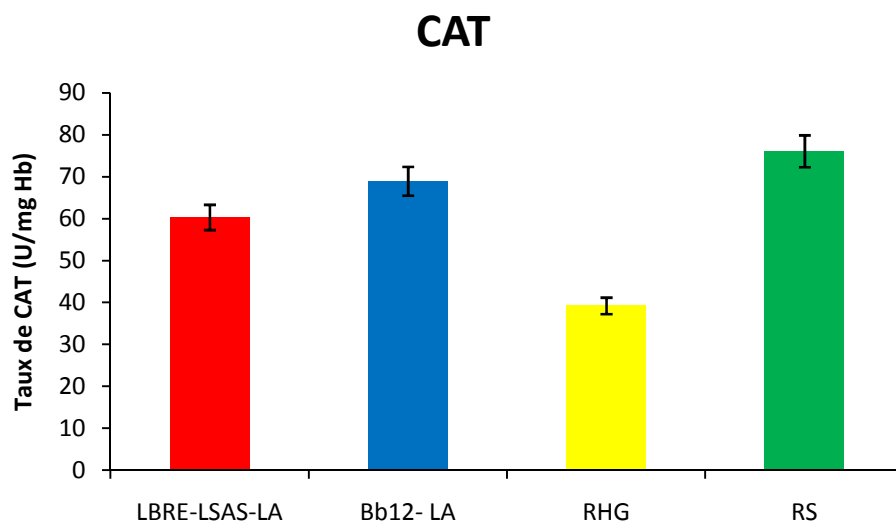


Figure 03 : Taux d'activité de la catalase (CAT) (U/mg Hb) chez les différents lots. **LBRE-LSAS-LA:**

*Lot traité par la souche *L. rhamnosus* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **Bb12-LA** : Lot traité par la souche *B. animalis* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **RHG** : Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime hyper gras ; **RS** : Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime standard.*

Les valeurs représentent les moyennes de trois expériences indépendantes $\pm$ SD (n = 3).

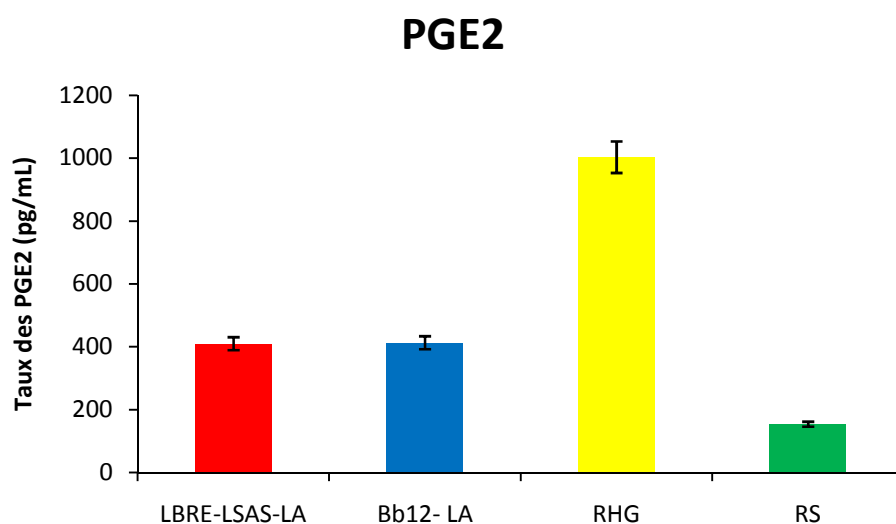


Figure 04 : Taux des prostaglandines E₂ (PGE₂) (pg/mL) chez les différents lots.

***LBRE-LSAS-LA:** Lot traité par la souche *L. rhamnosus* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **Bb12-LA** : Lot traité par la souche *B. animalis* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **RHG** : Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime hyper gras ; **RS** : Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime standard.*

Les valeurs représentent les moyennes de trois expériences indépendantes $\pm$ SD (n = 3).

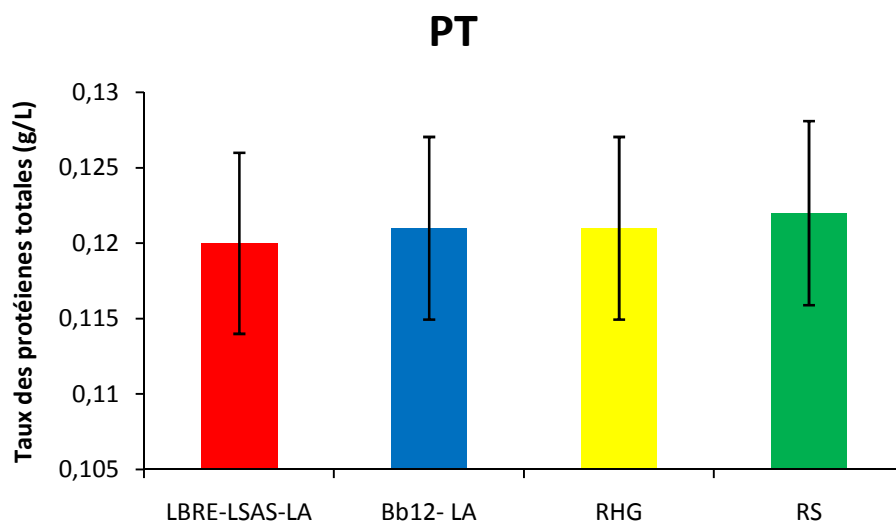


Figure 05 : Taux des protéines totales (g/L) chez les différents lots.

LBRE-LSAS-LA : Lot traité par la souche *L. rhamnosus* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **Bb12-LA :** Lot traité par la souche *B. animalis* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **RHG :** Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime hyper gras ; **RS :** Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime standard.

Les valeurs représentent les moyennes de trois expériences indépendantes $\pm$ SD ($n = 3$).

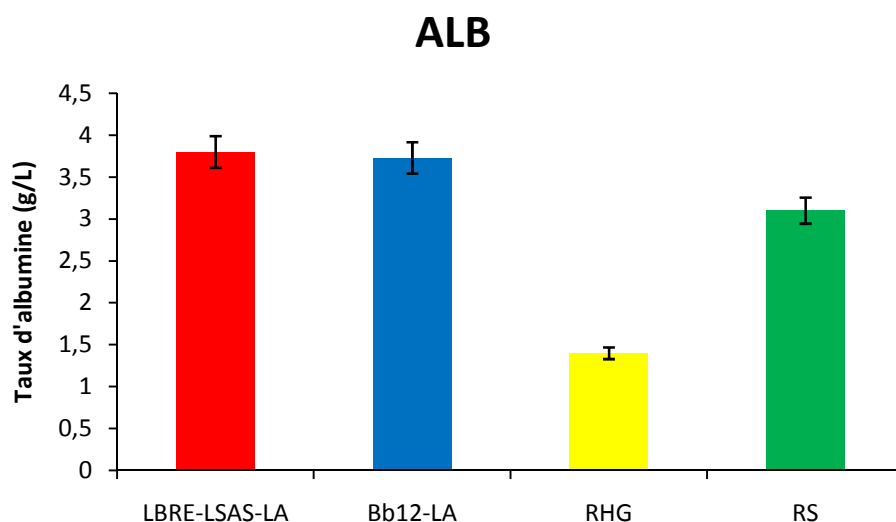


Figure 06 : Taux d'albumine (g/L) chez les différents lots.

LBRE-LSAS-LA : Lot traité par la souche *L. rhamnosus* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **Bb12-LA :** Lot traité par la souche *B. animalis* et l'acide linoléique, nourris d'un régime hyper gras ; **RHG :** Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime hyper gras ; **RS :** Lot témoin recevant une solution PBS stérile nourris d'un régime standard.

Les valeurs représentent les moyennes de trois expériences indépendantes $\pm$ SD ($n = 3$).

Conclusion

Cette étude a été établie dans le but d'explorer l'effet des CLA produits in vivo par deux souches probiotiques *L. rhamnosus* LBRE-LSAS et *B. animalis* subsp Lactis B12 sur

quelques paramètres de stress oxydatif et d'inflammation chez des rats Wistar soumis à un régime hyper gras.

Les résultats obtenus suggèrent que les CLA produits par les souches bactériennes testées ont un effet modulateur sur le métabolisme lipidique, tout comme ils exercent un effet antioxydant et anti-inflammatoire.

Références

- Aebi H. (1974). Catalase. In: Bergmeyer HV, editor. Methods in enzymatic analysis. Vol 2, New York: Academic press. 674-84.
- Babaei Z., Moslemi D., Parsian H., Khafri S., Pouramir M., Mosapour A. (2015). Relationship of obesity with serum concentrations of leptin, CRP and IL-6 in breast cancer survivors. J Egyptian Nat Cancer Inst. 27(4):223-9.
- Bassaganya-Riera, J., Viladomiu, M., Pedragosa, M., De Simone, C., Carbo, A., Shaykhutdinov, R., Jobin, C., Arthur, J.C., Corl, B.A. and Vogel, H. (2012) Probiotic bacteria produce conjugated linoleic acid locally in the gut that targets macrophage PPAR γ to suppress colitis. PLoS One 7, e31238.
- Chinnadurai K., Kanwal H.K., Tyagi A.K., Stanton C., Ross P. (2013). High conjugated linoleic acid enriched ghee (clarified butter) increases the antioxidant and antiatherogenic potency in female Wistar rats. Lipids in Health and Disease. 12:121
- Draper H.H., Hadley M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzymol. 186:421-31.
- Eftekhari M.H., Aliasghari F., Babaei-Beigi M.A., Hasanzadeh J. (2013). Effect of conjugated linoleic acid and omega-3 fatty acid supplementation on inflammatory and oxidative stress markers in atherosclerotic patients. ARYA Atheroscler. 9(6) : 311–318.
- Huang C.J., McAllister M.J., Slusher A.L., Webb H.E., Mock J.T., Acevedo E.O. (2015). Obesity-Related Oxidative Stress: the Impact of Physical Activity and Diet Manipulation. Sports Med Open. 1- 32.
- Mellouk Z., Agustina M., Ramirez M., Pena K., Arivalo J. (2016). Effets thérapeutiques de la supplémentation en huile de krill (*Euphausia superba*) sur les marqueurs du stress oxydant et des dommages de l'ADN chez des rats soumis au régime cafétéria. Ann Cardiol Angeiol. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ancard.2016.04.008>.

Session : Sciences de la mer

C013. Place de la Posidonie dans le régime alimentaire des holothuries aspidochiotes (Holothuroidea : Echinodermata) de la frange côtière de Mostaganem (Algérie)**Nor-eddine BELBACHIR^{1,2}, Dina Lila Soualili² & Karim Mezali²**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

^{1,2}Départements de Biologie & ²Département des Sciences de la mer et de l'Aquaculture, BP 300, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie.**Courriel:**belbachirnoredine@hotmail.fr**Résumé**

Une étude du régime alimentaire a été réalisée pour trois espèces d'holothuries aspidochiotes [*Holothuria (Roweothuria) poli*, *Holothuria (Holothuria) tubulosa* et *Holothuria (Platyperona) sanctori*] de l'herbier de Posidonies de la zone côtière de Mostaganem (Salamandre).

Les sources trophiques des holothuries étudiées sont très diversifiées ; la fraction végétale est essentiellement composée de feuilles de Posidonies, d'Algues macrophytes et de Diatomées ; la fraction animale est composée majoritairement de Foraminifères et d'Annélides. La contribution de chaque type d'aliment présente une différence entre les espèces et les saisons. En Printemps, la Posidonie n'est consommée que par *H. poli*. En Été, l'ensemble des espèces ont tendance à consommer la Posidonie (14%, 16%, 20% respectivement chez *H. poli*, *H. tubulosa* et *H. sanctori*), mais leurs préférences sont beaucoup plus pour les Diatomées ; seule *H. sanctori* préfère la Posidonie.

Mots clés : Holothuries aspidochiotes, Régimes alimentaire, Herbier de Posidonies, Mostaganem.

I- Introduction

L'écosystème à *Posidonia oceanica* est connu pour être très productif. Néanmoins, l'information à propos du sort de cette production reste limitée. Le transfert d'énergie entre ce producteur primaire et les consommateurs, se fait principalement par la consommation : (1) des feuilles vivantes de *P. oceanica*, (2) des algues épiphytes et (3) des débris foliaires (Buia et al., 2000). La litière semble être une importante source de matière organique pour les communautés de détritivores vivant dans les herbiers (Walker et al., 2001) ; il a même été suggéré que c'est la voie principale de transfert de la matière organique des posidonies (Cebrián et al., 1997). Ainsi, les feuilles mortes de posidonies rentrent dans le régime alimentaire d'un plus grand nombre d'espèces que les tissus vivants (Buia et al., 2000).

La consommation des feuilles mortes se réalise grâce à l'action des isopodes, des amphipodes, des décapodes et des échinodermes. Les Holothuries, organismes cible de ce travail, sont donc susceptibles de faire partie d'une des trois voies énergétiques du transfert de la matière organique de la posidonie. Dans cette optique, on a voulu avoir une idée sur la contribution de la posidonie dans le régime alimentaire de ces animaux benthiques, afin d'identifier l'espèce qui peut être la mieux placée en terme de transfert de la matière organique produite par cette phanérogame marine.

II- Matériels et méthodes

L'échantillonnage a été effectué au niveau du site de la Salamandre (Mostaganem) (Fig. 1), en période printanière et estivale; à des profondeurs variant entre -1 et -3 m.



Figure 1 : Situations géographiques du site de prélèvement (Source : Google earth. Modifiée).

Des prélèvements d'un lot allant de 3 à 10 individus, ont été effectués pour chacune des espèces d'holothuries suivantes : *Holothuria (H.) tubulosa* ; *Holothuria (R.) poli* ; *Holothuria (P.) sanctori* et les premiers millimètres du Sédiment du Biotope (SB) au niveau duquel se trouvent les holothuries ont été également prélevés. Chaque échantillon a été mis isolément dans des sachets en plastique contenant de l'eau de mer formolée à 10 %.

Après dissection longitudinale, le tube digestif de chaque individu d'holothurie est ouvert par une incision longitudinale et le contenu digestif est soigneusement collecté. Un sous-échantillon d'1g du contenu digestif est ajouté à 10 ml d'eau de mer formolée à 10 %. Ensuite 1ml de cette préparation est mis sur une lame pour observation microscopique (Sonnenholzner, 2003). La méthode des contacts de Jones (1968), modifiée par Nedelec (1982), a été utilisée afin d'obtenir le pourcentage des différents types d'aliments présents dans le tube digestif.

La sélectivité des holothuries dans le choix de l'aliment, a été étudiée à travers le calcul de **l'Indice d'électivité (E')** d'Ivlev. Cet indice nous permet d'apprécier le degré de sélection des différents items par les holothuries étudiées, lors de leurs alimentations. Sa formule est la suivante :

$$E' = (r_i - p_i) / (r_i + p_i)$$

Avec : E' = Indice d'électivité ; r_i = pourcentage des items du contenu digestif des holothuries ; p_i : pourcentage des items dans le sédiment du biotope.

Lorsque $E' = 0$, cela signifie qu'il n'existe pas de sélectivité ; lorsqu'il est compris entre $-1 < E' < 0$, ceci indique qu'il y a un rejet ; lorsque E' est compris entre $0 < E' < 1$, indique une préférence (Ivlev, 1961 ; Whitlatch, 1974 In Stamhuis et al., 1998).

III- Résultats et discussion

Les principaux items distingués dans les contenus digestifs des espèces d'holothuries étudiées sont : Diatomées (Diat) ; Spicules d'éponges (Spi) ; Feuilles de posidonie (Pos) ; Annélides (Ann) ; Algues macrophytes (Macr) ; Sédiment (Séd) ; Cyanophycées (Cyan) ; Foraminifères (For) ; Débris organiques (Déb). Les résultats obtenus, montrent qu'en Printemps *H. poli* est l'unique consommatrice de la Posidonie avec un pourcentage de 48 % (Fig. 2) ; cette phanérogame marine présente un indice d'électivité supérieur à 0.5 (Fig. 2), ce qui démontre la préférence de *H. poli* pour cette espèce. La contribution des algues macrophytes dans le régime alimentaire des holothuries étudiées n'est pas négligeable (16%, 21% et 32% respectivement pour *H. poli*, *H. tubulosa* et *H. sanctori*) (Fig. 2). *H. tubulosa* est l'espèce qui préfère le plus les algues macrophytes du moment que ces dernières présentent l'indice d'électivité le plus important (Fig. 2). Mis à part chez *H. poli* et avec un pourcentage très faible, les diatomées ne sont consommées par aucune espèce en cette période. Les cyanophycées ne sont que faiblement représentées dans le contenu digestif d'*H. poli*, mais cette dernière les préfère à d'autres items (Fig. 2). La fraction animale représentée par les annélides est consommée par les trois espèces d'holothuries étudiées, mais c'est *H. tubulosa* et *H. sanctori* qui la préfèrent, si on se réfère à l'indice d'Ivlev (Fig. 2).

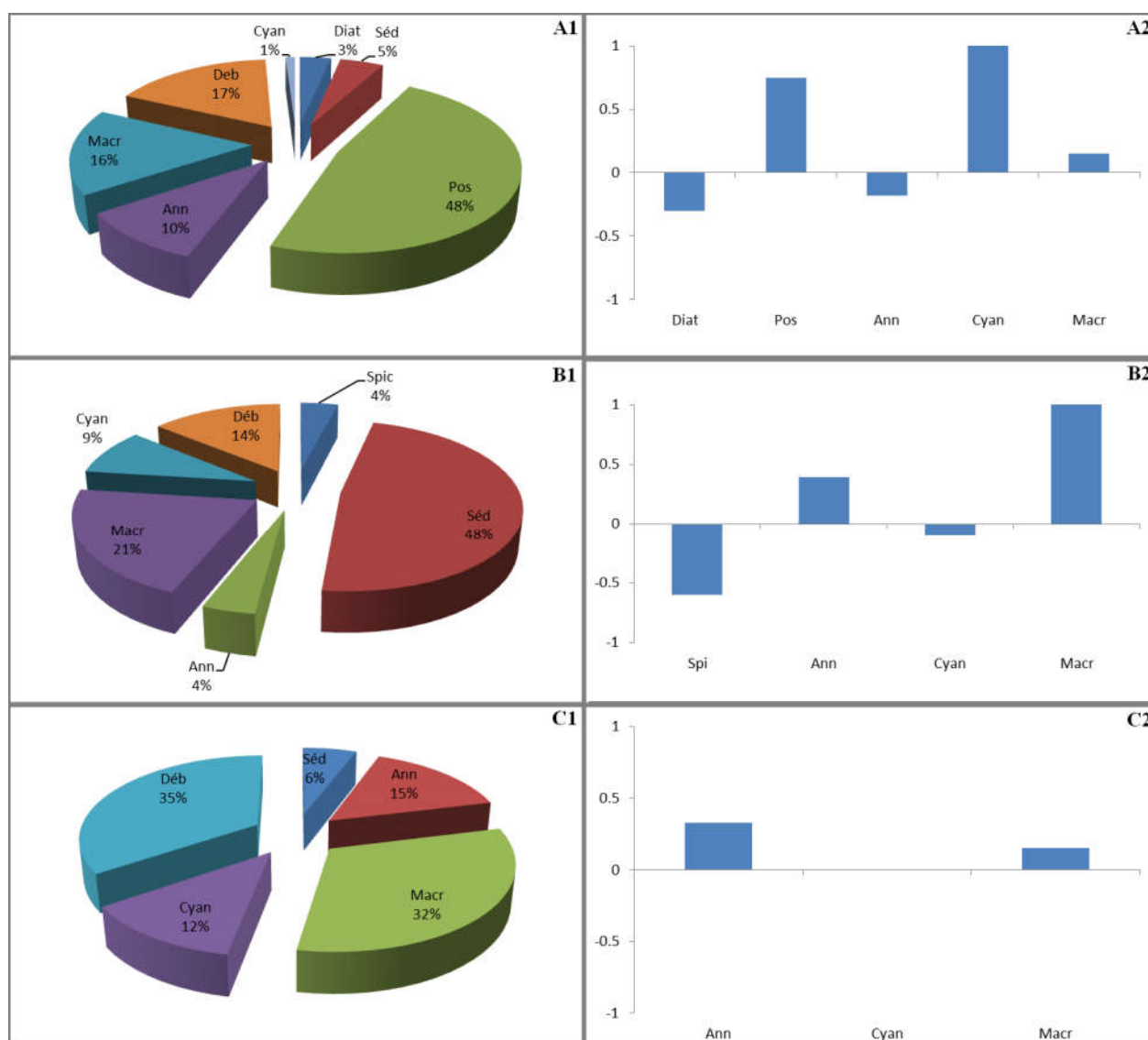


Figure 2 : Contribution des items dans les contenus digestifs des Holothuries du site de Saaandre pour la saison printanière [*H. poli* (A1) ; *H. tubulosa* (B1) ; *H. sanctori* (C1)] et indice d'Electivité d'Ivlev indiquant la préférence ou le rejet d'un item [*H. poli* (A2) ; *H. tubulosa* (B2) ; *H. sanctori* (C2)].

En Eté, les sources d'alimentation des trois espèces d'Holothuries est beaucoup plus diversifiée. La Posidonie est présente dans le contenu digestif des trois espèces avec des pourcentages très proches (14%, 16% et 12% respectivement chez *H. poli*, *H. tubulosa* et *H. sanctori*) (Fig. 3) ; mais elle n'est préférée que par *H. sanctori* du moment qu'elle présente un indice d'electivité qui atteint 0.5 (Fig. 3). Les sources trophiques préférées des Holothuries étudiées sont les Diatomées, les annelides et les coquilles de bivalve puisqu'elles présentent des indices d'Ivlev supérieur à 0 ; même si leurs contribution dans le contenu digestif des holothuries est parfois très réduite (Fig. 3).

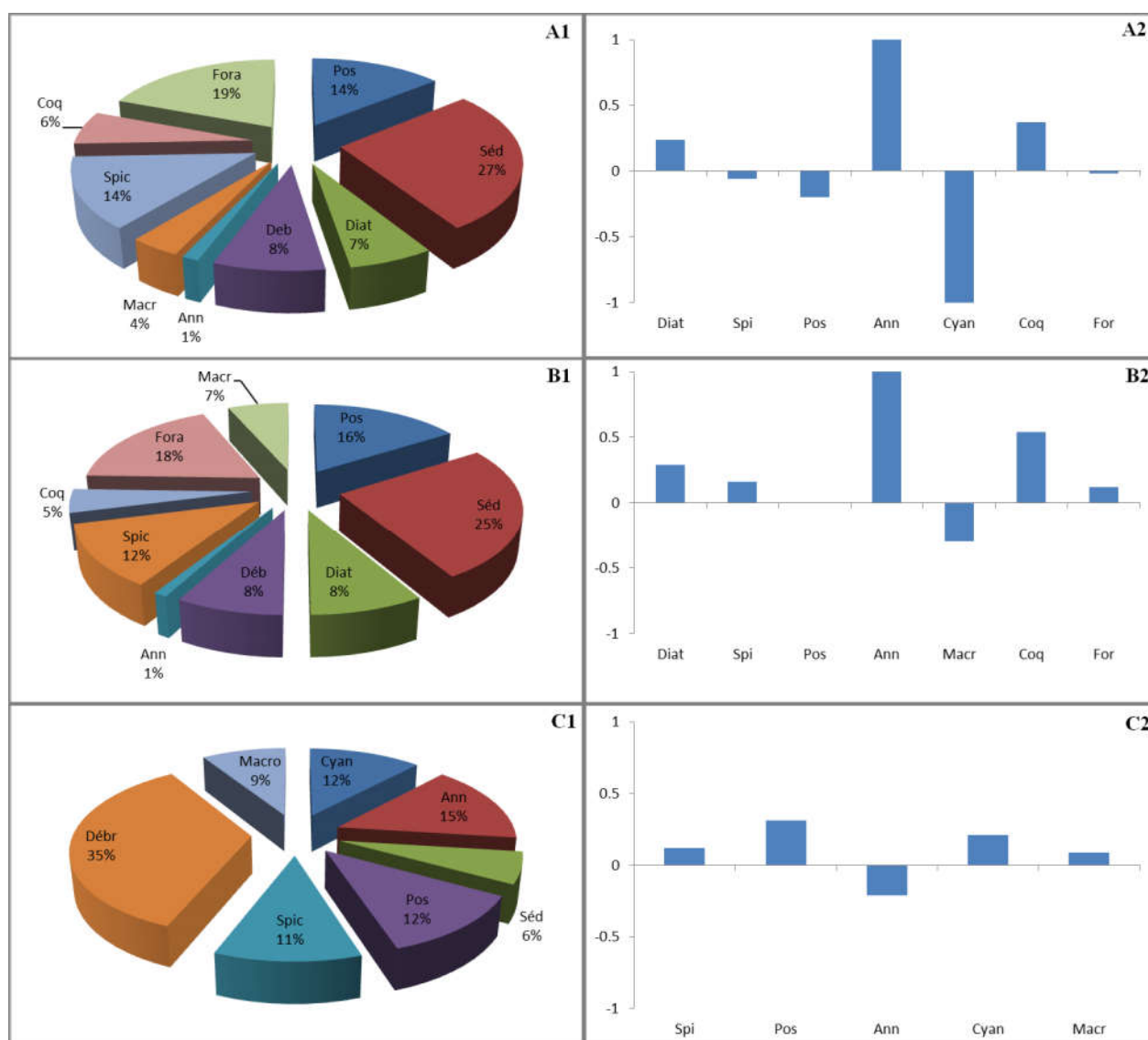


Figure 3 :Contribution des items dans les contenus digestifs des Holothuries du site de Salamandre pour la saison estivale [*H. poli* (A1) ; *H. tubulosa* (B1) ; *H. sanctori* (C1)] et indice d'Electivité d'Ivlev indiquant la préférence ou le rejet d'un item[*H. poli* (A2) ; *H. tubulosa* (B2) ; *H. sanctori* (C2)].

La contribution plus ou moins importantes des Algues macrophytes (essentiellement *Ulvasp* et *Coralinasp*) chez l'ensemble des espèces en périodes printanière, indique que cet aliment joue un rôle très important dans l'alimentation de ces animaux benthiques ; ce qui a été également constaté par **Sonnenholzner (2003)**, chez l'espèce *Holothuriatheeli*. La Posidonie (essentiellement feuilles mortes) est également très consommée par les trois espèces d'Holothuries, mais ceci uniquement en période estivale. Les feuilles mortes de Posidonie sont soumises à une dégradation biologique notamment par la communauté microbienne ; cette décomposition est lente à basse température (**Pergentet al., 1994 ; 1997**) ; donc on estime que les Holothuries consomment les feuilles de Posidonies uniquement en périodes estivale

pour profiter du rôle microbienne dans la dégradation de ces feuilles et qui les rend par conséquent facile à ingérer.

Les Diatomées (majoritairement benthiques) ne sont consommées qu'avec des petites quantités, mais sont clairement appréciées par les Holothuries en période estivale, **Sonnenholzner (2003)** avait signalé une proportion assez importante de diatomées benthiques dans le contenu digestif de *Holothuriatheeli*, en période estivale.

Les Foraminifères ne sont consommés que par *H. poli* et *H. tubulosa* et ceci qu'en Été. Certains auteurs tel que **Khripounoff et Sibuet (1980)** et **Billet *et al.*, (1988)** estiment que les Foraminifères ne sont consommés qu'accidentellement ; contrairement à **Bakus (1973)** qui considère les Foraminifères comme l'une des sources principales de nourriture pour les Holothuries. Dans l'ensemble, la plupart des items retrouvés dans le contenu digestifs des Holothuries étudiées lors de ce travail, sont également signalés par **Sonnenholzner (2003)**.

Conclusion

Les sources trophiques des espèces d'Holothuries étudiées sont très diversifiées. La fraction végétale est essentiellement composée de feuilles de Posidonie, d'Algues macrophytes et de Diatomées ; la fraction animale est composée majoritairement de Foraminifères et d'Annélides. La contribution de chaque item diffère selon l'espèce et la saison.

En Printemps, la majorité des Holothuries évite ou ne consomment que peut les feuilles de Posidonie et la consomme plutôt en Été. On suppose que les Holothuries étudiées utilisent la matière organique produite par la Posidonie uniquement à certaines périodes de l'année, afin de profiter d'une meilleure palatabilité de ces feuilles. *Holothuria sanctori* pourrait constituer l'espèce la plus intéressante en terme de transfert de la matière organique produite par la Posidonie du moment qu'elle consomme les feuilles de cette dernière d'une manière préférentielle.

References bibliographiques

- Bakus G.J., (1973). The biology and ecology of tropical holothurians. In: O.A. Jones and R. Endean (eds.). The biology and geology of coral reefs. *Academic Press. Newyork*, 2: 325-367.
- Billett, D. S. M., C. L. Llewellyn., J. Watson., (1988). Are deep-sea holothurians selective feeders? In R. Burke, P. V. Mladenov, P. Lambert., R. Parsley, eds. Echinoderm biology. *Proc. 6th Intern. Echino. Conf., Victoria*. A. A. Balkema, Rotterdam. 421-429.
- Buia M.C., Gambi M.C., Zupo V., (2000). Structure and functioning of Mediterranean seagrass ecosystems: an overview. *Biologia Marina Mediterranea*, 7 (2): 167-190.

- Cebrian J., Duarte C.M., Marba N., Enriquez S., (1997). The magnitude and fate of the production of four co-occurring Western Mediterranean seagrass species. *Marine Ecology Progress Series*, 155: 29–44.
- Jones R.S., (1968). A suggested method for quantifying gut content in herbivorous fishes. *Micronesia*, Guam. USA, 4 (2): 369-371.
- Khripounoff A., Sibuet M., (1980). La nutrition d'échinodermes abyssaux : alimentation des holothuries. *Marine Biology*. 60: 7-26.
- Nedelec H., (1982). Ethologie alimentaire de *Paracentrotus lividus* dans la baie de Galeria (Corse) et son impact sur les peuplements phytobenthiques. *These Doct. 3^{eme} cycle Océanol. Biol., Univ. Pierre et Marie Curie, Paris, Fr.* : 1-175.
- Pergent G., Rico-Raimondino V., Pergent-Martini C., (1994). Primary production of *Posidonia oceanica* in the Mediterranean basin. *Marine Biology*, 120: 9-15.
- Pergent G., Rico-Raimondino V., Pergent-Martini C., (1997). Fate of primary production in *Posidonia oceanica* meadows of the Mediterranean. *Aquat. Bot.*, 59: 307-321.
- Sonnenholzner J., (2003). Seasonal variation in the food composition of *Holothuria theeli* (holothuroidea: aspidochirotida) with observations on density and distribution patterns at the central coast of Ecuador. *Bulletin of Marine Science*, 73(3): 527–543.
- Stamhuis E.J., Videler J.J., de Wilde P.A.W.J., (1998). Optimal foraging in the thalassinidean shrimp *Callinassa subterranea* Improving food quality by grain size selection. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 228: 197-208.
- Walker D.I., Pergent G., Fazi S., (2001). Seagrass decomposition. In: Short F.T., Cole R.G., editors. *Global Seagrass Research Methods*. Elsevier Scientific Publishers B. V., Amsterdam: 313-324.

CO14. Etude morphogénétique de l'espèce de Gastéropodes Prosobranche *Patella ferruginea* (Gmelin, 1791) sur les deux morphotypes (*Rouxii* et *Lamarckii*) au niveau de la côte algérienne

Zoheir BOUZAZA^{1, 2} & Karim MEZALI²

¹Département de Biologie; ²Department des Sciences de la mer et de l'aquaculture, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, 27000, Boite postale 300, Algérie.
E-mail: zoheir.bouzaza@univ-mosta.dz

Résumé

L'espèce *Patella ferruginea* (Gmelin, 1791) est un gastéropode prosobranche endémique à la Méditerranée occidentale. Elle est considérée par beaucoup d'auteurs comme une espèce en voie de disparition. Elle possède deux formes de coquilles assez distinctes, la forme *Lamarckii* (Centrique et arrondie) et la forme *Rouxii* (Conique et non-centrique). Afin de confirmer si les deux formes (*Rouxii* et *Lamarckii*) appartiennent à deux sous espèces distinctes, une étude morphogénétique a été réalisée sur un lot de 35 individus collectés depuis

6 stations sur la côte algérienne. En prenant quelques mesures biométriques (Longueur, largeur, hauteur et gibbosité de la coquille...) sur tous les individus collectés, nous avons procédé à des analyses statistiques multi-variées [une Analyses en composantes Principales (ACP), une Analyse Factorielle Discriminante (AFD) et une Classification Ascendante (CAH) pour confirmer que les deux formes (*Rouxii* et *Lamarckii*) sont bien séparées morphologiquement. Les résultats ont été comparés à l'étude phylogénétique basée sur le séquençage de la portion du gène mitochondrial COI (Cytochrome Oxydase I) de tous les individus mesurés. À travers cette étude, nous avons essayé de donner des explications biologiques et écologiques sur les causes de l'apparition des deux morphotypes (*Rouxii* et *Lamarckii*) de l'espèce *P. ferruginea*.

Mots clés : *Patella ferruginea*, Morphotypes, Phylogénie, *Rouxii*, *Lamarckii*, côte algérienne.

I-Introduction

L'espèce *Patella ferruginea* (Gmelin, 1791), est un Gastéropode prosobranch vivant sur les rivages rocheux de la zone intertidale. Appelée aussi « Patelle géante » ou « Patelle ferrugineuse », cette espèce est endémique à la Méditerranée occidentale est probablement l'espèce la plus menacée d'extinction dans cette mer (**Templado & Moreno, 1997**). Cette espèce possède deux formes spécifiques décrites par **Payraudeau (1826)** : La forme *Lamarckii*, qui est dotée d'une coquille convexe avec un cône centrique et la forme *Rouxii*, qui possède une coquille en forme de cône décalé non centrique. **Porcheddu & Milella (1991)** ont trouvé des différences morphologiques claires entre ces deux morphotypes et ont suggéré qu'ils pourraient être deux espèces différentes, alors que d'autres études phylogénétiques établis par **Espinosa & Ozawa (2006)**, **Mezali (2007)** et **Bouzaza (2012)** sur *P. ferruginea* nous ont montré que les deux formes (*Lamarckii*) et (*Rouxii*) sont des morphotypes écotypiques plutôt que des espèces séparées.

Notre travail est basé sur une approche morphogénétique dans une large zone côtière algérienne afin de mieux comprendre la disparité morphologique entre les deux formes *Rouxii* et *Lamarckii* et quels sont les facteurs écologiques pouvant induire leur dissimilitude ?

II-Matériel et méthodes

II-1- Zone d'étude

Nous avons effectué une collecte de 35 individus de *P. ferruginea* (les deux formes confondues) sur six stations de la côte algérienne, d'est en ouest (**Fig. 1**). L'échantillonnage s'est déroulé entre le mois d'octobre 2012 et le mois de février 2015 (**Fig. 1 ; Tab. 1**).

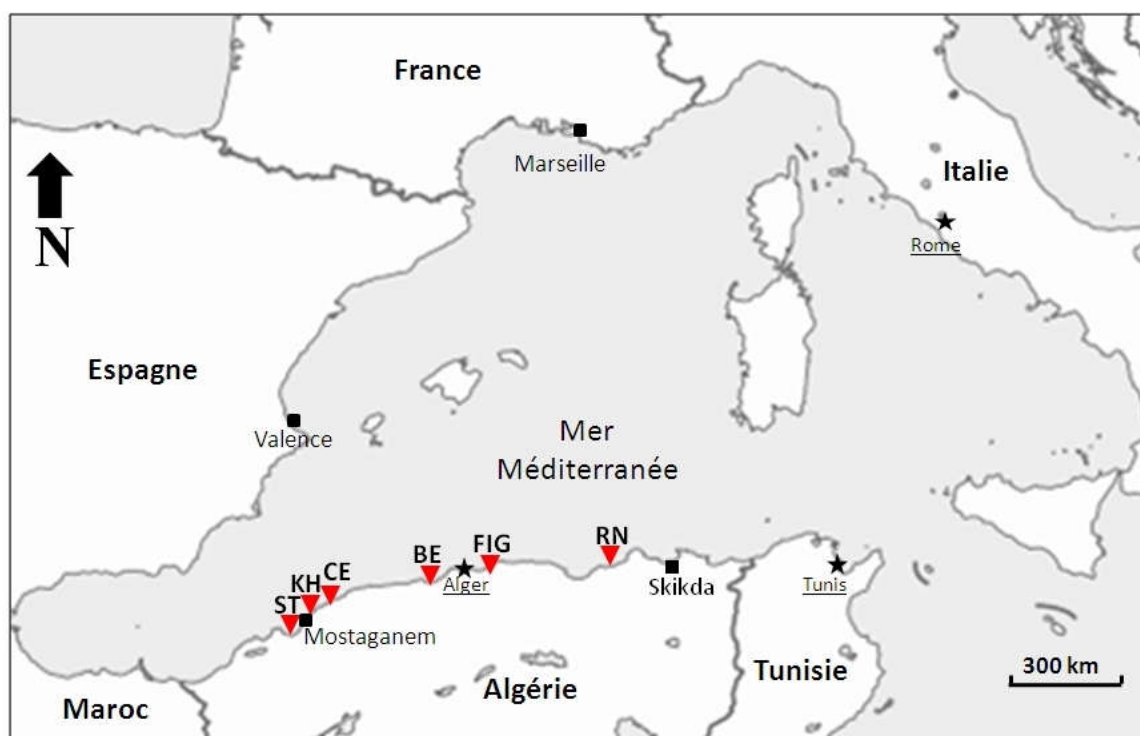


Fig. 1 : Sites de prélèvement (en rouge) de *P. ferruginea*. (Voir le **tableau 1** pour les abréviations).

Tableau 1 : Position géographique des sites de prélèvement et abréviations des stations étudiées.

Nom de la station	Abréviation	Coordonnées
Rocher Noir	RN	36,78° N, 5,63° E
Figuier Plage	FIG	36,78° N, 3,53° E
Bérard	BE	36,6° N, 2,6° E
Cap Evi	CE	36,12° N, 0,23° E
Stidia	ST	35,49° N, 0° E
Kharrouba	KH	35°58'N, 0°6' E

II-2- Données morphométriques

Pour explorer le polymorphisme entre les deux formes de *P. ferruginea*, nous avons mesuré quelques paramètres tel que la longueur totale (Ln), la largeur totale (Lr), la hauteur (Ht), la distance entre l'apex et l'extrémité antérieure de la coquille (Ea) et la distance entre l'apex et l'extrémité postérieure de la coquille (Ep) (**Fig. 2**). D'autres paramètres biométriques ne dépendant pas de l'âge de la patelle (les ratios Ht/Ln, Ht/Lr, Ln/Lr, Ea/Ln et Ea/Ep) ont été calculés afin de pouvoir discriminer entre les deux morphotypes *Rouxii* et *Lamarckii*. Ces paramètres ont été utilisés pour réaliser les analyses statistiques multivariées [Analyse en Coposantes Principales (ACP), Analyse Factorielle Discriminante (AFD) et Classification

Ascendante Hiérarchiques (CAH)]. La CAH a été réalisée par la méthode de **Ward (1963)** afin d'avoir un arbre morphométrique.

II-3- Données moléculaires

Le travail moléculaire repose sur des échantillons de tissus prélevés au scalpel de la chaire du podia des Patelles, après les avoir soigneusement lavés à l'eau distillée. Les échantillons sont stockés dans de l'Ethanol à 90%, souvent au frais. L'ADN des tissus prélevés a été extrait puis utilisé pour l'amplification de la portion de l'ADN mitochondrial Cytochrome Oxydase I (COI) par PCR à l'Institut Méditerranéen de Biologie et d'Ecologie (IMBE) de Marseille.

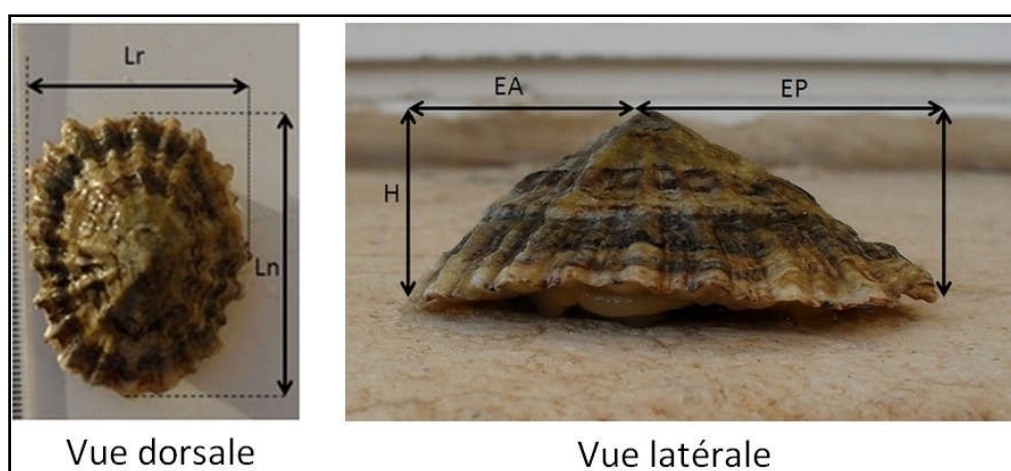


Fig. 2 : Différentes mensuration établies sur les coquilles de *P. ferruginea* de la côte algérienne (photos prises par Bouzaza, 2016).

Pour le séquençage de la portion COI de l'ADN mitochondrial (ADNmt), les amplifias jugés convenables ont été envoyé au département des sciences génomiques de l'Université de Washington «*High-Throughput Genomics Unit* » (HTGU). Les séquences récupérées, ont fait l'objet d'un traitement informatique puis ont été comparées grâce à l'élaboration d'un arbre phylogénétique établi par la méthode du maximum de vraisemblance (ML). Celui-ci a été comparé à l'arbre morphométrique établi par la CAH de **Ward (1963)**.

III-Résultats

L'ACP des variables (**Fig. 3A**) représente 88,68% de l'information avec 67,53% de l'information projetée sur l'axe F1 et 21,15% projetée sur l'axe F2. Les paramètres Ht/Ln, Ea/Ep et Ea/Ln sont très bien projetés positivement sur l'axe F1 et moins projetés sur l'axe F2. Ces quatre paramètres donnent une très bonne information sur la gibbosité des coquilles de *P. ferruginea* collectées et créent une bonne discrimination entre les individus des deux

formes (*Lamarckii* et *Rouxii*) (**Fig. 3B**). Lorsque ces paramètres ont des valeurs élevées, les coquilles sont hautes et leur sommet tend vers la centricité (cas des individus *Lamarckii*), mais lorsqu'ils sont bas, les coquilles sont aplaties avec des sommets décalés vers leurs extrémités antérieures (cas des individus *Rouxii*) (**Fig. 3B**). Quant au paramètre Ln/Lr, il est beaucoup plus projeté sur l'axe F2 que l'axe F1 (**Fig. 3A**), mais n'a aucun rôle dans la divergence entre les deux formes.

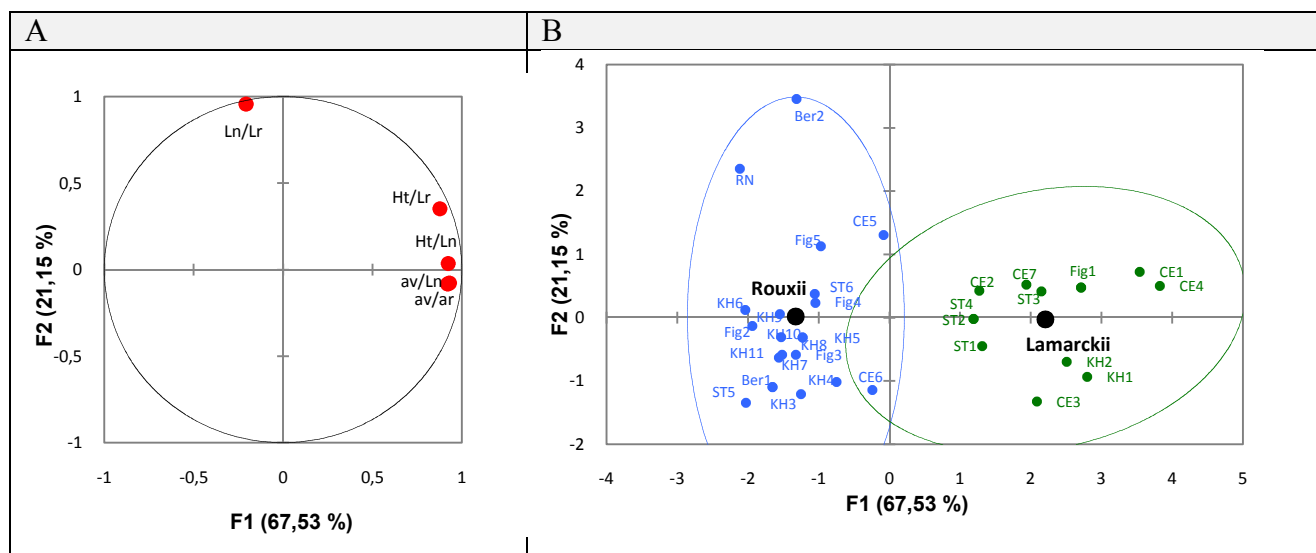


Fig. 3 : Analyse en composantes principales. A : ACP des variables, B : ACP des individus. En rouge : la projection des variables, en vert, la projection des individus de forme *Lamarckii* : en bleu, la projection des individus de forme *Rouxii*. En noir, la projection des barycentres.

L'Analyse Factorielle Discriminante a montré que les ratios utilisés (Ht/Ln, Ht/Lr, Ea/Ep et Ea/Ln) sont bien discriminants ($p < 0,05$) sauf pour Ln/Lr ($p = 0,223$) (**Tab. 2**).

Tableau 2 : Test unidimensionnel d'égalité des moyennes des ratios entre les individus de forme *Rouxii* et de forme *Lamarckii*.

Variable	Lambda	F	ddl1	ddl2	p-value
Ht/Ln	0,235	97,483	1	30	< 0,0001
Ht/Lr	0,328	61,326	1	30	< 0,0001
Ln/Lr	0,951	1,551	1	30	0,223
Ea/Ln	0,287	74,463	1	30	< 0,0001
Ea/Ep	0,275	78,937	1	30	< 0,0001

La CAH établie par la méthode de **Ward (1963)** montre bien qu'il y a deux groupes bien distincts (**Fig. 4**). Un groupe constitué essentiellement des individus de la forme *Rouxii* et l'autre groupe ne contenant que les individus de la forme *Lamarckii*. Un arbre phylogénétique

a été élaboré par la méthode du Maximum de Vraisemblance (ML) sur 580pb séquencées (Fig. 4). Une séquence de la portion de l'ADNmt (COI) d'un individu de *Patella rustica* a été utilisée en temps que « out group ». Nous pouvons remarquer que dans l'arbre phylogénétique (Fig.4) que génétiquement les individus de *P. ferruginea* de forme *Lamarckii* sont confondus avec les individus de forme *Rouxii*.

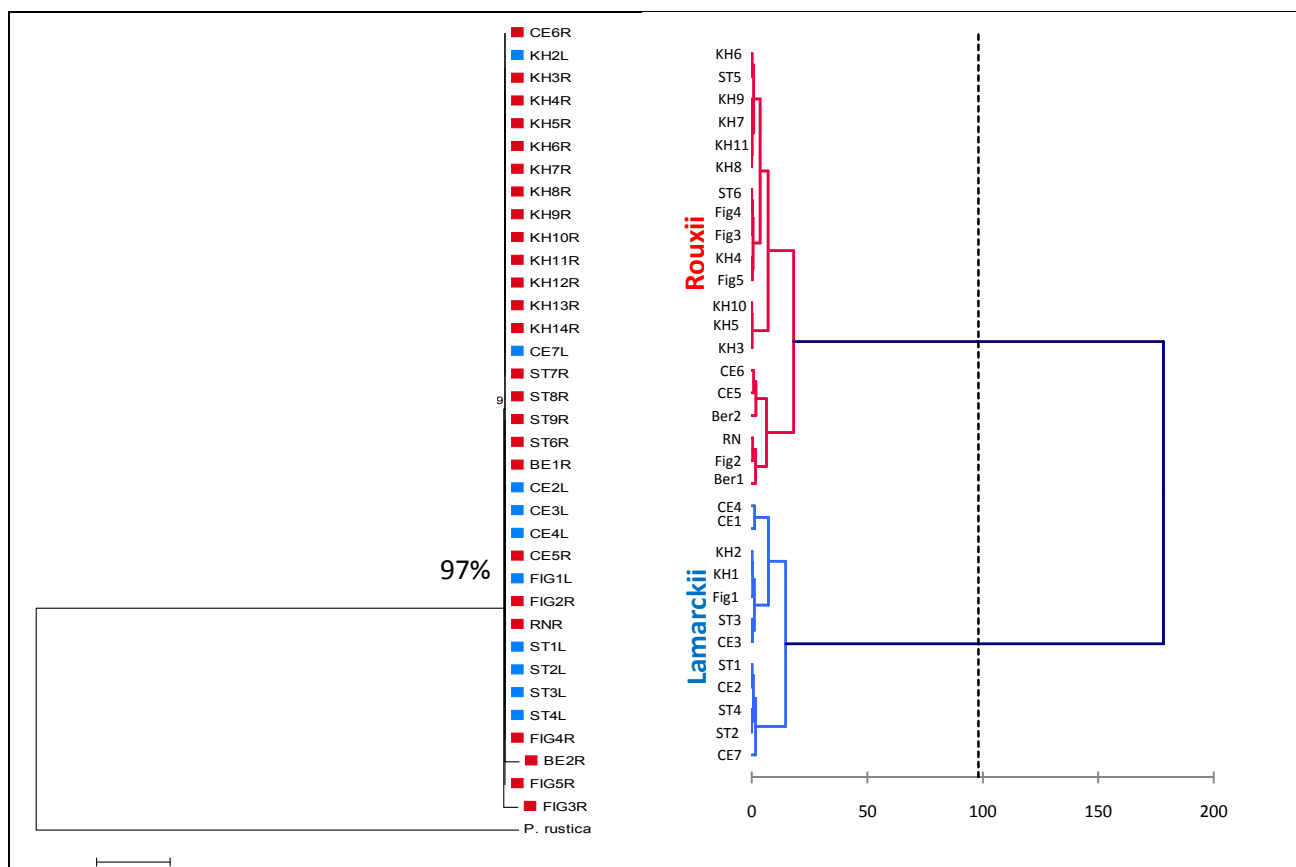


Fig. 4 : Comparaison entre un dendrogramme établi par la CAH de Ward (à droite) montrant la divergence morphométrique entre les coquilles de forme *Rouxii* de celles de forme *Lamarckii* et un arbre phylogénétique (à gauche) établi par la méthode du maximum de vraisemblance (ML) avec 500 réplicatbootstrap. ■ : représente les individus de forme *Rouxii*, ■ : représente les individus de forme *Lamarckii*.

IV-Discussion

Les patelles du genre *Patella* sont connues pour leur grande plasticité morphologique, ce qui rend leur identification difficile pouvant mettre en désaccord les auteurs quant à leur diversité morphologique et leur répartition géographique (Fischer-Piette& Gaillard, 1959). L'espèce *P. ferruginea* ne fait pas exception à cette ambiguïté taxinomique. En effet, l'étude morphométrique basée sur les analyses multivariées a montré qu'il y a une disparité morphologique très prononcée entre les individus de forme *Lamarckii* et les individus de forme *Rouxii*. Cette disparité morphologique entre les deux formes *Lamarckii* et

Rouxii pourrait être due au temps d'immersion des individus de *P. ferruginea* dans l'eau, la nature du substrat et des facteurs physico-chimiques l'environnant (Gray & Hodgson, 2003 ; Espinosa et al., 2009 ; Boukhicha et al., 2010). Cependant, l'étude génétique basée sur la phylogénie entre les individus de forme *Rouxii* et *Lamarckii* a révélé que les individus des deux formes *Lamarckii* et *Rouxii* sont très proches. Par conséquent, ces deux formes sont considérées comme étant appartenir à une même espèce tel qu'il a été conclu par Espinoza & Ozawa (2006) ; Mezali (2007) ; Casu et al. (2011) et Bouzaza (2012).

Références bibliographiques

- Boukhicha J, Tlig SZ et Ben Hassine OK (2010). Diversité morphométrique de *Patella caerulea* (Linnaeus, 1758) du littoral rocheux des côtes tunisiennes. Rapp.Comm.Int. Mer. Medit. 39: 722.
- Bouzaza Z (2012). Contribution à l'étude systématique, phylogénétique et phylogéographique de quelques espèces de patelles (Gastropoda : Patellidae) de la zone intertidale de la côte algérienne. Mémoire de magister, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algerie. 136p.
- Casu M, Rivera-Ingraham GA, Cossu P, Lai T, Sanna D, Dedola GL, Sussarellu S, Sella G, Cristo B, Curini-Galletti M, Garcia-Gomez JC et Espinosa F (2011). Patterns of spatial genetic structuring in the endangered limpet *Patella ferruginea*: implications for the conservation of a Mediterranean endemic. Genetica. 139:1293-1308.
- Espinosa F & Ozawa T (2006). Population genetics of the endangered limpet *Patella ferruginea* (Gastropoda: Patellidae): taxonomic conservation and evolutionary considerations. J. Zool. Syst. Evol. Res. 44: 8-16.
- Espinosa F, Rivera-Ingraham GA, Fa D et Garcia-Gomez JC (2009). Effect of Human Pressure on Population Size Structures of the Endangered Ferruginean Limpet: Toward Future Management Measures. J. Coastal. Res. 25: 857-863.
- Fischer-Piette E & Gaillard J (1959). Les Patelles au long des côtes Atlantiques Ibériques et nord Marocaines. J Conchol. 99: 135-200.
- Gray DR & Hodgson AN (2003). Growth and reproduction in the high-shore South African limpet *Heliconpectunculus* (Mollusca: Patellogastropoda). Afr. Zool. 38: 371-386.
- Mezali K (2007). État de la pollution de la côte de Mostaganem et étude systématique et écologique de la patelle géante *Patella ferruginea* (Gmelin, 1791) dans la zone de Stidia (Algérie)». 7^{ème} congrès magrébins des sciences de la mer et 1^{er} congrès Franco-Magrébin de zoologie et d'ichthyologie Sous le thème : Environnement aquatique et ses ressources, Connaissances, gestion et valorisation. El Djadida (Maroc) du 4-7 novembre 2007. p115.
- Payraudeau BC (1826). Catalogue descriptif et méthodique des Annélides et Mollusques de l'île de Corse, Paris. 240p.
- Porcheddu A & Milella I (1991). Aperçu sur l'écologie et sur la distribution de *Patella ferruginea* (Gmelin 1791) en mers italiennes.
- Templado J & Moreno D (1997). La lapa ferruginea. Biologica. 6: 80-81.
- Ward JH, Jr. (1963). Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. J. Amer. Statist. Assoc. 58:236-244.

CO15. Identification des épibiontes associés à la coquille de *Pinnanobilis* (Linné, 1758) de la côte Ouest Algérienne

BELKHAMSSA Fatima Zohra¹, TAIBI Nasr-Eddine¹, DEUDERO Salud²

¹LPVGRML, Laboratoire Protection, Valorisation et Gestion des Ressources Marines et Littorales & Systématique Moléculaire/Département des Sciences de la Mer et de l'Aquaculture, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, 27000 Mostaganem, Boîte postale 300, Algérie.

²Institut Espagnol d'Océanographie, Iles Baléares/Espagne.

E-mail: belkhamssa.sarah@gmail.com

Résumé

La grande nacre de Méditerranée *Pinnanobilis* est le plus grand coquillage au monde avec le bénitier tropical. *Pinnanobilis* est endémique de la Méditerranée et vit, généralement, inféodée à l'herbier de posidonie (*Posidonia oceanica*). De par sa sensibilité à la qualité du milieu, la grande nacre est considérée comme un excellent bio-indicateur. Actuellement, elle s'est raréfiée à cause des rejets d'eaux usées, du chalutage et surtout du prélèvement abusif par les plongeurs. Afin de caractériser le milieu, les épibiontes d'origine animale (méiofaune) et végétale (méioflore) vivants sur la coquille de quelques individus de *Pinnanobilis* ont été identifiés. Les épibiontes présentent une variété biologique formée par des organismes sessiles de quelques millimètres, tels que les spongiaires qui prédominent avec plus de 65%. Les algues vertes et les algues rouges couvrent 35 à 55% de la surface de la partie supérieure de la coquille. Les annélides, tels que *Spirorbis* sp. et *Protulasp.*, sont très bien représentés et forment des colonies. Les arthropodes et les ascidies sont, par contre, sporadiques. La biodiversité notée sur la coquille des individus de *Pinnanobilis* de Salamandre, d'Arzew, de Cap Blanc, de Madagh, de Bouzedjar et des Iles Habibas, est remarquable. Cette biodiversité témoigne également de la parfaite coexistence entre les espèces d'animaux et de végétaux partageant un espace restreint. Le recensement ne montre pas en revanche une différence significative, d'un site à un autre, quant à l'abondance ou à l'équitabilité des espèces recensées.

Mots clés : Mollusque bivalve, *Pinnanobilis*, faune, flore, épibionte, côte Ouest algérienne.

Introduction

La Mer Méditerranée se caractérise par sa grande biodiversité. Elle concentre un grand nombre d'espèces marines dans un volume d'eau relativement petit. Entre 8 et 9% des espèces marines mondiales se trouvent dans un volume seulement compris entre 0,2 et 0,3 % du total des eaux océaniques. Ce fait transforme la Mer Méditerranée en un oasis fragile de

biodiversité, dont la préservation est d'une grande importance à la fois d'un point de vue pratique et écologique

Sur les côtes Algériennes, nous ne disposons d'aucune information sur les aires de répartition et les biotopes de prédilection des Pinnidés en général et de *Pinnanobilis* en particulier. A notre connaissance, aucune donnée sur son écologie et sa biologie n'est disponible. La littérature traitant de ce sujet est disparate, seuls quelques signalements ponctuels sont donnés par certains auteurs dans le cadre de projets de création de réserves marines (ANONYME, 2004, 2005; GRIMES et al., 2005). Le long du littoral Est algérien, la présence des *Pinna* a déjà été signalée par DERBAL et KARA (2005) dans le golfe d'Annaba et par PERGENT et al., (1991) et SEMROUD et al., (2005) sur les côtes d'El-Kala. Toutefois, les études portant sur sa biologie et son écologie sont absentes.

La grande nacre de Méditerranée *Pinnanobilis* abondante sur nos côtes, elle s'est raréfiée à cause des diverses agressions du littoral : rejets d'eaux usées, restructuration des rivages, chalutages, prélèvements abusifs par les plongeurs. Dans les zones protégées, les populations récupèrent progressivement. L'espèce est elle-même protégée depuis 1992, en France.

Pinnanobilis est un bon bio- indicateur de la qualité du littoral méditerranéen.

L'étude présentée ici a pour objectif principal de fournir les premiers éléments sur l'écologie de la grande nacre *Pinnanobilis* dans la côte Ouest Algérienne. Elle vise la connaissance par le biais de la plongée sous-marine de la présence des nacres géantes et la diversité de la faune et de la flore et les écosystèmes associées. Les informations recueillies permettront, de mesurer à travers cette espèce bioindicatrices de la qualité des eaux côtières (VICENTE et DE GAULEJAC, 1993), l'impact des perturbations humaines sur les populations invertébrées résidentes d'intérêt écologique et économique.

Matériel et méthodes

Différents sites de la Côte Ouest Algérienne ont été pris en compte lors de cette étude à cause de la rareté de *Pinnanobilis*. Les individus repérés et identifiés ont été mesurés *in situ* lors d'immersions en scaphandres autonome ; les mensurations ont porté sur la longueur de la valve au dessus du sédiment (Ls), la largeur maximale de la valve (lm), la largeur de la valve au dessus du sédiment (ls), la distance entre le sommet de la charnière et le sommet de la valve (D). Le comptage a été effectué aussi bien pour les individus vivants que ceux morts (coquilles vides). Les coordonnées géographiques et la profondeur des individus localisés ont été notées à l'aide d'un GPS et d'un profondimètre de plongée sous-marine. La densité des individus par site d'observation, le type de substrat sur lequel *Pinnanobilis* a évolué, les

caractéristiques de l'habitat ont été également enregistrées afin de déterminer l'écosystème auquel cette espèce est associée.

Les sites étudiés



Répartition géographique de *Pinnanobilis* dans la côte Ouest Algérienne (BELKHAMSSA. 2016)

Zone étudiée

Zone projeter

Salamandre Prospection et repérage entre 10 à 22 mètre de profondeur

Arzew Prospection et repérage entre 5 à 15 mètre de profondeur

Cap blanc Prospection et repérage entre 4 à 15 mètre de profondeur

Madagh Prospection et repérage entre 8 à 20 mètre de profondeur

Ile Habibas Prospection et repérage entre 8 à 17 mètre de profondeur

Bouzedjar Prospection et repérage entre 5 à 12 mètre de profondeur

Au laboratoire

- À l'aide d'un microscope binoculaire et une clé de détermination on a identifié les espèces méiofaunal et méiofloral (épibiontes) vivant sur la coquille et à l'intérieur de *Pinnanobilis*.
- Ensuite dénombrement et photographie des espèces recensées.
- Calculer les indices de biodiversités.

Résultats et discussion

Dénombrement et localisation géographique

Nom du site	Coordonnées géographiques		Profondeur (m)	Typologie du fond ou <i>Pinna</i> évoluée	Nombre d'individus observés	
	LAT	LONG			Vivant	Morte
Salamandre	35°55'06'' 85°N	0° 03' 11'' 53°O	10 à 22	Sableux présence d'herbier	02	00
Arzew	35°51'51'' 66°N	0° 15' 25'' 91°O	5 à 15	Galets et débris	07	00
Cap Blanc	35°43'27'' 47°N	01°07'47''1 4°O	4 à 15	Sableux absence d'herbier	10	03
Madagh	35°38'56, 94''N	1°03'17,57'' O	8 à 20	Sableux, présence d'herbier	06	01
Iles Habibas	35°43'26. 39''N	1°07'48.52' 'O	8 à 17	Rocheux Et sablonneux, herbier	06	02
Bouzedjar	35°34'36. 98''N	1°09'28.82' 'O	5 à 12	Sableux, présence d'herbier	04	00

Épibiontes associés à la coquille *Pinnanobilis*

Les épibiontes inventoriés sur les valves sont représentés par des algues et essentiellement par des invertébrés. Ces derniers sont des annélides, des arthropodes, des mollusques, des échinodermes, des cnidaires, des spongiaires et des bryozoaires.

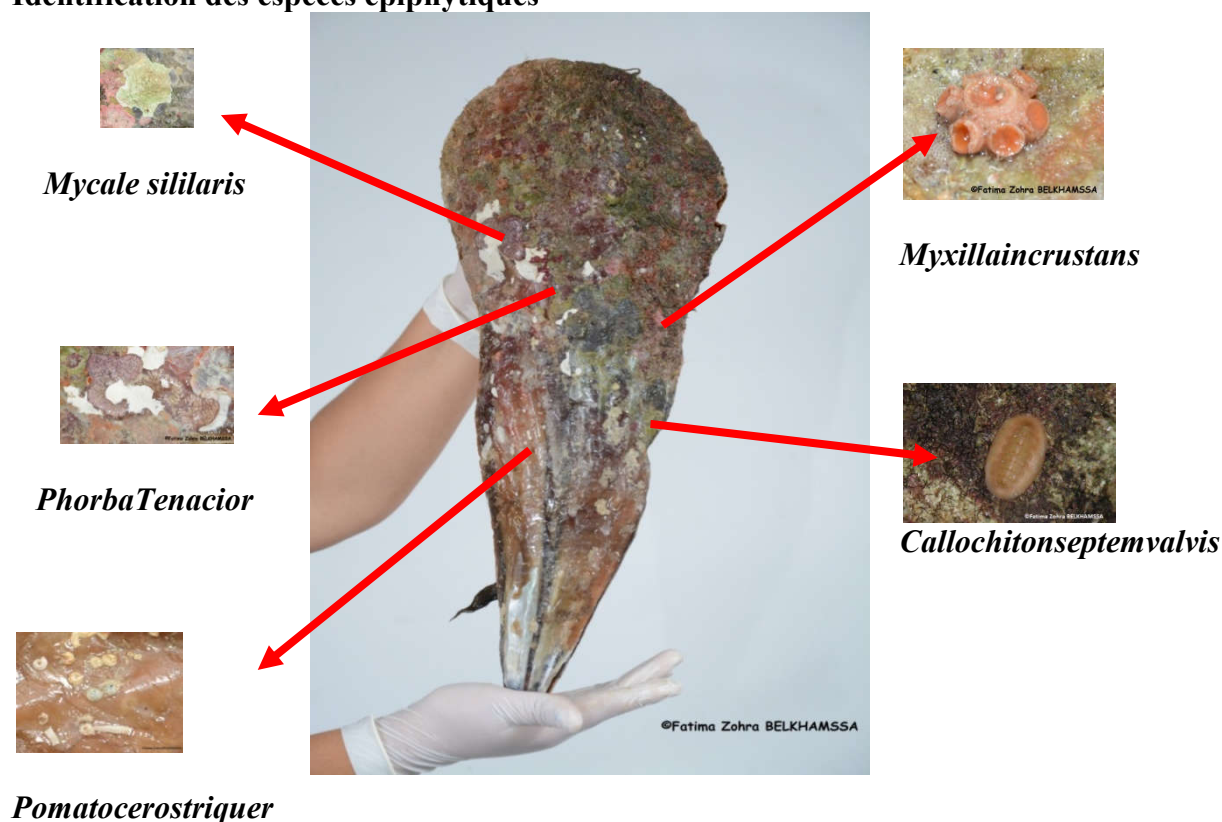
Les épibiontes d'origine animale (méiofaune) et végétale (méioflore) vivants sur la coquille de quelques individus de *Pinnanobilis* ont été identifiés. Les épibiontes présentent une variété biologique formée par des organismes sessiles de quelques millimètres, tels que les spongiaires qui prédominent avec plus de 65%. Les algues vertes et les algues rouges couvrent 35 à 55% de la surface de la partie supérieure de la coquille. Les annélides, tels que *Spirorbis* sp. et *Protulasp.*, sont très bien représentés et forment des colonies. Les arthropodes et les ascidies sont, par contre, sporadiques.

Présentation des espèces identifiées (méioflore et méiofaune)

Méiofaune	Spongières	Polychètes	Mollusques	Crustacées	Ascidies
	<i>Mycale sililaris</i> <i>PhorbaTenaci</i> <i>or</i> <i>Myxillaincrustans</i> <i>Halichondria panicea</i> <i>Hallicionaoculata</i> <i>Petrobionama ssiliana</i> <i>Pionevastifica</i>	<i>Pomatocerostriqueter</i> <i>Spirorbissp</i> <i>Protulasp</i>	<i>Callochitonseptemvalvis</i> <i>Emaginulaelon</i> <i>gata</i> <i>Palellalusitanica</i>	<i>Balanusimpr</i> <i>ovissus</i> <i>Balanusebur</i> <i>neus</i>	<i>HaliclonoOculata</i> <i>Mycale massa</i> <i>Myxillaincrustans</i> <i>Molgunamanhattensis</i>

Méioflore	<i>Peyssonnellasquamaria</i> <i>Caloplacaaurantla</i> <i>Cryptonemialomation</i> <i>Stictyosiphonadriaticus</i>
-----------	--

Identification des espèces épiphytiques



Conclusion

Cette étude, menée dans la côte Ouest Algérienne, en utilisant la plongée sous-marine comme outil d'investigation, reste préliminaire. Elle nous a permis d'établir un état des lieux sur la population de la grande nacre de plusieurs sites étudiés. Un mollusque bivalve considéré d'intérêt patrimonial dans le bassin méditerranéen et qui est très peu connu sur les côtes algériennes. Il importe de préciser qu'il s'agit d'une espèce remarquable, menacée dans de nombreuses régions de la Méditerranée, au même titre que la posidonie qui l'abrite. D'ailleurs, elle figure sur la liste des espèces bénéficiant d'un statut juridique de protection (Convention de Barcelone, liste de l'UICN) dans de nombreuses régions de la Méditerranée. Les premiers résultats obtenus confirment la présence d'espèce commune en Méditerranée, *P. nobilis*. Nous avons pu également répertorier la zone de concentration de la population de *P. nobilis*. Les épibiontes inventoriés n'ont pas de substrats préférentiels, ils se fixent aussi bien sur les valves des Pinnidés, que sur les substrats environnants.

Session : Sciences biologiques**CO16. Étude de quelques activités biologiques de l'écorce de fruit de *Punica Granatum*. Etude *in vitro* et *in vivo***^{(1)*} **N.H. Douaouri**, ⁽¹⁾ **N. Djebli**¹ Laboratoire de pharmacognosie et Api-phytothérapie, Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie; Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie**Téléphone :** 0771 94 74 01 **Mail :** nor.douaouri@gmail.com**Resumé :**

Les nombreux effets secondaires associés à l'utilisation de médicaments allopathiques ont conduit à un regain d'intérêt pour les médicaments ayurvédiques ^[1]. *Punica granatum* L. (Lythraceae), est utilisée dans plusieurs systèmes de médecine pour une variété d'affections ^[2,3]. La présente étude a pour objectif: l'analyse chimique, l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* et de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*, de l'extrait méthanolique de l'écorce de fruit de *Punica granatum*. Le criblage phytochimique de l'extrait méthanolique a permis de mettre en évidence la présence des principaux métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, tanins, et les flavonoïdes, qui pourraient être responsables des propriétés pharmacologiques. L'application de l'extrait méthanolique comme, anti-inflammatoire aux doses 250 mg/kg et 500 mg/kg, a réduit significativement l'œdème des pattes de souris, induit par la carragénine. Quant à l'évaluation du pouvoir antioxydant par le test de DPPH, a montré que l'extrait méthanolique est très actif (96.55%), comparativement avec l'antioxydant de synthèse (Vit C). L'étude pharmacologique confirme que *Punica granatum* est réellement doté d'un potentiel thérapeutique certain.

Mots clés : *Punica granatum*, extrait, activité ; antioxydante, anti-inflammatoire.

Introduction

L'inflammation est de loin le problème de santé le plus fréquent auquel nous sommes confrontés au cours de nos vies. Elle est associée à chaque infection qui se produit dans le corps, telles que la grippe ou des infections pulmonaires. Mais l'inflammation ne se limite pas uniquement à des infections, elle est également associée à des maladies courantes telles que l'artériosclérose et les maladies cardiovasculaires, l'arthrite, ainsi que des processus cancéreux. En outre, l'inflammation est aussi la réponse de l'organisme à des blessures principalement «externes» tels que les coups de soleil, entaillures, et même une entorse de la cheville.

Devant l'augmentation considérable du nombre de pathologies inflammatoires et les effets secondaires des médicaments synthétiques anti-inflammatoires, de nombreux chercheurs de part le monde, s'associent dans la recherche des composés d'origine végétale qui pourraient palier ces cotés négatifs ^[4].

Les plantes médicinales ont longtemps été jugées utiles dans le développement de nouveaux médicaments et continuent à jouer un rôle important dans les processus de découverte de médicaments. Ces plantes sont relativement peu coûteuses, disponibles et leur utilisations dépendent de l'expérience ancestrale. La majorité des personnes dans les pays en développement restent dépendantes des plantes traditionnelles pour les soins de santé ^[5].

Punica granatum L., espèce appartenant à la famille des Lythracées, est comptée parmi les plantes médicinales le moins fréquemment employé dans notre pays à cause de l'ignorance de sa valeur thérapeutique. Les extraits de cette plante médicinale sont utilisés traditionnellement contre une multitude de maux tels que les dommages hépatiques, la morsure de serpent, l'ulcère, et l'arthrite ^[6]. Cette plante montre également une puissante activité antioxydante et gastro-protectrice *in vivo* contre les modèles d'ulcération gastrique induite par l'aspirine et l'éthanol ^[7].

La présente étude vise à évaluer l'activité antioxydante *in vitro* et l'activité anti-inflammatoire *in vivo*, de l'extrait méthanolique de l'écorce de fruit de *Punica granatum*.

I. Matériels et méthodes

I.1 Matériel végétal et préparation de l'extrait: Les fruits de *Punica granatum* ont été récoltés dans un verger de la commune de Beni Tamou, la Wilaya de Blida. Les fruits une fois récoltés, ont été soumis à un nettoyage à la main afin d'éliminer toute trace de poussière, puis ils ont été soumis à un pelage manuel. Les écorces sont mises aux conditions de séchages à l'abri de la lumière et de l'humidité, à une température ambiante pendant 3 semaines. Ils sont par la suite grossièrement broyés. L'extrait a été préparé au moyen d'un extracteur Soxhlet en utilisant le méthanol comme solvant pendant 4h, l'extrait obtenu est ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre Whatman n°1 puis concentré sous vide à 40 °C.

I. 2 Screening phytochimique

- a. **Tanins (Test du chlorure ferrique) :** 0,5g d'extrait sec est dissous dans 10 mL d'eau distillée bouillante. La solution est par la suite filtrée. Un échantillon de 1mL du filtrat a été mélangé avec quelques gouttes d'une solution de Fe Cl₃ à 6%. La réaction donne une coloration bleu-noir en présence des tanins ^[8].

- b. Alcaloïdes (Test de Dragendorff) :** 0,5g d'extrait sec sont dissout dans 5mL d'une solution d'HCl à 1%, le mélange est maintenu dans un bain-marie pendant 2min. La solution est filtrée ^[9]. Dans un tube, quatre à cinq gouttes de réactif de Dragendorff sont ajoutées à 1mL du filtrat. L'apparition d'une précipitation ou d'une floculation dans l'extrait après addition du réactif indique la présence des alcaloïdes.
- c. Flavonoïdes (Test d'acétate de plomb) :** Quelques gouttes d'une solution de 10% d'acétate de plomb ajoutées à 1 mL de la solution d'essai ont donné lieu à la formation d'un précipité jaune confirmant la présence des flavonoïdes ^[10]
- d. Stéroïdes et tritérpénoïdes (Test de Salkowski) :** 2 mg d'extrait sec a été dissout avec 1 mL de chloroforme et d'acide sulfurique concentré. Une couleur brun rougeâtre formée à l'interface indique que le test est positif pour tritérpénoïdes et les stéroïdes ^[11]
- e. Saponines :** Dans un tube à essai, 5 mL de la solution d'extrait a été bien agité pendant cinq minutes. La formation de mousse stable après 15min confirme le test ^[12]

I.3 Activité antioxydante *in vitro*

1 ml de diverses concentrations (0.008-0.5mg/mL) de l'extrait méthanolique d'écorces de fruit de *Punica granatum* a été prélevé dans des tubes secs contenant 2 mL d'une solution méthanolique de DPPH (4 mg/100 mL) ^[13]. Le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique vis-à-vis du radical libre DPPH a été évalué par spectrophotométrie à 517 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif. Le pourcentage d'inhibition (% I) du radical DPPH par les extraits méthanoliques, aqueux et le jus de fruit de *Punica granatum* est calculé comme suit : $\%DPPH = (Abs_T - Abs_E) / Abs_T * 100$ Où : % DPPH : Taux du DPPH piégé ou taux d'inhibitions ; Abs_T est l'absorbance du témoin (solution de DPPH –blanc) en (nm) ; Et l'Abs_E est l'absorbance de l'échantillon.

I.4 Activité anti-inflammatoire *In vivo*

Dans cette partie de l'expérience, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique a été étudiée sur l'œdème inflammatoire induit par la carragénine ^[14].

L'extrait méthanolique d'écorces de *Punica granatum* (250 et 500mg / kg) a été dissous et dispersé dans une solution saline physiologique (0,09%) et administré par voie orale pour des souris. Une solution saline physiologique (0,09%) a été administrée comme témoin. Une heure après l'administration du traitement, 50 µl d'une solution de 1 % de carragénine a été injecté par voie sub-plantaire dans les pattes postérieures droites de chaque souris dans tous les groupes. Le diamètre de la patte a été mesuré, à l'aide d'un pied de coulisse digital avant et après induction de l'œdème à des intervalles d'une heure pendant six heures.

Le pourcentage d'augmentation (% AUG) de l'œdème est calculé comme suit :

$\% \text{ AUG} = (D_n - D_0)/D_0 * 100$; où D_n est le diamètre de la patte la 1^{ème} heure après l'injection de la carragénine et D_0 est le diamètre de la patte avant l'injection de la carragénine.

Le pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème est calculé comme suit: $\% \text{ INH} = (\% \text{ AUG} - \% \text{ AUG}_{\text{témoin}}) / \% \text{ AUG}_{\text{témoin}} * 100$.

II. Résultats et Discussion

II.1 Screening phytochimique

Tableau I : Résultat du screening phytochimique de l'extrait de *Punica granatum*

Composés	Tests phytochimiques	Extrait méthanolique (EM)
Alcaloïdes	Test de Dragendorff	+++
Flavonoïdes	Test d'acétate de plomb	+++
Tanins	Test de Chlorure de fer	+++
Stéroïdes et tritérpénoïdes	Test de Salkowski	+++
Saponines	Indice de mousse	++

L'évaluation phytochimique des divers constituants de l'extrait méthanolique a été classée comme suit ; Elevée (+++), Modérée (++) , bas (+) et nulle (-) sur la base de l'intensité du produit de réaction coloré.

L'étude phytochimique révèle que l'extrait méthanolique de l'épicarpe de *Punica granatum* est riche en métabolites secondaires, notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les tritérpénoïdes, les stéroïdes et les saponines. La présence de ces différents phyto-constituants peut être responsable des propriétés thérapeutiques de la grenade.

Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Hagir et ses collaborateurs (2016)**, qui ont révélé la présence de tritérpénoïdes, de stéroïdes, de flavonoïdes, de tanins, d'alcaloïdes , de glycosides et de saponines dans les différents extraits d'écorces de fruit de *P. granatum* à savoir l'extrait de chloroforme, l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux.

II.2 Activité antioxydante *In vitro*

Il ressort de ces résultats que le pouvoir de piégeage du radical DPPH est dépendant de la concentration. Le pourcentage d'inhibition augmente progressivement jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'enrayement total du DPPH présent dans le milieu.

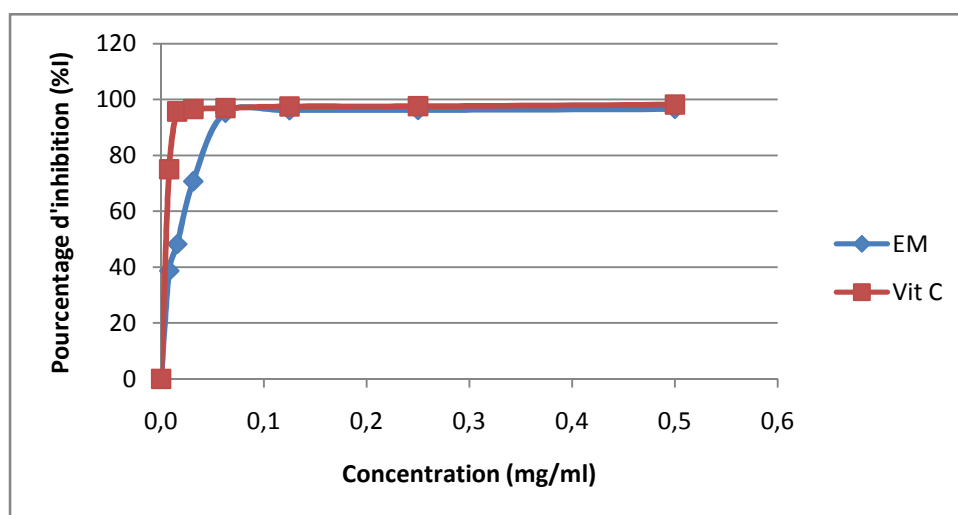


Figure 1 : Pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique d'écorce de fruit de *Punica granatum* et de l'antioxydant de référence la vitamine C par la méthode du piégeage du radical libre DPPH

Nous constatons également que pour l'extrait méthanolique, des pourcentages d'inhibition importants ont été atteints avec présence d'une phase stationnaire (saturation). Les pourcentages d'inhibition trouvés étaient de l'ordre de 95.20 % pour l'extrait méthanolique et 96.96 % pour la vitamine C, à une concentration de 0.063 mg/ml. **Zahin et al. (2010)** ont trouvé qu'à 80 µg/ml, l'extraction séquentielle des polyphénols d'écorces de grenade a donné des capacités d'inhibition du radical DPPH de 90.53%, 86.4% et 83.2% pour les fractions de méthanol, d'acétone et d'éthanol respectivement.

II.3 Activité anti-inflammatoire *In vivo*

Au cours du suivi des souris témoins et traitées pendant les six heures après l'injection de la carragénine, nous avons noté une augmentation du volume de la patte des souris de tous les lots dès la première heure de l'expérimentation. Cependant, l'inflammation est plus accentuée chez le lot témoin qui n'a reçu aucun traitement. Prouvant ainsi que la carragénine a induit une réaction inflammatoire engendrant un œdème (**Fig 2**).

Les souris prétraitées par le Diclofenac®, administré par voie orale, marquent une réduction significative de l'œdème des pattes droites postérieures. Cette diminution du pouvoir inflammatoire de la carragénine serait attribuée au pouvoir anti-inflammatoire du Diclofenac®, un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien.

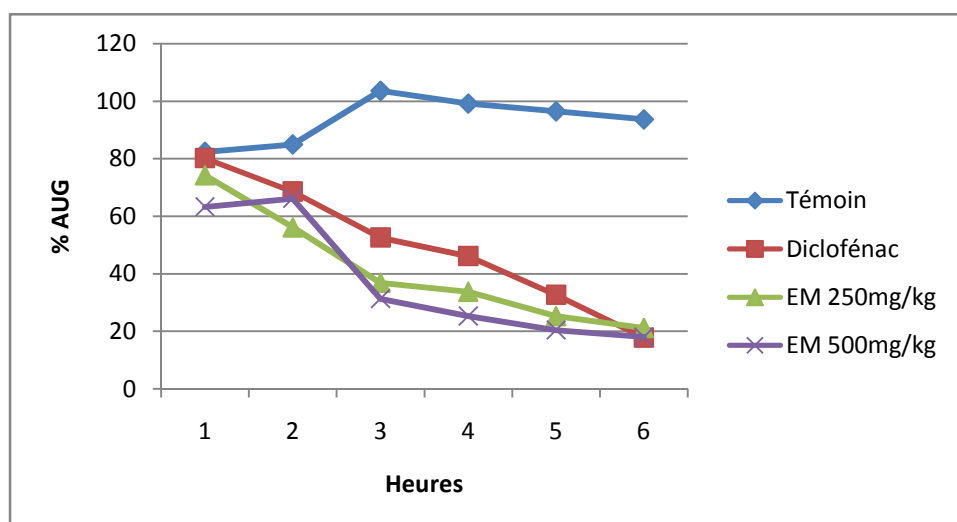


Figure 2 : Pourcentage d'augmentation des groupes : témoin, standard, extrait méthanolique (EM) à 250 et 500mg/kg

Nous remarquons que l'extrait méthanolique dans les deux doses (250 et 500 mg/kg p.c) produit des effets anti-inflammatoires causant une réduction très significative de l'œdème de la patte de souris induite par la carragénine en fonction de la dose. On note également qu'après 3 heures, les deux doses (250 et 500 mg/kg) ont présenté une réduction importante du volume de la patte de 64.37 % et 69.72% respectivement, comparé au groupe traité par le Diclofénac (49.19 %).

D'autre part, ces résultats concordent avec plusieurs recherches qui montrent que l'activité anti-inflammatoire de l'extrait peut s'expliquer en partie par la présence dans le fruit des composés polyphénoliques comme les tanins hydrolysables et les flavonoïdes (Zarfeshany et al., 2017).

Conclusion

Le présent travail nous a permis d'avoir une idée sur les métabolites secondaires que peut synthétiser *Punica granatum* et sur les éventuelles activités biologiques qui le caractérisent.

Dans la première partie, le criblage phytochimique basé sur des tests spécifiques a permis d'identifier les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes et saponines. L'extrait méthanolique a montré une bonne activité antioxydante. Les résultats obtenus à l'issu du test anti-inflammatoire montrent que l'extrait méthanolique des écorces de fruit de *Punica granatum* L., réduit de façon appréciable l'œdème induit par la carragénine. L'inhibition de l'œdème de l'extrait méthanolique est comparable, à celle du Diclofenac®.

Pour conclure, l'étude actuelle a prouvé que le fruit de *Punica granatum* dans son intégralité

Références :

- [1]: Bibak B., Khakshor A., Kamali H., Ahmadzadeh G.R. and Aminimoghadamfarouj N., 2012. Evaluation of antibacterial properties, phytochemical contents and antioxidant capacities of leaf and stem barks of *Uvaria grandiflora* Roxb.
- [2]: Bhandary S. K., Kumari S. N., Bhat V.S., Sharmila K.P. and Bekal, M. P, 2012. Preliminary phytochemical screening of various extracts of *Punica granatum* peel, whole fruit and seeds. *J Health Sci*, 35-38.
- [3]: Moghaddam G., Sharifzadeh M., Hassanzadeh G., Khanavi M., Dolatshahi F., Sadeghi N. et Hajimahmoodi M., 2014. Anti-Ulcerative Potential of *Punica granatum* Hydroalcohol Fruit Peel Extract. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 1093-1097.
- [4]: Mansour S., 2015. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L , *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboides* - Etude in vivo- Thèse de doctorat, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf.
- [5]: Mansour S., 2015. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L , *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboides* - Etude in vivo- Thèse de doctorat, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf.
- [6]: Kirtikar KR and Basu BD. 2000, Indian Medicinal Plants. Sri Satguru Publication. 5:1508-1513.
- [7]: Ajaikumar KB et al., 2003. The inhibition of gastric mucosal injury induced by aspirin and ethanol by *Punica granatum* Linn (Pomegranate) methanolic extract. *Amala Research Bulletin*. 23:153-161.
- [8]: Qnais EY, Elokda AS, Abu Ghalyun YY, Abdulla FA, 2007. Antidiarrheal Activity of the Aqueous Extract of *Punica granatum* (Pomegranate) Peels. *Pharmaceutical Biology*, 45(9), 715–720.
- [9]: Wagner H and Bladt S., 1996. Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas. Springer 2nd.
- [10]: Agarwal A, Singhvi IJ, Bele D, Sharma K, Gupta SK., 2011. Evaluation of steroids in face creams of different marketed brands. *International J Pharmacy & Technology*, 3(2), 2480-2486
- [11]: Hajoori M., Naik M., Naik, S K. Bhagwan Desai., 2014. EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Punica granatum* PEEL EXTRACTS USING DIFFERENT SOLVENT SYSTEM. *International Journal of Pharmacological Screening Methods. Vol 4, Issue 1*; 26-31.
- [12]: BURITS M., BUCAR F, 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, 323–328
- [13]: Winter C A, Risley E A, Nuss G W (1962) .Carrageenin-induced oedema in hind paw of the rats as an assay of anti-inflammatory drug. *Proc Soc Exp Biol Med* 111: 544–7.
- [14]: Hagir G. Abd Elaleem, Alsheikh A. Albasheer, Khadiga G. Abd Elaleem, 2016. Phytochemical Screening And antibacterial Activity Of *Punica granatum* Fruit Rind Extracts. *Global Journal of Medicinal Plant Research*; 4(4): 9-15
- [15]: Zahin M, Iqbal A, Farrukh A., 2010. Antioxidant and antimutagenic activity of *Carum copticum* fruit extracts. *Toxicol in vitro*; 24(4):1243–1249. doi: 10.1016/j.tiv.2010.02.004
- [16]: Kim H P., Lim H., Kwon Y S., 2017. Therapeutic Potential of Medicinal Plants and Their Constituents on Lung Inflammatory Disorders. *Biomolecules & Therapeutics*; 25:91-104.
- [17]: Zarfeshany A, Asgary S, Javanmard SH., 2014. Potent health effects of pomegranate. *Advanced Biomedical Research*. 3:100. doi:10.4103/2277-9175.129371.

CO17. Lithiase et infection urinaire

BOUZANA fatma, SBAHI Khayra, KACEM Brahim,

Unité de recherche « lithiase », Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Mostaganem, Algérie.

Numéro de téléphone : 0797574492.

Email : bouzana.fatima@yahoo.fr

Introduction

La cristallurie positive est un témoin des facteurs de risques lithogènes plus ou moins affirmés par la présence de cristaux inducteurs tels que l'oxalate de calcium, les phosphates et la cystine (Daudon, 1987). L'implication de l'infection urinaire dans la formation des lithiases ainsi que le rôle cristallogène de certains micro-organismes ont été soulignés par beaucoup d'auteurs (Dussol *et al.*, 1993 ; Tuma *et al.*, 2001).

A cet effet, nous proposons un suivi de la cristallurie associée à une étude de l'influence de l'infection sur la formation des cristaux chez lithiasiques, et de malades ayant d'autres pathologies uro-néphrologiques mais sans formation de calculs (Non lithiasiques).

Matériel et Méthodes

Un nombre de 700 échantillons d'urines du matin, provenant de lithiasiques et des malades souffrant de douleurs nephretiques (mais sans formation de lithiase), ont été collectées et analysées. L'urine est homogénéisée par retournement pour être ensuite analysée par un examen cytot bactériologique (ECBU), suivi d'une étude de la cristallurie.

Pour l'examen microbiologique, un prélèvement a été effectué à l'aide d'une pipette Pasteur et déposé sur une cellule de Malassez et analysé par un microscope optique à polarisation (Zeiss). L'étude des cristaux comporte une recherche et une identification de toutes les espèces cristallines présentes. Les cristaux ont été identifiés selon leurs morphologies et leurs caractéristiques suivant les critères décrits par d'autres travaux (Daudon *et al.*, 2003 ; Daudon *et al.*, 2004).

Résultats

1. Fréquence de l'infection

L'étude cytot bactériologique a montré que l'infection urinaire était présente chez 23,33% des lithiasiques et 12,58% des malades SL, jugée sur la leucocyturie, l'examen direct et l'identification des germes. Les résultats de cette étude sont représentés dans la figure 01.

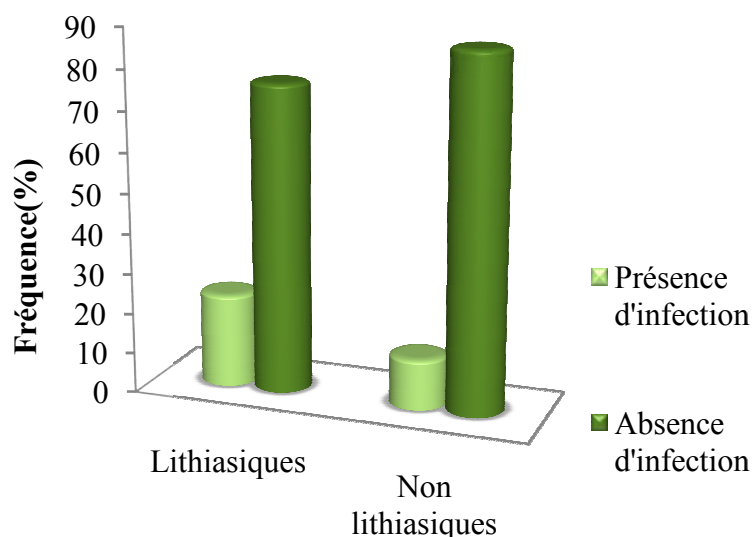


Figure 01 : Fréquence de l'infection urinaire chez les Lithiasiques et Non lithiasiques

2. Corrélation entre l'infection urinaire et cristallurie

Deux types de cristallurie peuvent être envisagés : la cristallurie positive et négative. La cristallurie positive est un témoin des facteurs de risques lithogènes plus ou moins affirmés par la présence de cristaux inducteurs tels que l'oxalate de calcium, les phosphates et la cystine (Daudon, 1987).

La figure 02 montre bien le rôle cristallogène de l'infection. Les fréquences de cristallurie positive chez les lithiasiques et les malades SL souffrant d'une infection urinaire sont 96,42% et 32,87% respectivement.

La figure 03 nous montre que les espèces cristallines les plus fréquemment rencontrées chez les lithiasiques souffrant d'une infection urinaire sont les PACC (41,66%), suivi par la weddellite (36,11%), et la struvite (13,88%). La whewellite, AUD et UAC sont présentes dans les urines avec la même fréquence de 2,77%. Chez les malades SL, la dominance était pour les PACC avec 33,33% suivi par les UAC avec 23,33%, et weddellite avec une fréquence de 9,25%.

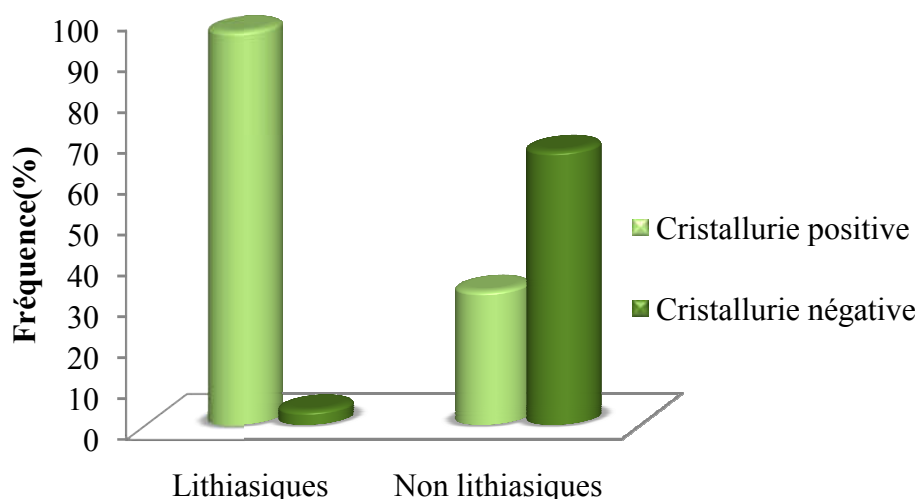


Figure 02: Fréquence de cristallurie positive et négative chez lithiasiques et non lithiasiques.

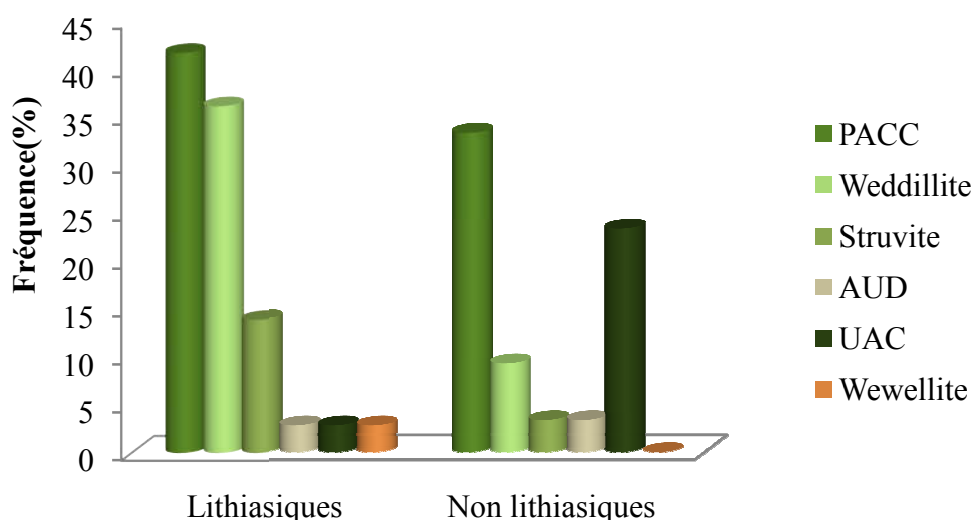


Figure 03: Nature et fréquence des espèces cristallines détectées dans des urines chez les patients lithiasiques et non lithiasiques. Weddellite (oxalate de calcium dihydraté), Whewellite (oxalate de calcium monohydraté), PACC (phosphates amorphes de calcium carbonaté), Struvite (phosphate ammoniacal magnésien hexahydraté), Brushite (phosphate de calcium dihydraté), UAC (urates amorphes complexes), AUD : acide urique dihydraté.

La figure 04 montre que le germe le plus souvent rencontré chez les lithiasiques était *Proteus sp* avec une fréquence de 35,71%, suivi par *E. coli* avec 21,42%. Chez les malades SL, la dominance était pour *E. coli* avec une fréquence de 22,22% suivi par *Staphylococcus sp*, *Proteus sp* et *Enterobacter sp* (même fréquence de 11,11%).

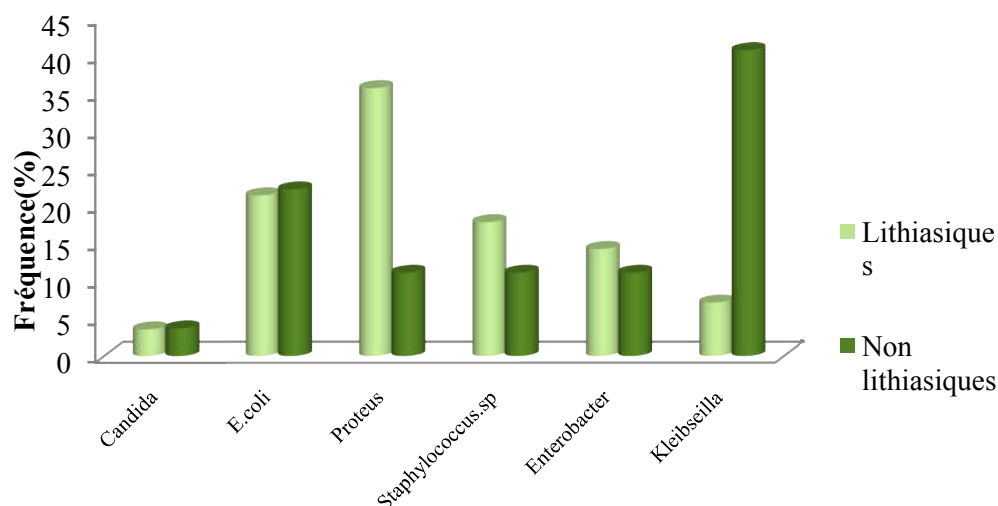


Figure 04: Fréquences des différents germes identifiés chez les lithiasiques et non lithiasiques présentant une cristallurie positive.

DISCUSSION

L'infection urinaire est un facteur de risque de lithogénèse (Netelenbos, 2005). La littérature montre clairement que la proportion de lithiase associée à une infection urinaire est beaucoup plus élevée chez la femme que chez l'homme, quelque soit la composition des calculs (Holmgren, 1989; Daudon, 1990).

Notre étude cyto bactériologique a montré que l'infection urinaire était présente chez les lithiasiques dans 23,33% des cas. Cette fréquence est moins importante par rapport aux résultats trouvés par plusieurs chercheurs (Daudon, 1990 ; Belhadji *et al.*, 2004) où le taux de l'infection atteint 30%. Chez les malades SL, l'infection urinaire touche 12,58% des cas, jugée sur la leucocyturie, résultats de l'examen direct, et l'identification des germes.

Chez les lithiasiques souffrant d'une infection urinaire, la fréquence de cristallurie étaient de 96,42%. Cela nous montre que l'infection urinaire est un facteur de risque de la lithogénèse. Ces résultats confirment ceux obtenus par d'autres travaux (Netelenbos *et al.*, 2005).

Les espèces cristallines les plus fréquemment rencontrées chez les lithiasiques souffrant d'une infection urinaire sont les PACC avec 41,66%, suivi par la weddellite avec 36,11%, et la struvite avec une fréquence de 13,88%. Le germe le plus dominant était *Proteus sp* (35,71%) suivi par *E.coli* (21,42%).

Si le rôle lithogène des germes uréasiques est bien connu (Grihith *et al.*, 1987), celui du colibacille et d'autres espèces bactériennes réputées dépourvues d'uréase est moins clair.

Certaines souches d'*E.coli* sont capables d'induire la cristallisation de la struvite, bien que ce germe soit reconnu dépourvu d'uréase. Ce phénomène pourrait être dû à une production d'uréase lente par certaines souches d'*Escherichia coli*. En effet, il a été montré que différentes bactéries isolées d'urines humaines (dont le colibacille) incubées dans un milieu dépourvu de source azotée à l'exception de l'urée, sont capable de synthétiser transitoirement une uréase pour satisfaire leurs besoins métaboliques (Sabinski *et al.*, 1996).

CONCLUSION

La cristallurie témoigne de la sursaturation des urines, en une ou plusieurs substances, éliminées par le rein. La présence de cristaux urinaires n'est pas, sauf cas particuliers, pathologique en soi. Cependant, chez un sujet lithiasique, ou dans certains contextes pathologiques, la cristallurie peut être un indicateur très utile de la pathologie observée. Dans notre étude on a constaté que le rôle cristallogène de l'infection urinaire a été vérifié chez les lithiasiques et les malades SL. La corrélation entre l'infection urinaire et la présence de cristaux a montré que les espèces cristallines les plus fréquemment rencontrées chez les lithiasiques sont les PACC suivi par la weddellite et la struvite. Le germe le plus souvent rencontré était *Proteus sp* suivi par *E.coli*. Donc on peut conclure que la cristallurie est un examen efficace qui peut nous aider à diagnostiquer la maladie lithiasique comme à dépister l'infection urinaire.

Références bibliographiques

- Belhadji. A, kacem.B, Kaid-Omar.Z, Daudon.M, Addou.A. Etude des relations entre infection urinaire et lithiase rénale dans l'Ouest Algérien. *Eurobiologiste*, N° 269, Janvier-Février 2004.
- Daudon. M. Lithiase urinaire et infection. *L'eurobiologiste* 1990;24: 257-264.
- Daudon.M. Cristallurie. Aspects pratiques et interprétations / I. *Aspects pratiques Feuilles de biologie* (1987), 28 :25-40.
- Daudon M, Cohen Solal F, Lacour. Etude de la cristallurie : réalisation pratique et signification clinique. *Feuilles de biologie*, 43 : 31-53 (2003).
- Daudon M. P. Jungers, B. Lacour. Intérêt clinique de l'étude de la cristallurie. *Ann BiolClin* 2004, 62 :379-393.
- Dussol B., Lechevalliere E. et Berland Y. Particularités des lithiases en dehors des lithiases calciques : Lithiase infectieuse.- *EncyclMédChir, Néphrologie-Urologie*, 1993.
- Grihith.DP, Osborne. CA. Infection (urease) stenes. *Miner Electrolytr Metab*1987; 13:278-285.
- Holmgren K, Danielson BG, Fellström B, Ljunghall S, Niklasson F, Wikström B. The relation between urinary tract infections and stone composition in renal stone formers. Department of Urology, University Hospital, Uppsala, Sweden. *Scand J Urol Nephrol*.1989;23(2):131-136.
- Netelenbos JC, Zwijnenburg PJ, ter Wee PM. Risk factors determining active urinary stone formation in patients with urolithiasis. *ClinNephrol*2005;63:188—92.

Sabinski.F, Leusmann.DB. Potential contribution of optional urease-positive bacteria to idiopathic urinary calcium stone formers. I. expression of urease activity in bacteria from the urinary tract that are commonly classified as urease-negative. *UrolRes* 1996; 24: 51-54.

Tuma.J, Hess.B. Néphrolithiase. Epidémiologie, physiopathologie, colique néphrétique, imagerie diagnostique. *ForumSuisse*, N°41, 2001.

Valeri A, Joulin V, Fournier G. Prostatites. *Encycl Med Chir, Néphrologie Urologie*, 1998.

Weiss M.A. Effets rénaux du blocage du système rénine-angiotensine : antagonistes des récepteurs ATI de l'angiotensine II versus inhibiteurs de l'enzyme de conversion chez l'insuffisant rénal hypertendu. *Th.:pharmacie:Strasbourg*: 1998.

CO18. Analyse morpho-constitutionnelle d'une série de 119 calculs urinaires.

SBAHI Khayra¹, Bouzana Fatima¹, KACEM Brahim¹, MICHEL Daudon², ADDOU Ahmed¹, ATTAR Abderahmane³.

1- Laboratoire STEVA, département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie , université de Mostaganem, Algérie.

2- Laboratoire de la lithiase, service d'explorations fonctionnelles, hôpital tenon, Paris.

3- Service d'Urologie du centre hospitalier universitaire d'Oran (CHU).

Email : sb_kheira@hotmail.fr

Résumé

Un calcul n'est pas seulement un obstacle, parfois douloureux, sur les voies urinaires justifiant un geste urologique d'urgence pour rétablir leur perméabilité. C'est avant tout le symptôme de pathologies cristallogènes ou de déséquilibres urinaires d'origine nutritionnelle dont la récurrence est la règle si la cause n'en a pas été correctement identifiée. Il est donc recommandé, dans l'intérêt du patient, d'analyser le calcul ou ses fragments pour déterminer sa composition et sa structure, l'une et/ou l'autre orientant vers la pathologie en cause.

Notre étude a porté sur 119 calculs traités chirurgicalement ou expulsés spontanément collectés à partir du centre hospitalier universitaire et de l'établissement Hospitalier Universitaire d'Oran. Les calculs obtenus sont séchés à l'air libre pendant 24 heures pour être ensuite analysés par un examen optique et par infrarouge à transformée de Fourier I.R.T.F.

Dans notre série, le rapport H/F trouvé était égal à 2,34. Cependant, si l'on considère l'âge des patients, on note que la tranche d'âge la plus affectée est celle entre 35 et 60 ans avec une fréquence de 56,6%. L'étude de la localisation anatomique des calculs a montré une prédominance du haut appareil urinaire avec un taux de 81,6%. Concernant la composition des calculs analysés, on note que le constituant principal est l'oxalate de calcium qui était majoritaire dans 69,2% des calculs. L'acide urique anhydre était le composant majoritaire dans 6,8% des calculs analysés.

Les caractéristiques de cette maladie rejoignent celles rapportées dans les pays

industrialisés et témoignent de l'augmentation progressive du niveau socio-économique dont la lithiase est souvent le reflet. Les examens utilisés dans cette étude sont d'excellents outils qui apportent de nombreux bénéfices pour le diagnostic et la prise en charge des lithiasiques.

Mots clé : lithiase urinaire, calcul, oxalate de calcium, acide urique, phosphates de calcium.

1. Introduction

Un calcul n'est pas seulement un obstacle, parfois douloureux, sur les voies urinaires justifiant un geste urologique d'urgence pour rétablir leur perméabilité. C'est avant tout le symptôme de pathologies cristallogènes ou de déséquilibres urinaires dont la récurrence est la règle si la cause n'en a pas été correctement identifiée. Il est donc recommandé, dans l'intérêt du patient, d'analyser le calcul ou ses fragments pour déterminer sa composition et sa structure, l'une et/ou l'autre orientant vers la pathologie en cause. La majorité des calculs relève de mauvaises habitudes alimentaires, mais certains sont la conséquence de maladies métaboliques, génétiques ou acquises dont l'identification précoce est indispensable, pour éviter la récurrence de calculs, mais surtout pour proposer rapidement des solutions thérapeutiques adaptées afin de ralentir ou d'éviter la survenue des complications rénales, osseuses, ou cardiovasculaires qui font toute la gravité de ces maladies. [Daudon, 2007].

Dans cette étude, nous avons étudié différents paramètres de la lithiase urinaire. Premièrement, une classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires a été faite, suivie par une étude de l'implication des facteurs de risque épidémiologiques tels que l'âge, le sexe et la localisation anatomique sur la nature des lithiases et dans le processus de formation des calculs. Cela a été réalisé sur une série de 119 calculs urinaires provenant des hôpitaux de l'Ouest Algérien.

2. Etude expérimentale

Notre étude a porté sur 119 calculs traités chirurgicalement ou expulsés spontanément collectés à partir du centre hospitaliers universitaire et de l'établissement Hospitalier Universitaire d'Oran. Les calculs obtenus sont séchés à l'air libre pendant 24 heures pour être ensuite analysés par un examen optique et par infrarouge à transformée de Fourier I.R.T.F.

3. Résultats

3.1. Répartition des lithiasiques selon le sexe

Dans notre étude, on a remarqué aussi une prépondérance masculine avec une fréquence de 70,1% contre seulement 29,9% chez la femme (soit un rapport H/F de 2,34). Ces résultats sont identiques à ceux observés en France par Daudon *et al* en 1995 (70,1% chez l'homme

contre 29,9% chez la femme), alors qu'elle est supérieure à ceux trouvés en Espagne par Grases *et al* en 1994 (56,4% chez l'homme et 43,6% chez la femme).

3.2. Répartition des lithiasiques selon l'âge

Les comportements alimentaires de l'homme et son métabolisme évoluent avec l'âge. D'autre part le risque de développer certaines pathologies susceptibles de favoriser la formation des calculs n'est pas le même à tout âge. La conséquence est la fréquence des constituants lithiasiques qui est extrêmement différente selon l'âge. Le risque de développer une lithiase calcium-dépendante est beaucoup plus élevé avant 30 ans alors que celui de faire une lithiase urique est beaucoup plus élevé après 70 ans [Jungers, Daudon et Le Duc, 1989].

Les résultats que nous avons obtenus et qui sont résumés dans la figure 1 montrent que 56,6% des lithiasiques étaient âgés entre 35 et 60 ans. Les lithiasiques âgés de moins de 15 ans représentaient seulement 1,9%, ceux âgés entre 16 et 34 ans représentaient 16%. 25,5% des lithiasiques étaient âgés de plus de 60 ans.

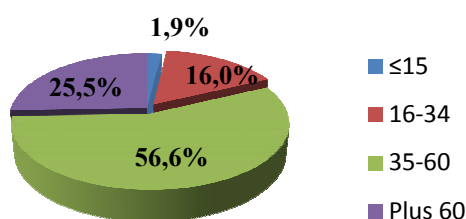


Figure 1: Répartition des lithiasiques selon l'âge.

3.3. Répartition selon la localisation

La répartition des calculs étudiés en fonction du sexe et de la localisation anatomique globale a donné les résultats illustrés dans la Figure 2. La majorité des calculs sont localisés au niveau du haut appareil urinaire avec 81,6% (75,4% chez l'homme et 100% chez la femme) contre 18,4% au niveau de la vessie (24,6% chez l'homme et absence totale chez la femme).

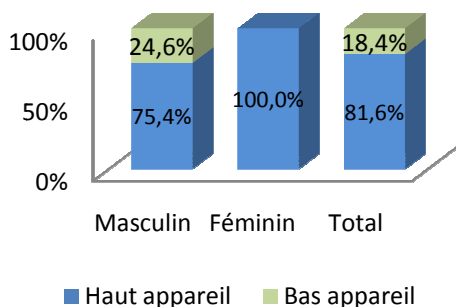


Figure 2: Localisation des calculs chez les deux sexes.

La répartition des calculs selon la localisation anatomique en fonction du sexe montre que la majorité des calculs sont logés dans le rein gauche avec un taux de 32,9% (28,6% chez l'homme et 45,5% chez la femme) (Tableau 1). Les calculs du rein droit représentent 16,5% (19% chez l'homme et 9,1% chez la femme). L'uretère gauche et l'uretère droit représentent les fréquences de 15,3 et 12,9% respectivement avec une prédominance du côté gauche chez le sexe masculin et du côté droit chez le sexe féminin. Le reste des calculs et qui représente 18,8% a été localisé au niveau de la vessie avec une dominance du sexe masculin.

Tableau 1: Localisation anatomique selon le sexe.

Localisation anatomique	Masculin	Féminin	TOTAL
Rein gauche	28,6	45,5	32,9
Rein droit	19	9,1	16,5
Uretère gauche	15,9	13,6	15,3
Uretère droit	6,3	31,8	12,9
L. bilatérale	4,8	-	3,6
Vessie	25,4	-	18,8

L'étude de la répartition anatomique en fonction des tranches d'âge représentée par le tableau 2, montre que la lithiase du haut appareil urinaire dominait chez les adultes. Cette prépondérance est plus importante chez les lithiasiques âgés entre 35 et 60 ans et ceux âgés de 16 à 34 ans avec 90,2 et 85,7% respectivement.

Tableau 2: Localisation des calculs selon l'âge.

Tranches d'âge	Haut appareil	Bas appareil
≤15 ans	50	50
16-34 ans	85,7	14,3
35-60 ans	90,2	9,8
Plus 60 ans	60	40

Une distribution plus fine des calculs en fonction des tranches d'âge montre que le rein gauche est le siège préférentiel de la lithiase chez les patients âgés entre 16 et 60 ans avec une fréquence plus élevée chez les lithiasiques âgés entre 35 et 60 ans (37,7%). Chez les lithiasiques plus âgés (plus de 60 ans), la lithiase vésicale dominait avec une fréquence de 40% (Tableau 3).

Tableau 3: Localisation anatomique des calculs selon l'âge.

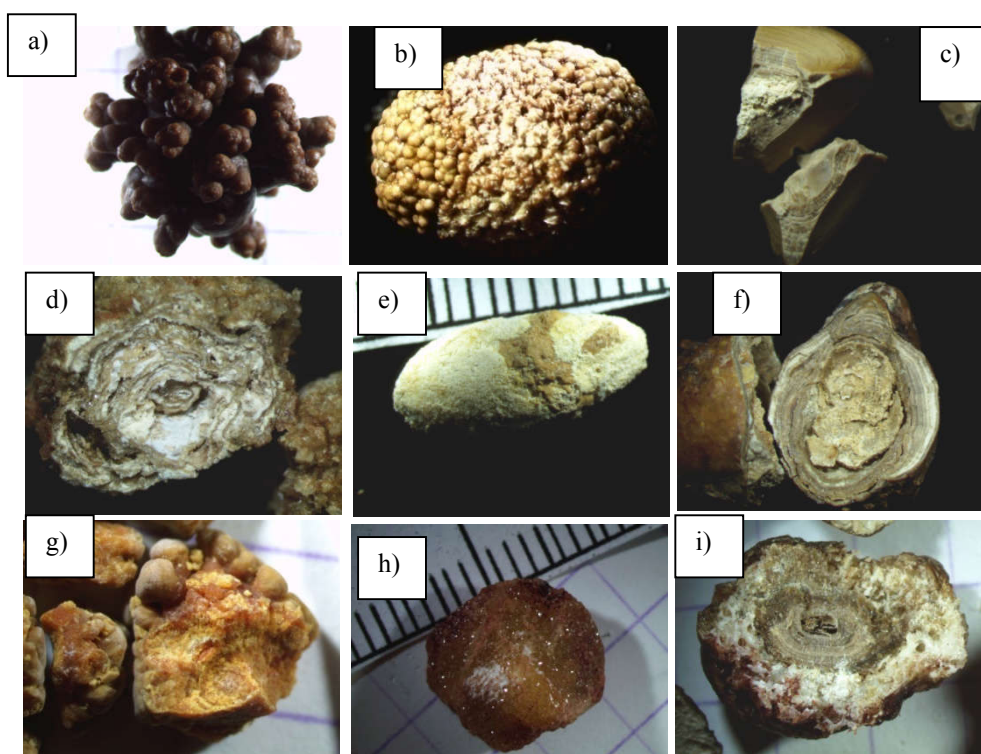
Tranche d'âge Localisation anatomique	≤15 (%)	16-34 (%)	35-60 (%)	Plus 60 (%)
Rein gauche	-	28,6	34,7	35
Rein droit	50	14,3	20,4	5
Uretère gauche	-	21,4	14,3	15
Uretère droit	-	21,4	14,3	5
L. bilatérale	-	-	6,1	-

Vessie	50	14,3	10,2	40
--------	----	------	------	----

3.4. Etude de la composition chimique des calculs

Des exemples de calculs analysés sont présentés dans la figure 3. Dans l'Ouest Algérien, comme dans les autres pays, le composant principal des calculs est l'oxalate de calcium qui était majoritaire dans 61,2% des calculs. Les phosphates prédominent dans 26,6% des cas et l'acide urique dans 8,1% des calculs [Harracheet *al.*, 1997].

Figure 3: Quelques types morphologiques de calculs urinaires collectés au niveau des hôpitaux de l'Ouest Algérien.



- Calcul mamelonné d'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) de type Ia. Dimensions : 16x16x13 mm.
- Calcul d'oxalate de calcium présentant une conversion cristalline weddellite – whewellite très avancée. De type Ia + IIb. Dimensions : 17x12x10 mm.
- Calcul de whewellite de type Id de surface lisse homogène avec faces d'accolement. Le centre est de type IIIc (urate acide d'ammonium). Dimensions moyennes : 9x7x5 mm.
- Calcul d'oxalate de calcium dihydraté (weddellite) de type IIa (en surface) présentant des cristaux bipyramidaux aplatis. Section de type (IIa + IVa)c formée de couches concentriques alternées de carbapatite et de weddellite. Dimensions : 12x8x7 mm
- Calcul à surface hétérogène de type IVb composé de carbapatite et de struvite. Dimensions : 12x06x04 mm.
- Calcul hétérogène de type Ia + IVb + VIb. Section concentrique en périphérie avec une zone rétractée cavitaire au centre, formé de : Whewellite + Protéines + Palmitate de Calcium + Whitlockite + Carbapatite. Dimensions : 18x15x12 mm.
- Fragments de calcul de surface lisse, bourgeonnante, couleur ocre à orangé. Section radiale diffuse, inorganisée au centre de type IIIb.
- Calcul à surface cristalline homogène de type Va, composé de cystine pure. Dimensions : 11x10x07 mm.

- i) Calcul hétérogène, mamelonné, bosselé. Noyau : concentrique lâche, couleur gris à brun foncé. Masse centrale concentrique de couleur brunâtre, entourée d'une matrice molle alvéolée. De type VIb + Ia + IVa+ IIIc. Composé de : Protéines + whewellite (C1) + Urate acide d'ammonium anhydre (UrAm) + carbapatite + traces de Weddellite (C2). Dimensions: 17x15x15 mm.

Dans notre étude, l'oxalate de calcium est toujours le constituant majoritaire le plus fréquemment rencontré avec une fréquence de 69,2% (74,4% chez l'homme et 57,2% chez la femme) où la dominance était pour la whewellite (Tableau 4). La carbapatite était le compostant majoritaire dans 10,3% des cas (17,1% chez la femme et 7,3% chez le sexe masculin), suivie par la struvite qui était majoritaire dans 7,7% des calculs étudiés. L'acide urique anhydre représente 6,8% des cas avec une fréquence plus élevée chez le sexe masculin.

Pour mieux apprécier la lithogénèse des calculs, l'analyse du noyau devient de plus en plus importante pour connaître l'histoire de sa formation. Le tableau 5 regroupe les composants majoritaires des noyaux des calculs étudiés. Les calculs nucléés majoritairement sur l'oxalate de calcium représentent 60,7% des cas (63,4% chez l'homme et 54,3% chez la femme) où la dominance était pour la whewellite qui est 4 fois plus fréquente que la weddellite. Pour la carbapatite, la fréquence est de 16,2% suivie par la struvite avec 8,5%. Les autres composants restent minoritaires avec des fréquences qui varient entre 0,9 et 1,7%.

Au total, la distribution des calculs selon la fréquence de composants lithiasique nous montre, selon le tableau 6, que la whewellite et la carbapatite étaient les composants les plus répandus dans les calculs analysés, avec la même fréquence dans (70,9%) (Avec une prédominance chez le sexe féminin pour les deux composants) contre 53,8% pour la weddellite (57,1% pour le sexe féminin et 52,4% pour le sexe masculin). Les protéines étaient identifiées dans 34,2% des calculs. Pour les composants signant l'infection, les fréquences étaient de 13,7% pour la struvite, 7,7% pour le PACC, 5,1% pour la whitlochite, 4,3% pour l'urate d'ammonium et 2,6% pour le palmitate de calcium. Quant à l'acide urique anhydre 8,5%. Il est le seule composant présent d'avantage dans les calculs du sexe masculin.

Tableau 4: Composants majoritaires des calculs étudiés selon le sexe.

Composant majoritaire	Masculin n^{bre} (%)	Féminin n^{bre} (%)	TOTAL n^{bre} (%)
Oxalate de calcium	61 (74,4%)	20 (57,2%)	81 (69,2%)
Whewellite	44 (53,7%)	17 (48,6%)	61 (52,1%)
Weddellite	17 (20,7%)	3 (8,6%)	20 (17,1%)
Carbapatite	6 (7,3%)	6 (17,1%)	12 (10,3%)
Acide urique anhydre	6 (7,3%)	2 (5,7%)	8 (6,8%)
Struvite	7 (8,5%)	2 (5,7%)	9 (7,7%)
Calcite	1 (1,2%)	1 (2,9%)	2 (1,7%)
PACC	1 (1,2%)	0	1 (0,9%)

Cystine	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)
Protéines	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)
Palmitate de calcium	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)
Cholestérol	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)

Tableau 5: Composants majoritaires des noyaux des calculs étudiés selon le sexe.

Composant majoritaire	Masculin (%)	Féminin (%)	TOTAL (%)
Oxalate de calcium	52 (63,4%)	19 (54,3%)	71 (60,7%)
Whewellite	41 (50%)	17 (48,6%)	58 (49,6%)
Weddellite	11 (13,4%)	2 (5,7%)	13 (11,1%)
Carbapatite	12 (14,6%)	7 (20%)	19 (16,2%)
Acide urique anhydre	6 (7,3%)	1 (2,9%)	7 (6%)
Struvite	8 (9,8%)	2 (5,7%)	10 (8,5%)
Urates acide d'ammonium	1 (1,2%)	0	1 (0,9%)
Calcite	1 (1,2%)	1 (2,9%)	2 (1,7%)
PACC	2 (2,4%)	0	2 (1,7%)
Cystine	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)
Protéines	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)
Palmitate de calcium	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)
Cholestérol	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)
Urates acide de sodium	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)

Tableau 6: Fréquences des composants lithiasiques des calculs étudiés selon sexe.

Composant lithiasique	Masculin n^{bre} (%)	Féminin n^{bre} (%)	TOTAL n^{bre} (%)
Whewellite	58 (70,7%)	25 (71,4%)	83 (70,9%)
Weddellite	43 (52,4%)	20 (57,1%)	63 (53,8%)
Carbapatite	57 (69,5%)	26 (74,3%)	83 (70,9%)
Protéines	25 (30,5%)	15 (42,9%)	40 (34,2%)
Acide urique anhydre	8 (9,8%)	2 (5,7%)	10 (8,5%)
Struvite	11 (13,4%)	5 (14,3%)	16 (13,7%)
PACC	5 (6,1%)	4 (11,4%)	9 (7,7%)
Urates acide d'ammonium	2 (2,4%)	3 (8,6%)	5 (4,3%)
Calcite	1 (1,2%)	1 (2,9%)	2 (1,7%)
whitlockite	4 (4,9%)	2 (5,7%)	6 (5,1%)
Cystine	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)
Palmitate de calcium	1 (1,2%)	2 (5,7%)	3 (2,6%)
Urate acide de sodium	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)
Mucopolysaccharides	2 (2,4%)	1 (2,9%)	3 (2,6%)
Cholestérol	0	1 (2,9%)	1 (0,9%)

4. Discussion

La prédominance masculine de la lithiase urinaire est mentionnée pratiquement dans toutes les études du moins jusqu'à la dernière décennie, la proportion étant de 2 à 3 hommes

pour une femme [Danuseret *al.*, 2002]. Globalement dans l'Ouest Algérien le rapport homme/femme est de 2,23 dans l'étude réalisée en 2006 par Djelloulet *al.*, 2006, de 2,22 dans l'étude réalisée par Harracheet *al.*, en 1997 et de 2,6 dans celle effectuée en 1999 par Kaid-Omar *et al.* Dans notre série, le rapport H/F trouvé était égal à 2,34, ce qui reste très proche de ces résultats. Cependant, si l'on considère l'âge des patients, on note que la tranche d'âge la plus affectée est celle entre 35 et 60 ans avec une fréquence de 56,6%.

La lithiase urinaire du haut appareil est devenue largement dominante dans les pays développés et même dans les pays en développement [Daudonet *al.*, 2008]. Nos résultats ne font pas exception. L'étude de la localisation anatomique des calculs a montré une prédominance du haut appareil urinaire avec un taux de 81,6%. 32,9 % des calculs étaient localisés dans le rein gauche contre 16,5 % seulement dans le rein droit. Cette localisation préférentielle au niveau du rein gauche a été aussi observée par Djelloul et al, en 2006, par Daudonet *al.*, en 1995.

Il existe plusieurs variétés chimiques de calculs rénaux, qui révèlent des mécanismes différents. Le calcul est un élément clef du diagnostic étiologique de toute pathologie lithiasique, non seulement parce qu'il témoigne des facteurs de sursaturation urinaire qui ont conduit peu à peu à sa formation, mais aussi parce qu'il est le témoin d'anomalies de composition des urines qui peuvent avoir été transitoires et ont disparu au moment de la découverte de la lithiase. De plus, en cas de lithogénèse très particulière (médicaments, composés génétiques rares ou composés métaboliques révélateurs d'une conjonction de facteurs lithogènes inhabituelle), le calcul, par sa nature spécifique, oriente immédiatement le diagnostic étiologique [Daudonet *al.*, 2012].

Concernant la composition des calculs analysés, on note que le constituant principal est l'oxalate de calcium qui était majoritaire dans 69,2% des calculs. Dans l'Ouest Algérien, le composant principal des calculs est l'oxalate de calcium dans 61,2% des cas [Harracheet *al.*, 1997]. Un taux de 66% a été trouvé par Daudonet *al.* en 1995. L'étude des grandes séries de calculs analysés dans divers pays industrialisés, montre que l'oxalate de calcium était présent dans 73% sur 14165 calculs étudiés à Zurich [Ljunghall, Felstrom et Johansson, 1988] et 79% des 2724 calculs analysés au Japon [Koideet *al.*, 1986].

L'acide urique anhydre était le composant majoritaire de 6,8% des calculs analysés. Il était présent dans 8,5% des cas avec une prédominance chez le sexe masculin. Un facteur favorisant la formation des calculs dans ce contexte métabolique est la stase urinaire induite par une hypertrophie de la prostate [Daudonet *al.*, 2003].

Malgré que certains constituants comme la carboxalate, les protéines, la struvite, le PACC, la whitlockite, l'urate d'ammonium et le palmitate de calcium, étaient les composants majoritaires les plus dominants, on note qu'ils étaient présents dans une grande partie de calculs analysés avec, parfois, des fréquences élevées surtout celles de 70,9 et 34,2% pour la carboxalate et les protéines, ce qui atteste que les infections des voies urinaires sont plus fréquemment impliquées dans le développement de ces calculs.

Conclusion

Même si le nombre de calculs pris en compte dans notre étude est faible, des tendances se dessinent. Les caractéristiques de cette maladie rejoignent celles rapportées dans les pays industrialisés et témoignent de l'augmentation progressive du niveau socio-économique dont la lithiase est souvent le reflet. Les propriétés physicochimiques des calculs évoluent, les phosphates de calcium ne constituent plus la phase majoritaire et l'oxalate de calcium le devient.

La fréquence des urates d'ammonium est relativement faible ce qui témoigne de l'élévation du niveau de vie de la population étudiée. La principale étiologie de la lithiase urinaire dans cette région est l'hyperoxalurie envisagée par la tendance remarquable vers la lithiase oxalocalcique plus particulièrement la forme monohydratée réputée résistante à la lithotritie extracorporelle.

Les examens utilisés dans cette étude sont d'excellents outils qui apportent de nombreux bénéfices pour le diagnostic et la prise en charge des lithiasiques.

Références bibliographiques

- DANUSER, H., GERBER, R., HOCHREITER, W., STUDER, U.E. Les calculs rénaux en médecine générale- quelle attitude adopter. *Forum Med Suisse*, 2002 ; 44, p. 1051-1057.
- DAUDON, M. Pourquoi et comment analyser un calcul urinaire. *Progrès en urologie. Formation médicale continue*, 2007, 17(4), p. 2-6.
- DAUDON, M., COHEN-SOLAL, F., LACOUR, B., JUNGERS, P. Lithiases et anomalies des voies urinaires : la composition des calculs est-elle indépendante de l'anomalie anatomique ? *Progrès en Urologie*, 2003, 13, p. 1320-1329.
- DAUDON, M., DONSIMONI, R., HENNEQUIN, C., FELLAHI, S., LE MOEL, G., PARIS, M., TROUPEL, S., LACOUR, B. Sex- and age-related composition of 10 617 calculi analyzed by infrared spectroscopy. *Urological research*, 1995, 23(5), p. 319-326.
- DAUDON, M., TRAXER, O., JUNGERS, P. *Lithiase Urinaire*, 2ème ed., Lavoisier, Médecine Sciences, Paris, 2012, 672 pages. ISBN : 978-2-257-20437-0.
- DAUDON, M., TRAXER, O., LECHEVALLIER, E., SAUSSINE, C. Epidémiologie des lithiases urinaires. *Progrès en urologie*, 2008, 18(12), p. 802-814.

- DJELLOUL, Z., DJELLOUL, A., BEDJAOUI, A., KAID-OMAR, Z., ATTAR, A., DAUDON, M., ADDOU, A. Lithiase urinaire dans l'Ouest algérien: étude de la composition de 1354 calculs urinaires en relation avec leur localisation anatomique, l'âge et le sexe des patients. *Progrès en Urologie*, 2006, 16(3), p. 328-335.
- GRASES, F., CONTE, A., MARCH, J.G., GENESTAR, C., COSTA-BAUZÁ, A., MARTIN, M., VALLESCAR, R. Epidemiology of urinary stone disease in the Balearic Islands Community. *International urology and nephrology*, 1994, 26(2), p. 145-150.
- HARRACHE, D., MESRI, Z., ADDOU, A., SEMMOUD, A., LACOUR, B., DAUDON, M. Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans l'ouest algérien par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. *L'Eurobiologiste*, 1997 ; 31(228), p. 69-74.
- JUNGERS, P., DAUDON, M., LE DUC, A. Epidémiologie de la lithiase rénale. *Lithiase urinaire*. Paris, édition Flammarion, médecine-scientifique, 1989, p. 1-34, 590p, ISBN-13: 978-2-257-10212-6.
- KAID-OMAR, Z., DAUDON, M., ATTAR, A., SEMMOUD, A., LACOUR, B., ADDOU, A. Corrélations entre cristalluries et composition des calculs. *Progrès en urologie*, 1999, 9, p. 633-641.
- KOIDE, T ; OKA, T ; TAKAHA, M ; SONODA, T. Urinary tract stone disease in modern Japan. Stone incidence, composition and possible causes in Osaka district. *European urology*, 1986, 12(6), p. 403-407.
- LJUNGHALL, S., FELLSTROM, B., JOHANSSON, G. Prevention of renal stones by a high fluid intake?. *European urology*, 1988, 14(5), p. 381-385.

Session : Sciences du végétal

CO19. Prospection et évaluation de l'intensité de la maladie d'*Alternaria spp* dans la zone de production de pomme de terre de la wilaya de Mostaganem

***Ouadah Fatiha, *Mahiout Djamel, *Bendahmane Boubekour Seddik**

*Département des sciences agronomiques, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem

Résumé

L'*Alternaria* s'inscrit comme la deuxième maladie fongique de la pomme de terre en végétation après le mildiou. La prospection sur terrain aux niveaux de parcelles de pomme de terre de saison et arrière saison durant la campagne agricole 2015-2016 dans différentes communes de la wilaya de Mostaganem a montré que les attaques d'*alternaria* se manifeste au stade de tubérisation et maturité sur la variété Spunta. L'*alternariose* est une maladie de fin de saison, elle se manifeste au début du mois d'avril pour la culture de saison et fin octobre pour l'arrière saison. Pendant le suivi on a observé que les tubercules plantés en mi décembre et début janvier sont plus sensibles que ceux mis en place plus tardivement (mi janvier - début février) pour la culture de saison. Par contre pour l'arrière saison les tubercules plantés au mois d'août sont plus sensibles que ceux entérés au mois de septembre.

En fonction des conditions météorologiques de cette année avec une alternance de périodes chaudes ($>25^{\circ}\text{C}$) et sèches avec des périodes humide (aspersion) le feuillage se trouve confronté à un risque important d'*Alternaria*.

Mots clés : *Alternaria*, maladie fongique, culture de saison et arrière saison, campagne agricole.

Introduction

L'alternariose est une maladie fongique qui se développe sur la pomme de terre (Blancard et al., 2012). Elle est causée par deux espèces à savoir *Alternaria solani* et *Alternaria alternata*. C'est la deuxième maladie fongique en végétation affectant la culture de pomme de terre après le mildiou (Agriculture, 2016). Moins connue que le mildiou ou l'oïdium; cette maladie provoque de 10 à 50% de pertes de rendement dans les cas les plus graves (Agriculture, 2016).

D'après Chassot (2016), elle s'attaque aux plants fragilisés et en premier lieu aux feuilles les plus basses (étages foliaires inférieurs, sénescents), elle provoque de ce fait de petites taches (0,2 mm-02 cm) de structures plus ou moins circulaires et anguleuses, avec des cercles concentriques, présentant un léger halo chlorotique (Agriculture, 2016).

Matériel et méthodes

Ce présent travail consiste à évaluer l'intensité de cette maladie dans la région de Mostaganem au cours de la campagne agricole 2015/2016, dans le but d'analyser les circonstances qui accompagnent l'apparition des symptômes de l'Alternariose. Pour cela nous avons réalisé une prospection au niveau de toutes les communes de la wilaya de Mostaganem sur plusieurs parcelles de pomme de terre de saison, d'arrière saison et de primeur.

Nous avons établi une échelle afin de suivre la maladie et d'observer la fréquence d'attaque..

0 - pas d'infection (absence de tache)

1 - moins de 1/10 de feuilles infestées

2 – 1/10 à 1/4 // //

3 – 1/4 à 1/2 // //

4 – plus de 1/2 // //

5 – feuilles mortes.

les échantillons des feuilles touchés par l'*Alternaria spp* sont prélevés et acheminés au laboratoire pour isoler l'agent pathogène pour identification. En parallèle des photos de symptômes d'*Alternaria* au niveau des parcelles et au niveau du laboratoire ont été prises.

L'isolement est effectué selon la méthode de Rappily, 1969, qui consiste à prélever des fragments de tissus infectés sur la périphérie des nécroses. Ces derniers sont stérilisés à

l'eau de javel à 2 ° colorimétrique, puis rincés dans trois baigns successifs d'eau distillée stérile, puis séchés sur du papier buvard stérile avant d'être déposés sur des boîtes de Petri contenant du milieu PDA.

Résultats et interprétation

Les figures N°01 et 02 représentent les communes où nous avons enregistré la présence d'*alternaria*, les résultats obtenus montrent la prédominance de l'attaque au niveau de la culture d'arrière saison. En effet la maladie est présente au niveau de 10 communes, contre 7 pour la culture de saison. Nous avons également remarqué que la maladie est présente sur cultures de pomme de terre de saison et d'arrière saison conduites dans les communes de Mostaganem et Mesra.

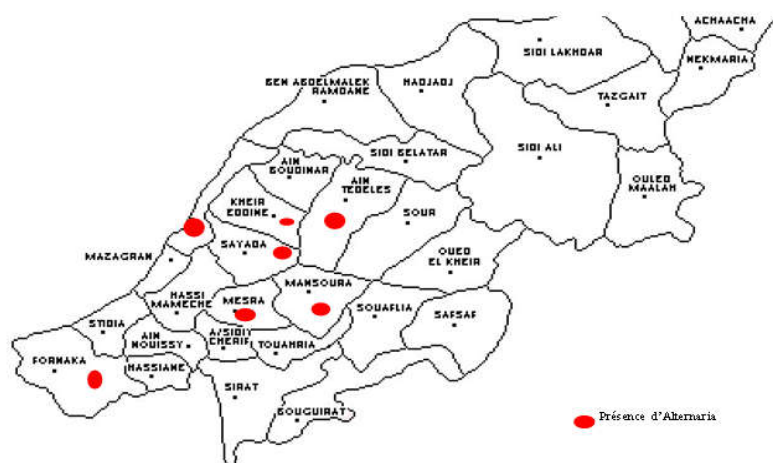


Figure N°01: Parcelles de pomme de terre de saison prospectées au niveau de la wilaya de Mostaganem (campagne 2015-2016)

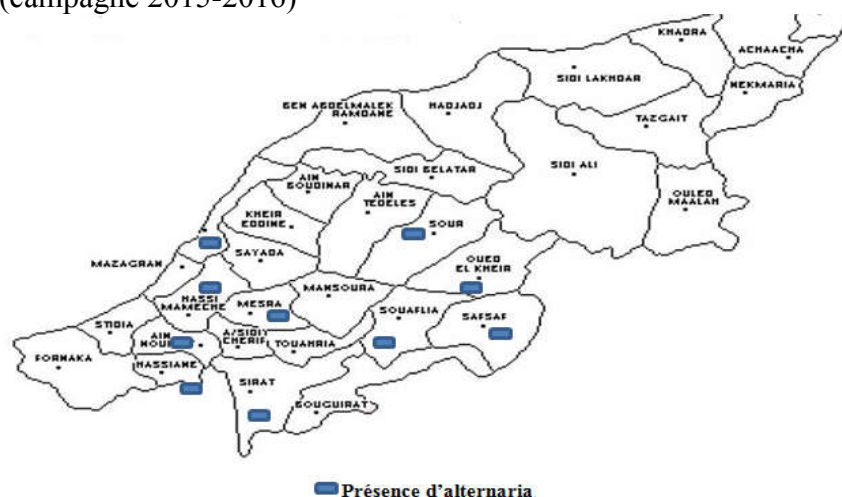


Figure N° 02 : Parcelles de pomme de terre d'arrière saison prospectées au niveau de la Wilaya de Mostaganem (campagne 2015- 2016)

La prospection de la maladie durant la campagne 2015/2016 nous a permis d'observer :

- Les périodes d'attaques, correspondant au début du moi d'avril pour la culture de saison et la fin du mois d'octobre pour la culture d'arrière saison.
- La sensibilité variétale, en effet pour la culture de saison , Les cultures précoces (Décembre - début Janvier) sont plus sensibles a l'attaque d'*alternaria* que celles mises en place après la mi janvier (cultures tardives); pour ce qui est de la culture d'arrière saison, Les plus précoces (août) ont tendance à être plus sensibles que les plus tardives (Septembre).

Nous avons remarqué que l'*alternaria* attaque la plante au stade tubérisation et maturité, et que les variétés les plus sensible sont la Spunta et la fabula.



Figure N° 03: Dégâts d'alternariose sur culture de pomme de terre.



Figure N°04 : Symptômes de l'alternariose sur feuilles de pomme de terre.



Figure N°05: *Alternaria spp* et sa culture sur mileu PDA.

Conclusion

La culture de pomme de terre se cultive en saison, arrière saison et primeur dans la wilaya de Mostaganem. elle est sujette aux attaques des bio agresseurs mais surtout les maladies fongiques épidémiques comme le mildiou et l'*alternaria* qui affectent le rendement.

La prospection durant l'année 2015/2016 a démontré que la maladie a touché plusieurs communes, 10 pour les cultures d'arrière saison et 07 pour les variétés de saison. Les communes touchées pendant cette période sont Mesra et Mostaganem.

Les attaques d'*Alteraria* sur les cultures de pomme de terre sont enregistrées au mois d'avril pour la culture de saison et la fin du mois d'Octobre pour celle d'arrière saison .

Les cultures précoces (Décembre-début Janvier) sont plus sensible a l'attaque d'*Alternaria* que celle plantées après la mi janvier (cultures tardives); pour l'arrière saison celles précoces (août) ont tendance à être plus sensibles que les plus tardives (Septembre), (variétés Spunta et Fabula).

Nous avons relevé que l'alternariose s'attaque au stade tubérisation et maturité.

Le suivi devra se poursuivre sur le terrain afin d'établir une stratégie de lutte contre cette maladie.

Références bibliographiques

- Agriculture.2016. L'alternariose, la menace contre la pomme de terre. juin 2016.([HTTP://www.anova-plus.com/blog/category/sante-des plantes/](http://www.anova-plus.com/blog/category/sante-des-plantes/)).
- Blancard, D. Laterrot,H. Marchoux,G. Candresse,T.2012. A colour Handbouk- Tomato Diseases: identification, biology and control. Manson Publishing Ltd.688pp.
- Chassot.A.,2016. Le point sur l'alternariose de la pomme de terre-Séances d'informations phytosanitaires, février 2016.

COMMUNICATIONS PAR AFFICHE

P01. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques d'une plante médicinale de la flore Algérienne *Inula viscosa* L. sur quelques souches pathogènes

OUAHCHIA Célia¹, SAIDI Fairouz¹, CHERIF Hamida-Saida¹, HAMAIDI Fella¹ et HEMMA Rym¹

¹ Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé. Département de Biologie et Physiologie Cellulaire (BPC). Faculté SNV. Université Blida 1. Algérie.

Email : ouahchiacelia@yahoo.fr

Résumé

Afin de valoriser les plantes médicinales de la flore algérienne notre intérêt s'est porté sur l'étude de la plante *Inula viscosa* L. qui appartient à la famille des *Asteraceae* et qui est largement répandue dans la majeure partie du bassin méditerranéen. Cette plante est utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques d'*Inula viscosa* L., pour cela les feuilles et les fleurs de la plante ont été récoltées, puis séchées à l'air libre et à température ambiante, la masse végétale séchée (feuilles et fleurs) est ensuite réduite en poudre et conservée jusqu'à son utilisation. L'extraction des composés phénoliques a été réalisée par épuisement de la poudre végétale à chaud par Soxhlet dans le Méthanol. Les extraits secs obtenus (feuilles et fleurs) ont été testés sur six souches bactériennes pathogènes isolées et identifiées chez des patients: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klesiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* en utilisant la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Les résultats obtenus montrent que les souches : *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont sensibles aux extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa* L. avec des zones d'Inhibitions comprises entre 15mm et 24mm par contre les deux extraits ce sont avérés inactifs sur les souches à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klesiella pneumoniae* où aucune zone d'inhibition n'a été observée.

Mots clés : *Inula viscosa* L., extraits méthanoliques, activité antibactérienne, souches pathogènes.

Introduction

L'utilisation des plantes supérieures à des fins thérapeutiques est une pratique courante depuis des millénaires. Ce phénomène a eu un regain d'intérêt avec les premières recherches sur les propriétés antibactériennes des plantes pour tenter de donner une base scientifique à ces pratiques empiriques [1,2]. En effet les plantes sont capables de produire une grande diversité de composés ayant des propriétés thérapeutiques. Les composés antimicrobiens extraits à partir des plantes suscitent un très grand intérêt notamment pour la prévention et le traitement des infections engendrées par des pathogènes antibiorésistants [3].

La progression de la multi-résistance et l'absence de réelles perspectives de découverte de nouveaux antibiotiques dans les années à venir, nous a conduit à étudier l'efficacité des plantes à vertus thérapeutiques. Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'étude de la plante *Inula viscosa* L. appartenant à la famille des *Asteraceae*, qui est une plante vivace (0,5 à 1,5 m de hauteur) naturellement distribuée dans le bassin méditerranéen (Espagne, Grèce, Italie, Maroc et Algérie...) et qui est utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés antiseptique, antiphlogistique et antipyrétique [4].

Notre étude avait pour but de faire un screening in vitro de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques d'*Inula viscosa* L. (feuilles et fleurs) sur quelques souches de bactéries pathogènes.

I. Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal

Les feuilles et les fleurs d'*Inula viscosa* ont été récoltées et identifiées au laboratoire de botanique de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (El Harrach, Algérie).

Les échantillons ont été séchés à l'air libre, à température ambiante et à l'abri de la lumière. Les feuilles et/ou les fleurs ont été ensuite réduites en poudre et bien conservées jusqu'à leur utilisation (fig. 1).

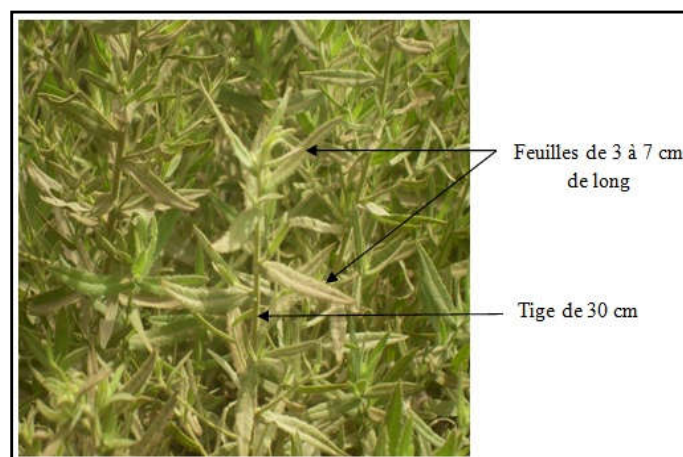


Figure 1. *Inula viscosa* (Originale, 2014)

II.2. Extraction

L'extraction a été réalisée à l'aide d'un appareil : soxhlet, la poudre végétale a été épuisée par le méthanol, les extraits obtenus ont été concentrés à l'évaporateur rotatif. Les résidus secs ont été récupérés et conservés dans des flacons opaques bien fermés et au frais jusqu'à leur utilisation.

II.3. Souches bactériennes

Les souches testées dans cette étude ont été fournies par le laboratoire de microbiologie d'un centre hospitalier. Les bactéries ont été isolées à partir de prélèvement chez des patients et identifiées au laboratoire. *Escherichia coli* (prélèvement urinaire), *Pseudomonas aeruginosa* (pus de plaie), *Klesiella pneumoniae* (sécrétion nasale), *Staphylococcus aureus* (prélèvement bronchique), *Enterococcus faecalis* (prélèvement anal) et *Enterococcus faecium* (prélèvement urinaire).

II.4. Screening de l'activité antibactérienne

Les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa* ont été dissouts dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) pour une concentration finale de 100mg/ml. Ils ont été testés par la technique de diffusion sur milieu gélosé utilisant un inoculum contenant 10^6 bactéries/ml déposé sur des boîtes de Pétri contenant le milieu Muller-Hinton (1ml par boîte). Les disques ont été imprégnés par 30µl de chaque extrait dissout, placés sur les boîtes et incubés à 37°C pendant 24h. La Vancomycine a été utilisée comme contrôle positif pour les bactéries à Gram positif et l'Imipénème pour les bactéries à Gram négatif [5].

II. Résultats et discussion

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanolique des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa* sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau I) :

Tableau I. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques d'*Inula viscosa* L.
(Moyenne des diamètres des zones d'inhibition en mm)

Souches		Origine du prélèvement	Feuilles	Fleurs	Contrôle positif
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i> (SARM)	Bronchique	24	21	-
	<i>Enterococcus faecium</i>	Urinaire	17	15	18
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Fissure anale	17	17	-
Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	Urinaire	-	-	28
	<i>Pseudomonas</i>	Pus de plaie	-	-	19

	<i>aeruginosa</i>				
	<i>Klesiella pneumoniae</i>	Sécrétion nasale	-	-	23

(-) : résistant

L'extrait méthanolique des feuilles a montré un pouvoir antibactérien contre les bactéries à Gram positif avec des zones d'inhibition de 24mm pour *Staphylococcus aureus*, 17mm pour *Enterococcus faecalis* et 15mm pour *Enterococcus faecium*. Les zones d'inhibition obtenues avec l'extrait méthanolique des fleurs étaient de : 21mm pour *Staphylococcus aureus*, 17mm pour *Enterococcus faecalis* et 15mm pour *Enterococcus faecium*. Les deux extraits testés ont montré un meilleur pouvoir antibactérien que l'antibiotique testé (Tableau I).

En revanche les deux extraits feuilles et fleurs n'ont montré aucune activité antibactérienne contre les bactéries à Gram négatif à savoir : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klesiella pneumonia* où aucune zone d'inhibition n'a été observée. En comparaison l'Imipénème qui a été utilisé comme contrôle positif a montré un important pouvoir antibactérien contre toutes les souches testées : *Escherichia coli* (28mm), *Pseudomonas aeruginosa* (19mm), *Klesiella pneumoniae* (23mm),

L'activité biologique d'*Inula viscosa* contre les bactéries testées pourrait être attribuée à la présence de flavonoïdes et des acides phénoliques [6-7]. On pense que les composants biologiquement actifs perturbent la perméabilité de la membrane du cytoplasme et ainsi facilite l'afflux des composés testés [8].

Il est assez difficile d'attribuer l'effet antimicrobien d'un extrait à un ou à quelques principes actifs, car les extraits contiennent toujours un mélange de composés chimiques différents [9].

Selon des études antérieures, la perte d'intégrité cellulaire et la perméabilité membranaire sont une conséquence directe résultant de l'endommagement de la paroi cellulaire et de la membrane cytoplasmique [10-11].

Les différences dans les effets antimicrobiens entre les bactéries Gram positif et Gram négatif sont principalement dues à la différence de structure de leur paroi cellulaire. La paroi cellulaire des bactéries Gram positif se compose d'une seule couche, alors que celle des Gram négatif est une structure multicouche délimitée par une membrane cellulaire externe [12].

Conclusion

L'évaluation de l'activité antibactérienne montre que les extraits de la plante possèdent un pouvoir antibactérien contre les bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* avec des zones d'inhibitions comprises entre 15 et 24mm ; par contre ces extraits n'ont eu aucun effet sur les bactéries à Gram négatif où aucune zone d'inhibition n'a été observée autour des disques.

Il serait intéressant d'identifier les molécules actives responsables de l'effet antibactérien d'*Inula viscosa* L., de les tester sur d'autres souches pathogènes pour pouvoir les exploiter dans plusieurs domaines industriels (pharmacologique, cosmétique, alimentaire).

Références bibliographiques

- [1]. Atkinson, N. 1946. Antibacterial activity in members of the native Australian flora. *Nature*, 158, p. 876.
- [2]. Mela, C. 1950. Presence of substances having antibiotic action in the higher plants. *Fitoterapia*, Vol. 21, pp. 98-99.
- [3]. Essawi, T., Srour, M., 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70: 343-349.
- [4]. Wacuant, J.P. 1990. Biogeographical and physiological aspects of the invasion by *Dittrichia* (ex-*Inula*) *viscosa* W. Greuter, a ruderal species in the Mediterranean Basin, Academic Publishers. Dordrecht, 353-364;
- [5]. Ali-Shtayeh ,M.S., Yaghmour, Reem M.R., Faidi, Y.R. , Khalid Salem , Al-Nuri, M.A. 1998 . Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area *Journal of Ethnopharmacology*, 60: 265–271.
- [6]. Salvador, M., Victoriano, H., Rosa-María, G., José-Luis, R., María, C.R. 2007. Inhibition of pro *Inulaviscosa* inflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone. *Fitoterapia*, 78: 329–331.
- [7]. Grande,M., Torres, P., Piera, F., Bellido,I.S. 1992. Triterpenoids from *Dittrichia viscosa*. *Phytochem*, 31(5): 1826-1828.
- [8]. Al-Dissi, N.M., Salhab, A.S., Al-Hajj, H.A. 2001. Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *J Ethnopharmacol*, 77: 117–121.
- [9]. Alnamer, R., Alaoui, K., Doudach, L., Al-Sobarry, M., Boudida, El H., Chibani, F., Benjouad, A. and Cherrah, Y. 2013. In vitro Antibacterial Activity of *Rosmarinus officinalis* Methanolic and Aqueous Extracts. *Int J Pharm*, 3(1): 1-6.
- [10]. Claeson, P., Radstrom, P., Skold, O., Nilsson, A., Hoglund, S. 1992Bactericidal effect of thesesesquiterpene T-cadinol on *Staphylococcus aureus*. *Phytother. Res*, 6, 94–98.
- [11]. De Billerbeck, V., Roques, C., Bessière, J., Fonvieille, J., Dargent, R. 2001. Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*.*Can. J. Microbiol*, 47, 9–17.
- [12]. Yao, J. and Moellering, R. 1995. Antibacterial agents. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds. *Manual of clinical microbiology*. Washington, DC:ASM Press, 1995:1281-1290.

P02. Caractérisation des bactéries lactiques isolées à partir du blé fermenté (Hamoum) et étude de leur potentiel probiotique.

TAHLAÏTI Hafida^{a*}, DALACHE Fatiha^b, HOMRANI Abdelkader^a.

^a Laboratoire des Sciences Techniques de Production Animale, Université Abdel Hamid Ibn Badis, Mostaganem.

^b Laboratoire de Biologie des Microorganismes et de Biotechnologie, Université Es-Senia Oran.

*talhab@hotmail.fr

Résumé

Les grains de blé appelé « hamoum » est un blé qui a passé un long séjour dans un silo souterrain (matmora). Afin de déterminer l'importance de la fermentation due à ce type de stockage, une étude microbiologique classique suivie d'une identification par Maldi-Tof SM, a été réalisée pour évaluer la diversité de ce substrat en bactéries lactiques d'une part et d'évaluer le caractère probiotique d'autre part. Ce dernier est basé sur le critère de résistance à l'acidité.

Au total 39 isolats bactériens ont été sélectionnés dont 5 ont fait l'objet d'une identification par MALDI-TOF-SM. Les résultats obtenus par MALDI-TOF-SM montrent que sur nos 5 isolats, nous avons trouvé 3 *Lactobacillus brevis*, 1 *Pediococcus acidilactici* et 1 *Staphylococcus epidermidis*. Ce résultat nous donne une appréciation de la diversité de la flore lactique du blé fermenté.

Les bactéries lactiques potentiellement probiotiques doivent répondre à certaines exigences comme la tolérance à l'acidité et aux sels biliaires. Dans cette optique, cinq souches identifiées sont testées. Les résultats aux stress acide montrent l'existence d'une viabilité continue des souches dans le milieu MRS aux différents pH (2.5, 3.5, 4.5, et 6.5).

Les souches étudiées présentent des propriétés intéressantes (production d'acide).

Mots clés : blé fermenté, hamoum, bactérie lactique, MALDI-TOF SM, probiotique, acidité.

Introduction

La matmora est une méthode ancestrale de préservation des grains de blé, qui constituent la base du régime alimentaire (pain, couscous, pâte...). L'augmentation de l'humidité et l'évolution de la température dans la matmora conduisent à la prolifération de nombreux microorganismes qui entraîne la fermentation du blé en un produit du terroir Algérien le « hamoum ». Parmi les microorganismes associés au blé fermenté, les bactéries lactiques jouent un rôle très important dans la fermentation, la préservation et la conservation de nombreux aliments [1]. En effet, l'action des bactéries lactiques au cours de la fermentation a été associée tout d'abord à l'élaboration de l'arôme et de la texture du produit mais aussi au maintien d'une bonne sécurité alimentaire grâce aux acides organiques produits [2, 3,4]. Les bactéries lactiques jouent également un rôle important dans la fabrication de fromage et de

divers produits laitiers fermentés [5,6]. Elles peuvent être détectées dans les grains [7] et les farines [8,9]. Elles sont également décrites comme des bactéries aux exigences nutritionnelles complexes (acides aminés, peptides, vitamines, sels, acides gras, glucides fermentescibles), et qui produisent de l'acide lactique comme principal produit final au cours de la fermentation des carbohydrates [10]. Elles jouent un rôle dans la fermentation des matières premières animales et végétales. Elles sont très répandues dans la nature, et sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire [11].

Les bactéries lactiques sont aussi des microorganismes à potentiels probiotiques. Pour remplir cette fonction, ces bactéries doivent répondre à un certain nombre de critères dont la tolérance à l'acidité et aux sels biliaries.

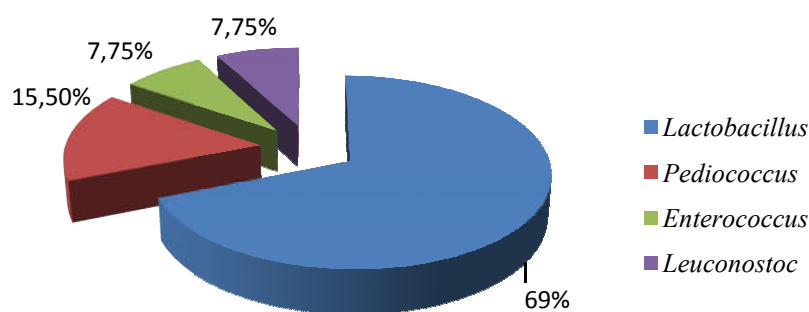
Dans le but de connaître l'influence de la fermentation produite par la technique traditionnelle de stockage (matmora), et de rechercher l'effet probiotique, une étude a été réalisée pour connaître la distribution de la flore lactique sur le hamoum. L'étude phénotypique est suivie d'une caractérisation au MALDI-TOF SM. Deux souches caractérisées par MALDI-TOF SM ont fait l'objet d'une étude aux stress acide.

Matériel et méthodes

- prélèvement d'échantillons dans la matmora de la région de Relizane
- isolement des bactéries lactiques sur MRS à partir d'une solution mère homogénéisée (stomacher 80).
- identification partielle des isolats par méthode phénotypique
- identification de certains isolats par MALDI-TOF SM après purification sur MRS gélosé et incubation à température optimale pendant 24h.
- étude liée aux stress de l'acidité à différents pH (2.5 ; 3.5, 4.5 et 6.5) et des sels biliaries (0.3%,0.5% ; 1% et 2%) (hydrominus et *al.* 2001)[12].

Résultats et discussion

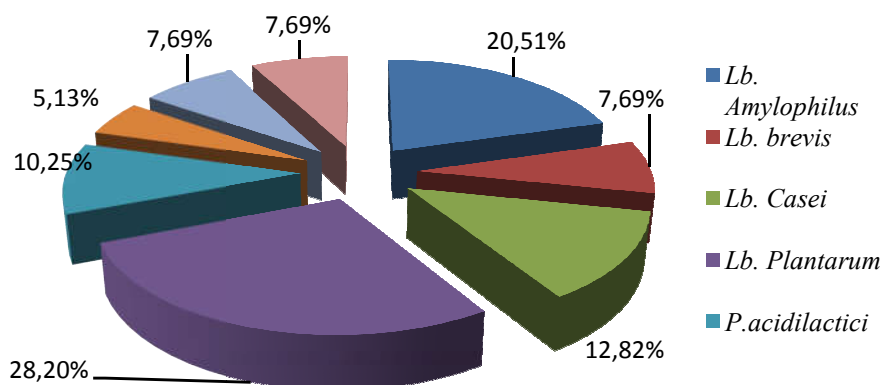
L'identification phénotypique est déterminée sur les critères morphologiques, physiologiques et biochimiques, complétée par l'étude du profil fermentaire des carbohydrates (glucose, galactose, arabinose, raffinose, mannose, lactose, fructose, maltose et xylose). Cette identification nous a permis de sélectionner selon les critères d'identification proposés par Khedid et *al.*(2006) [13], Hammes et *al* (2006) [14], Thapa et *al* (2006) [15], 39 isolats lactiques dont 27 appartiennent au genre *Lactobacillus* et 12 au genre en forme de coques.



Répartition des 39 isolats par genres

Figure 1 : Représentation graphique de la distribution des isolats lactiques selon les genres.

Parmi les coques six appartiennent au genre *Pediococcus* dont quatre à l'espèce *P. acidilactici* et deux à l'espèce *P. pentosaceus*. Pour le genre *Leuconostoc*, les trois isolats ont été pré-identifiés à l'espèce *Ln. mesenteroides*. En ce qui concerne le genre *Enterococcus*, la pré-identification des trois isolats se rapproche de l'espèce *En.faecium*.



Répartition des isolats par espèces présumées

Figure 2 : Représentation graphique de la distribution des isolats lactiques selon les espèces présumées.

Les vingt sept isolats identifiés au genre *Lactobacillus*, huit appartiennent au genre *Lb amylophilus*, trois au genre *Lb brevis*, cinq au genre *Lb casei* et seize se rapprochent au genre *Lb plantarum*.

Bien que la détermination phénotypique constitue une partie indispensable à l'identification des bactéries lactiques, elle reste cependant sommaire et imprécise. Afin d'affiner nos résultats cinq isolats ont l'objet d'une identification par MADI-TOF SM.

Les résultats du MALDI-TOF SM nous ont permis de caractériser cinq isolats dont deux avec un score élevé BL8 : *Lactobacillus brevis* et M5 : *Pediococcus acidilactici*.

La caractérisation phénotypique des isolats a permis de constater que le genre *Lactobacillus* est dominant (69%). En effet, ce dernier a été isolé à partir de nombreux substrats à base de céréales (blé, mil, sorgho, maïs et seigle) [16,17, 18,19]. Il est connu comme groupe majoritaire de la microflore lactique des produits traditionnels (pâte ou purée et bouillies non alcoolisées) obtenus à partir du mil, sorgho et maïs en Afrique de l'Ouest [17,18]. En ce qui concerne les genres *Pediococcus*, *Enterococcus* et *Leuconostoc*, ils ont été détectés dans les levains des différents substrats cités ci-dessus.

Parmi les *Lactobacillus*, l'espèce présumée *Lb plantarum* a été identifiée majoritairement dans nos échantillons (41%). En ce qui concerne le genre *Pediococcus*, les isolats obtenus présumés sont *P.acidilactici* et *P.pentocaseus*. Parmi les bactéries lactiques isolées, à partir de farine de blé, ce genre est très représentatif de la flore lactique [20]. En outre, le genre *Pediococcus* a été détecté dans les produits végétaux (céréales, choucroute, olives, concombre) et les produits fermentés (bière) [18].

La résistance aux stress acide a révélé que BL8 est une bactérie qui résiste à l'acidité. On note cependant, une augmentation de la résistance au pH 3,5 au bout de trois heures. Cette résistance est attribuée à un ensemble de protéines (GroEL, GroES et DnaK) qui sont induites en condition de stress, ce qui suggère que la souche a la capacité de traverser la forte acidité stomacale et peut atteindre le milieu intestinal où elle pourra s'y multiplier.

Concernant les autres résultats, ils sont en cours de traitements.

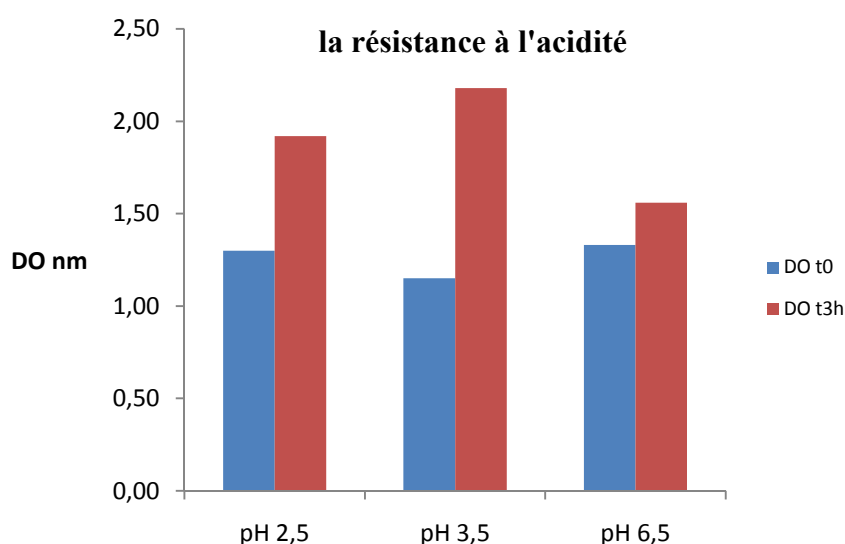


Figure3 : La résistance de BL8 en milieux acides

Conclusion

Cette étude a permis de réaliser un screening des bactéries lactiques à partir d'un produit traditionnellement fermenté, le hamoum. La caractérisation phénotypique montre une

diversité de la flore lactique. Nos résultats indiquent que l'espèce dominante dans ce substrat est *Lactobacillus plantarum*. La souche identifiée par MALDI-TOF SM, possède une bonne potentialité probiotique.

P03. Effet de la transition alimentaire sur les performances du poulet de chair

Tarek Boussaada^{1,2}, Derradji Ouachem^{2,3}, Abderrahmane Ameur¹

¹⁾ Centre de Recherche Scientifiques et Technique sur les Régions Arides

²⁾ Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques, Université de Batna 1, 05000 Algérie

³⁾ Labo APAPEZA, Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques, Université de Batna 1, 05000 Algérie

Email : Boussaadatarek@gmail.com

Résumé :

Des problèmes d'identification de l'aliment, qui interviennent au moment de la distribution d'un nouveau aliment, sont parfois observés en élevage de poulets (**Traineau et al., 2011**). Cette expérience a pour objet d'étudier l'effet de la transition alimentaire de l'aliment démarrage à l'aliment croissance sur les performances de croissance du poulet de chair à l'âge de 14 et 42 jours. L'expérience a été réalisée sur 256 poussins d'un jour de souche Arbor Acres. Les poussins ont été pesés à leur arrivée, puis placés dans des cages. Ils ont été répartis en 2 lots et chaque lot a été subdivisé en 4 sous lots de 32 sujets chacun. Dans le premier lot, le passage de l'aliment démarrage à l'aliment croissance a été opéré de façon brutale sans pratique de transition alimentaire et dans le second lot, le passage de l'aliment démarrage à l'aliment croissance a été opéré durant quatre jours de manière progressive à compter du 10^{ème} jour et ce jusqu'à la fin du 13^{ème} jour. Les résultats montrent que la transition alimentaire est accompagnée d'une diminution significative de l'ingéré alimentaire à la fin de la période de démarrage (- 5.5% ; P = 0.03) et à l'âge de 42 jours (- 1.6% ; P = 0.04) sans incidences négatives sur le gain de poids aux mêmes périodes. L'effet de la transition sur l'indice de consommation a été marqué à l'âge de 14 jours (- 4% ; P = 0.006). Cependant, l'apparition d'une différence non significative à l'âge d'abattage montre que l'effet de la transition alimentaire sur le gain de poids et l'indice de consommation observée

précédemment n'a pas été maintenu. . Avec cette technique il est possible d'améliorer l'indice de consommation et d'assurer le bon démarrage recherché en élevages de poulet de chair.

Mots clés : Transition, performances, poulet de chair, démarrage, alimentation.

Introduction

En élevage de volaille, une nouvelle livraison d'aliment peut être ignorée par les animaux ou fortement sous consommée pendant plusieurs heures. Les caractéristiques physiques des particules alimentaires sont souvent mises en cause dans ces incidents, qui peuvent avoir des incidences importantes sur les performances des animaux et leur état sanitaire (**Picard et al., 2002**). Ces problèmes sont liés à la perception de l'aliment par la volaille comme cela a été montré chez la dinde (**Chagneau et al., 2006**). Cette expérience a pour objet d'étudier l'effet de la transition alimentaire de l'aliment démarrage à l'aliment croissance sur les performances de croissance du poulet de chair (Gain de Poids : GP ; Indice de Consommation : IC) à l'âge de 14 et 42 jours.

I/ Matériel et méthodes

I.1/ Animaux

L'expérience a été réalisée sur 256 poussins non sexés de souche Arbor Acres. Les poussins ont été pesés à leur arrivée, puis placés dans des cages. Ils ont été répartis en 2 lots et chaque lot a été subdivisé en 4 sous lots de 32 sujets chacun. Dans le premier lot, le passage de l'aliment démarrage à l'aliment croissance a été opéré de façon brutale sans pratique de transition alimentaire et dans le second lot, il a été observé une transition alimentaire progressive de 04 jours.

I.2/ Aliment

Afin de pouvoir observer au mieux les conséquences des changements alimentaires, les transitions alimentaires ont été réalisées de manière brutale sans que l'aliment présent dans les mangeoires et le nouvel aliment ne se mélangent, mais en évitant tout de même que les assiettes soient totalement vidées. Le passage de l'aliment démarrage à l'aliment croissance a été opéré durant quatre jours de manière progressive à compter du 10^{ème} jour et ce jusqu'à la fin du 13^{ème} jour. Les régimes servis ont été préparés selon les recommandations du NRC (1994). Les caractéristiques nutritionnelles de ces aliments étaient: 3000 kcal d'EM/kg, 21% MAT pour l'aliment démarrage ; 3100 kcal d'EM/kg et 20 % MAT pour l'aliment croissance et enfin 3150 kcal d'EM/kg et 18% MAT pour l'aliment finition. Les aliments contenaient aussi 0,9% de Ca, 0,6 % de P total et 0,9% de lysine.

I.3/ Plan de prophylaxie

A fin de mettre le cheptel à l'abri du microbisme et du parasitisme, un plan de prophylaxie a été appliqué pour assurer une certaine couverture sanitaire. Les caractéristiques de ce programme sont consignées dans le tableau 01.

Tableau01. Plan de prophylaxie appliqué.

Age en jour	Traitement préventif	Produit utilisé	Mode d'emploi
J₀	GUMBORO		Injection au niveau du couvoir
	ND & IB	VITABROWEN	Pulvérisation au niveau du couvoir
J₁₁	ND & IB	VITABROWEN	Pulvérisation
J₂₁	ND La sota		Eau de boisson

ND : Newcastle ; IB : Branchite infectieuse.

I.4/ Paramètres mesurés

Les performances de croissance mesurées habituellement chez le poulet de chair (Consommation d'aliment, Gain de Poids, et Indice de Consommation) ont été mesurées à l'âge de 14 et 42 jours. Les sujets ont été pesés individuellement à l'aide d'une balance électronique (0.5g d'erreur). Les poids respectifs des animaux ont été enregistrés sur une fiche de pesée d'animaux. L'indice de consommation (IC) a été calculé en faisant le rapport de la quantité d'aliment consommée pendant une période sur le gain de poids réalisé sur cette même période.

I.5/ Analyse statistique

Les paramètres mesurés ont fait l'objet d'une analyse de variance, suivie d'une comparaison de moyennes, à l'aide d'une ANOVA.

II/ Résultats et discussions

Les résultats des performances de croissance réalisés par les sujets des deux lots à l'âge de 14 et 42 jours sont représentés dans le tableau 02. Les résultats du tableau 02 ont montré que la transition alimentaire est accompagné d'une diminution significative de l'ingéré alimentaire à la fin de la période de démarrage (- 5.5% ; P = 0.03) et à l'âge de 42 jours (- 1.6% ; P = 0.04) sans incidences négatives sur le gain de poids aux mêmes périodes. L'effet de la transition sur l'indice de consommation été marqué à l'âge de 14 jours (- 4% ; P = 0.006). Cependant, l'apparition d'une différence non significative à l'âge d'abattage montre que l'effet de la transition alimentaire sur le gain de poids et l'indice de consommation observée précédemment n'a pas été maintenu.

La performance enregistrée au démarrage avec la transition progressive, notamment sur l'indice de consommation est très intéressante et montre qu'avec cette technique il est possible d'assurer le bon démarrage recherché dans les élevages avicoles. Cet effet peut être expliqué par le fait qu'en transitoire, le poulet semble être dans un état moins anxieux lui permettant une valorisation optimale de l'aliment ingéré. En effet, selon **Rouillé et al. (2003)** la présentation mélange hétérogène (transition progressive) de particules semble favoriser une meilleur adaptation à un aliment nouveau, alors qu'une alimentation trop homogène (transition brutale) avait provoqué de l'anxiété. De plus, l'adaptation à de nouveaux régimes alimentaires et la consommation de l'aliment par les poulets dépend en grande partie de leurs caractéristique granulométriques (**Rouillé et al., 2003**). Un changement des caractéristiques physiques de l'aliment influence le comportement alimentaire chez le poulet (**Bessonneau et al., 2001**)

Tableau 02. Effets de la transition alimentaire sur les performances de croissances.

Lots	Transition brutale	Transition progressive	Signification
Performances			
J1 – J14			
Ingéré (g)	578 ^(a) ± 7	546 ^(b) ± 5	P = 0.03
Poids vif (g)	482 ± 4	476 ± 5	NS
IC	1.33 ^(b)	1.28 ^(a)	P = 0.006
J1 – J42			
Ingéré (g)	4952 ^(a) ± 56	4872 ^(b) ± 28	P = 0.04
Poids vif (g)	2694 ± 32	2635 ± 54	NS
IC	1.87	1.88	NS

Par ailleurs, il a été observé lors d'une transition farine – granulé une atténuation de la compétition à la mangeoire et le poulet passait plus de temps dans l'exploration et la consommation (**Clavé et al., 2011**). Cependant, la différence significative de consommation observée en transition brutale peut être expliquée par la quantité d'aliment plus importante prélevée par coup de bec. En effet, en régime à texture grossière, il a été rapporté par **Piron et al. (2007)** que l'apparence grossière se traduit par une ingestion supérieure. D'autre part, **Quintin et al. (2004)** ont observé que la granulation par son action de compactage améliore la prise alimentaire par le bec.

Selon **Traineau et al. (2011)**, en élevages avicoles, les volailles reçoivent au cours de leur vie une succession d'aliments variables nutritionnellement et physiquement capables de déclencher le comportement exploratoire et d'induire des diminutions de consommation pouvant entraîner des incidences indésirables sur les performances des animaux.

Le comportement alimentaire serait motivé par le phénomène de néophobie (peur de la nouveauté) que Allah a donné aux espèces de volailles pour leur permettre d'éviter la consommation de substances nouvelles, potentiellement toxiques (**Lecuelle et al., 2009**). L'ingestion peut également être influencée par des préférences précoces et un processus d'apprentissage (**Aoki et al., 2000**) ou par des apprentissages basés sur l'association de la couleur avec un stimulus négatif tel que le mauvais goût ou des effets post-ingestifs (**Burne et Rogers, 1997**). Additionnellement, il a été rapporté par **picard et al., (2000)** que les jeunes poulets picorent leurs aliments en alternant des coups de becs consommateurs et explorateurs et que les coups de bec ingestifs diminuent lors d'un changement de régime (**Picard et al., 1999**).

Des observations similaires ont été faites par **Lecuelle et al. (2009)**, particulièrement chez les dindonneaux au moment de la transition, où il a été observé moins de coups de bec ingestifs avec le nouvel aliment au profit de coups de bec fermés (exploratoires). Par ailleurs, les pintades passent moins de temps au picorage mais plus de temps à l'observation et expriment plus d'agitation en présence d'un nouvel aliment (**Chagneau et al., 2011**). Il ressort de ce qui précède que l'augmentation de l'activité alimentaire et la présence au mangeoire ne reflète cependant pas que le poulet consomme l'aliment, en effet, ce dernier peut toucher l'aliment sans toutefois le consommer (**Traineau et al., 2011**).

Il est cependant important de rappeler qu'il existe autant d'autres paramètres qui peuvent être impliqués dans le processus d'ingestion. A titre indicatif, la vision puis le toucher sont particulièrement utilisées par la volaille pour apprécier des aliments (**Picard et al., 2000**). En effet, le premier contact avec l'aliment est visuel (**Vilarino, 1997**), puis l'animal utilise les récepteurs tactiles de son bec pour renforcer sa caractérisation sensorielle de cet aliment (**Lecuelle et al., 2009**). Les oiseaux sont en effet capables de distinguer les couleurs grâce à un système visuel très développé (**Prescott et al., 2003**). Par exemple, il a été constaté chez les dindonneaux lors de changement de couleur de l'aliment des réactions de néophobie et néophilie (**Lecuelle et al., 2011**) et qu'en présence d'aliment de couleurs différentes, les dindons expriment une préférence pour les aliments clairs et homogènes (**Chagneau et al., 2003**).

Conclusion

La transition alimentaire est accompagné d'une diminution significative de l'ingéré alimentaire à la fin de la période de démarrage et à l'âge d'abattage, sans incidences négatives sur le gain de poids aux mêmes périodes. L'effet de la transition alimentaire sur l'indice de consommation été marqué à l'âge de 14 jours. Cependant, cet effet n'a pas été

maintenu à l'âge d'abattage. Avec cette technique il est possible d'améliorer l'indice de consommation et d'assurer le bon démarrage recherché en élevages de poulet de chair.

Références bibliographiques :

- Aoki M., Izawa E., Koga K., Yanagihara S., Matsushima T., 2000. Accurate visual memory of colors in controlling the pecking behavior of quail chicks. *Zool. Sci*, 17: 1053–1059.
- Bessonneau D., Chagneau A.M., Le Fur C., Bouchot C., Lessire M., Picard M., 2001. SraBox, un nouveau test de choix alimentaire chez le poulet : application aux aliments contenant ou non des matières premières d'origine animale. 4^{èmes} journées de la Recherche Avicole, Nantes (France), 27&29 mars, 169-172.
- Burne T. H. J., Rogers L. J., 1997. Relative importance of odour and taste in the one-trial passive avoidance learning bead task. *Physiol. Behav*, 62: 1299–1302.
- Chagneau A.M., Penaud L., Bouvarel I., Lessire M., Picard M., 2003. La couleur de l'aliment influence-t-elle le choix du dindon ? 5^{ème} journées de la Recherche Avicole, Tours (France), 26 & 27 mars.
- Chagneau A.M., Laviron F., Lamy S., Bouvarel I., Picard M., Lessire M., Lescoat P., 2006. Short-term number of pecks and feed intake levels: A link with the physical characteristics of feed in four-week-old turkeys. *Poultry Science*, 85: 923-931.
- Chagneau A.M., Quentin M., Lescoat P., Bouvarel I., 2011. Comment se comportent des pintades Label au moment d'un changement d'aliment ? 9^{ème} journées de la Recherche Avicole, Tours (France), 29&30 mars, 412-416.
- Clavé H., Tusek J.L., Quentin M., 2011. Utiliser la présentation (Farine ou Granulé) pour moduler la croissance des volailles à croissance lente. 9^{ème} journées de la Recherche Avicole, Tours (France), 29&30 mars, 408-411.
- Lecuelle S., Chagneau A.M., Bouvarel I., Lescoat P., Leterrier C., 2009. Comment étudier le comportement alimentaire de dindonneaux au moment des transitions alimentaires ? 8^{ème} journées de la Recherche Avicole, ST Malo (France), 25&26 mars, 130-134.
- Lecuelle S., Bouvarel I., Chagneau A.M., Laviron F., Lescoat P., Leterrier C., 2011. La conservation de la couleur de l'aliment facilite la transition. 9^{ème} journées de la Recherche Avicole, Tours (France), 29&30 mars, 392-396.
- NRC., 1994. Nutrients Requirements of Poultry, National. Acad. Sci, National Research Council, pp 177.
- Picard M., Plouzeau M., Faure J.M., 1999. A behavioural approach to feeding broilers. *Ann. Zootech*, (48): 233-245.
- Picard M., Melcion J. P., Bertrand D., Faure J.M., 2000. Poultry Feedstuffs: Supply, Composition and Nutritive Value, 279-300.
- Picard M., Melcion J.P., Bertrand D., Faure J.M. 2002. Visual and tactile cues perceived by chickens. In: McNab, J.M. & Boorman, K.N. ed. Poultry Feedstuffs: Supply, Composition and Nutritive Value. Poultry Science Symposium 26. CABI Publishing, Wallingford, 279 – 300.

- Piron F., Philippart de Foy M., Thewis A., Beckers Y., 2007. Comparaison de quatre modalités de présentation du blé chez le poulet de chair. 7^{ème} Journées de la Recherche Avicole. Tours (France), 28 et 29 mars, 243-247.
- Prescott, N.B., Wathes, C.M., Jarvis, J.R., 2003. Light, vision and the welfare of poultry. Anim. Welfare, 12: 269-288.
- Quentin M., Bouvarel I., Picard M., 2004. Short- and Long-Term Effects of Feed Form on Fast- and Slow Growing Broilers. J. Appl. Poult. Res, 13: 540-548.
- Rouillé L., Chagneau A.M., Bouvarel I., Lessire M., Picard M., 2003. Influence de la structure physique de l'aliment démarrage sur la transition alimentaire chez le dindon. 5^{ème} Journées de la Recherche Avicole. Tours (France), 26&27 mars.
- Traineau M., Laviron F., Lescoat P., Chagneau A.M., Pons T., Couty M., Bouvarel I., 2011. Comportement alimentaire du poulet de chair lors de transition alimentaires. Neuvièmes journées de la recherche avicole. Tours (France), 29&30 mars, 315-319.
- Vilariño M.M., 1997. Thèse.

P04. Etude comparative des propriétés physico-chimiques et microbiologiques de divers échantillons de lait de brebis collectés dans l'ouest algérien

KETROUCI Leyla^{1*}, DALACHE Fatiha², HOMRANI Abdelkader¹

- 1- Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale, Université Abd-El Hamid Ibn Badis de Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de Vie.
- 2- Laboratoire de Biologie de Microorganismes et Biotechnologie, Université Ahmed Ben Bella, Oran. *Auteur assurant la correspondance : Leyla.ketrouci@univ-mosta.dz

Résumé L'appréciation de la qualité du lait est évaluée par rapport aux paramètres physico-chimiques et bactériologiques. Notre étude a porté sur dix échantillons de lait cru de brebis prélevés sur quatre régions d'Algérie. La caractérisation physico-chimique des laits a concerné: le pH, l'acidité titrable (°D), la densité, le taux d'extrait sec total (EST), la teneur en lactose, le taux de matière grasse (MG) et la teneur en protéines (TP). L'évaluation bactériologique a porté sur la recherche des germes suivants : les coliformes totaux (CT), les coliformes fécaux (CF), les Staphylocoques, les Clostridium sulfito-réducteurs (CSR), les levures et les moisissures.

L'analyse détaillée nous a permis d'établir des différences entre les laits collectés. Le pH varie de $6,27 \pm 0,01$ à $6,66 \pm 0,02$, la valeur de l'acidité titrable est située entre $18,66 \pm 0,57$ D° et $26,66 \pm 1,58$ D°, la densité mesurée est comprise entre $1,0298 \pm 0,17$ et $1,0446 \pm 2,27$. Il a été constaté une différence significative entre le taux de MG et la teneur en lactose. Par

contre, nous n'avons pas noté de différence significative dans le taux protéique. Le taux d'extrait sec total atteint son maximum pour une valeur de $13,74 \pm 0,06$.

Du point de vue microbiologique, les résultats montrent que les laits examinés contiennent une charge variable de staphylocoques située entre 1.10^4 ufc/ml $\pm 0,00$ et $1,09.10^5$ ufc/ml $\pm 1,65$. L'analyse a révélé une contamination des échantillons en coliformes totaux avec une valeur moyenne de $4,27.10^2$ ufc/ml $\pm 0,10$, le taux des coliformes fécaux varie entre de et $0,40.10^2$ ufc/ml $\pm 0,00$ et $6,80.10^3$ ufc/ml $\pm 2,64$ et la charge moyenne de levures est de $4,31.10^3$ ufc/ml $\pm 0,76$. Cette étude nous a permis d'avoir des résultats sur la qualité de laits de brebis sur le plan physico-chimique et bactériologique. Cependant, il faut établir une politique de bonnes pratiques d'élevage et d'hygiène et veiller sur la propreté des animaux et leur environnement. **Mots clés :** lait de brebis, paramètres physico-chimiques, taux de protéines, étude bactériologique.

Introduction

Les caractéristiques physico-chimiques du lait sont liées à sa composition pour une espèce animale particulière. Le lait de brebis a toujours été considéré comme un lait ayant des aspects spécifiques et, dans certains cas, comme étant un produit plus noble que les autres laits car il contient des niveaux plus élevés de solides et d'éléments nutritifs importants que le lait de chèvre et de vache.

Les microorganismes jouent un rôle important dans le monde vivant et occupent une place essentielle dans le domaine des produits laitiers et leur importance se situe à trois niveaux : l'élaboration, l'altération et l'hygiène des produits. Du fait même de leur composition et des conditions de production, le lait et les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes qui, en se multipliant dans le milieu, provoquent des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, lactose) et (ou) libération en leur sein de composés indésirables, ces dégradations peuvent être dues à des bactéries, levures et moisissures et se traduisant par des défauts de goût, d'odeur, d'aspect et de texture.

Notre travail a pour objectif l'étude des caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques des différents laits prélevés. L'analyse des différents paramètres a été effectuée au niveau du laboratoire de recherche des sciences et techniques de production animale de l'université Abd El-Hamid Ibn Badis de Mostaganem.

1. Matériels et méthodes

Les échantillons analysés sont des laits crus de brebis de petit mélange (5 femelles). Au total, dix échantillons de lait prélevés sur quatre régions de l'ouest algérien ont été analysés afin d'évaluer leurs qualité physico-chimique et bactériologique.

1.1. Analyse de la composition physico-chimique :

Le pH de chaque échantillon est mesuré à l'aide d'un pH mètre et l'acidité titrable a été effectuée selon le protocole d'Amiot *et al.*, (2002). La détermination de, la teneur en lactose, en matière grasse, en taux protéique et extrait sec total du lait a été réalisée à l'aide d'un LactoScan (SAP MILK ANALYZER, Serial : 16-168, Bulgaria). Cet appareil a également servi à la détermination de la densité du lait.

1.2. Analyses microbiologiques :

Afin d'apprécier la qualité hygiénique, notre étude a porté sur la flore de contamination. Le dénombrement des bactéries a été réalisé sur des géloses sélectives, le dénombrement des coliformes totaux et fécaux a été réalisé sur milieu VRBL. La recherche des staphylocoques s'est faite sur milieu Chapman et les Clostridium Sulfito-Réducteurs ont été dénombrés sur milieu Viande-Foie additionné à l'alun de fer et sulfite de sodium. Les levures et les moisissures ont été recherchées sur milieu OGA.

1.3. Analyses statistiques :

Une analyse de variance ANNOVA (version 6.4) a été utilisée. Les moyennes des variables ont été comparées et les différences étaient considérées comme significatives au seuil de probabilité $p < 0,05$.

2. Résultats :

Les échantillons recueillis et analysés ont donné les résultats suivants :

2.1. Analyses physico-chimiques :

2.1.1. Paramètres physiques :

3.

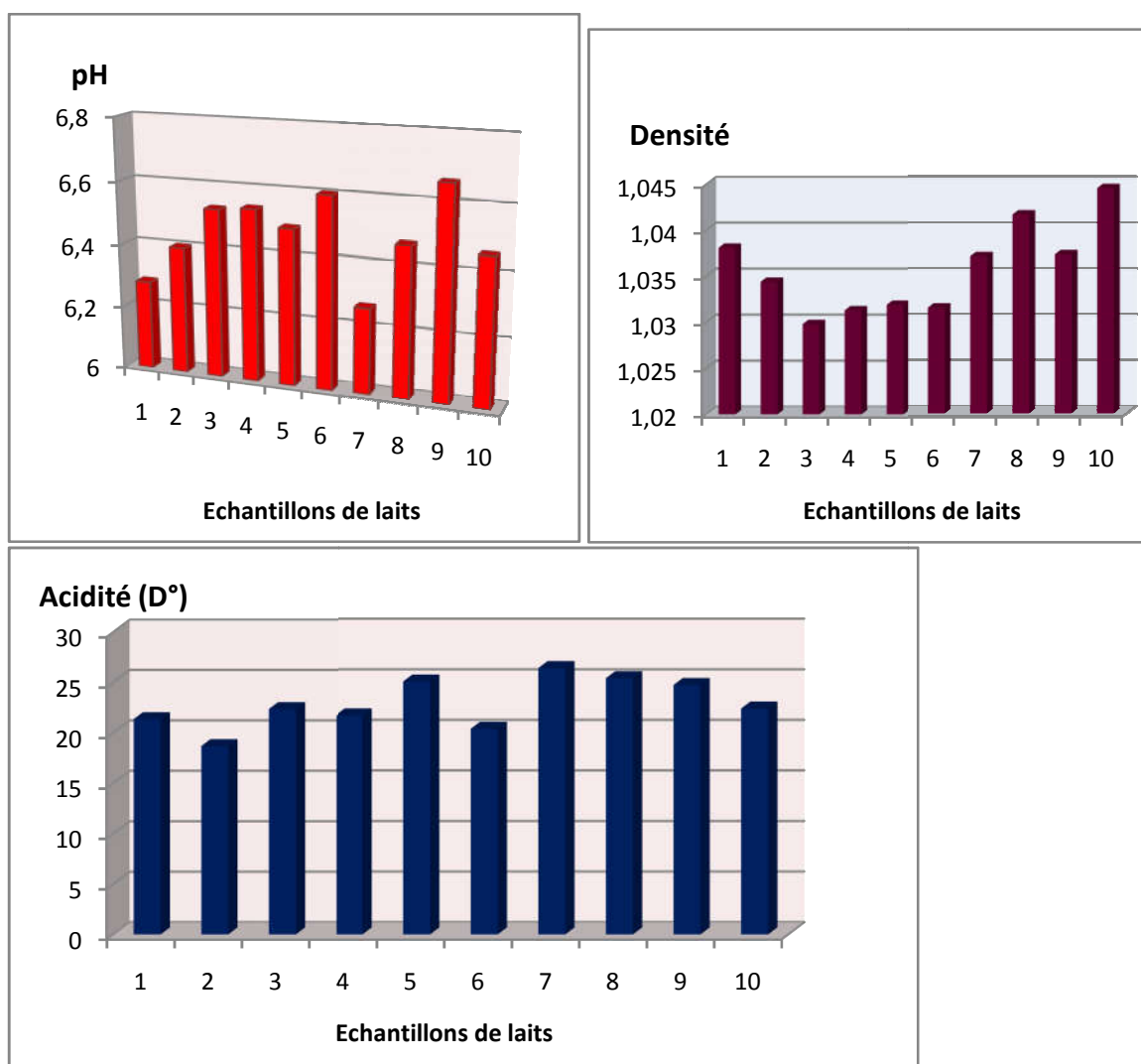


Figure n°1 : Résultats des paramètres physiques

3.1.1. Paramètres chimiques :

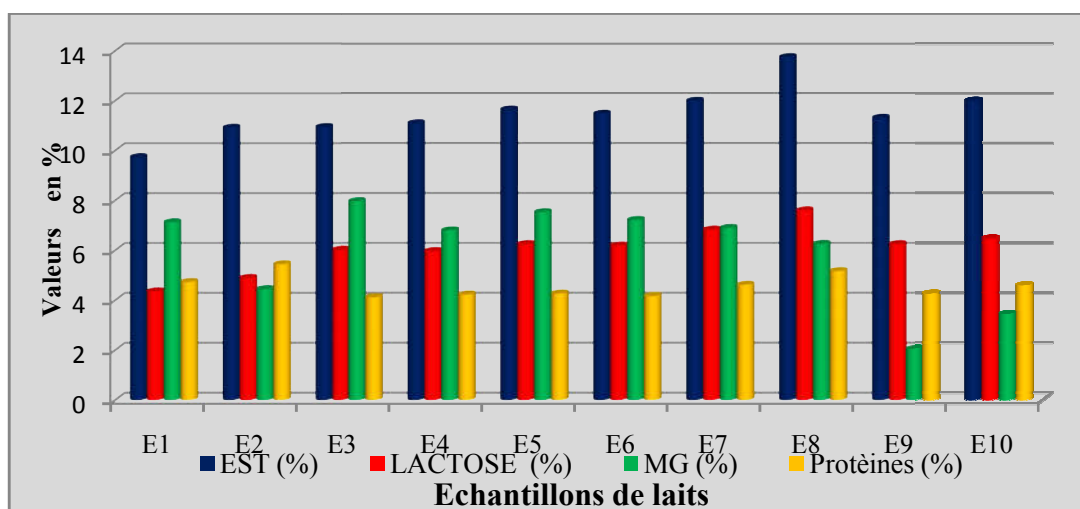


Figure n°2 : Résultats des paramètres chimiques (EST, Lactose, MG, Protéines) en %

3.2. Qualité bactériologique :

Les résultats des analyses microbiologiques sont résumés dans les figures suivantes :

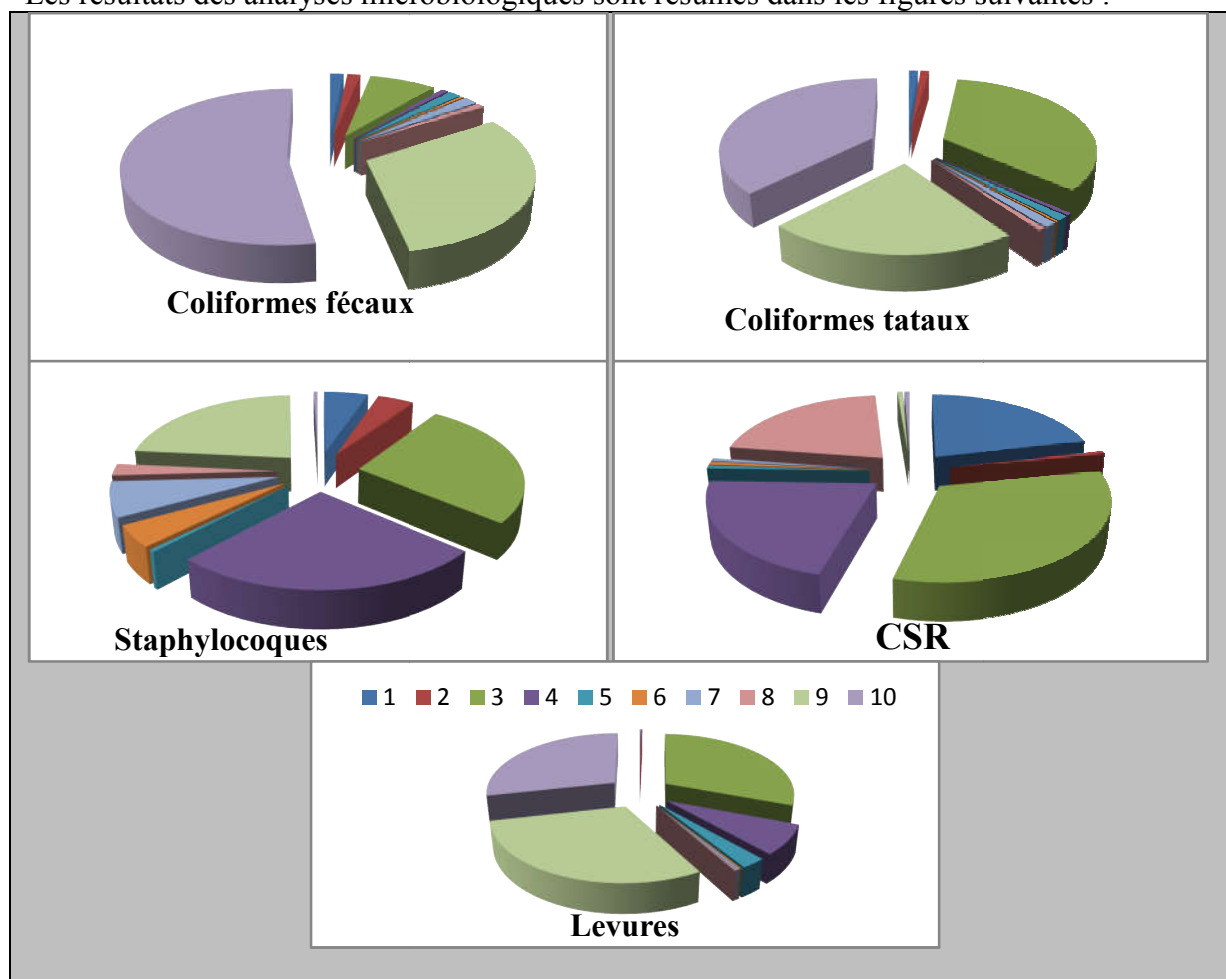


Figure n°3 : Résultats des analyses microbiologiques des laits de brebis collectés.

4. Discussion des résultats :

L'analyse détaillée des échantillons nous a permis d'établir des différences entre les laits de brebis prélevés. Le pH varie de $6,27 \pm 0,01$ à $6,66 \pm 0,02$, la valeur de l'acidité titrable est située entre $18,66 \pm 0,57$ D° et $26,66 \pm 1,58$ D° et la densité mesurée est comprise entre $1,0298 \pm 0,17$ et $1,0446 \pm 2,27$. Il a été constaté une différence significative ($p < 0,05$) entre le taux de MG et la teneur en lactose, La teneur en matière grasse est plus importante dans l'échantillon 2 soit $11,79 \% \pm 0,10$ contre $2,05 \% \pm 0,3$ et $3,44 \% \pm 0,07$ dans les échantillons 9 et 10 respectivement et la concentration en lactose oscille entre $4,36 \% \pm 0,02$ et $7,6 \% \pm 0,03$. Par contre, nous n'avons pas noté de différence significative dans le taux protéique entre les laits étudiés. Le taux d'extrait sec total atteint son maximum dans l'échantillon 7 soit la valeur $13,74 \% \pm 0,06$.

Du point de vue microbiologique, les résultats montrent que pour les 10 échantillons, la flore de contamination est constituée essentiellement et dans l'ordre décroissant en charge

bactérienne de staphylocoques, de coliformes totaux et fécaux suivis des Clostridium sulfite-réducteurs et les levures avec une absence totale de moisissures. Les laits examinés contiennent une charge variable de staphylocoques située entre 1.10^4 ufc/ml $\pm 0,00$ et $1,09.10^5$ ufc/ml $\pm 1,65$. L'analyse a révélé une contamination des échantillons en coliformes totaux avec une valeur moyenne de $4,27.10^2$ ufc/ml $\pm 0,10$ et un taux des coliformes fécaux variant entre $0,40.10^2$ ufc/ml $\pm 0,00$ et $6,80.10^3$ ufc/ml $\pm 2,64$. La charge moyenne de levures est de l'ordre de $4,31.10^3$ ufc/ml $\pm 0,76$. La contamination bactérienne traduit une mauvaise qualité hygiénique de la matière première.

Conclusion

Cette étude nous a permis d'avoir des résultats qui permettent d'apprécier la qualité du lait de brebis sur le plan physico-chimique d'une part et bactériologique d'autre part. Grâce à sa teneur en protéines et à l'ensemble de ses constituants solides, le lait de brebis est particulièrement approprié pour la fabrication de fromage et de yaourt. Néanmoins, la flore microbienne totale quantifiée lors des analyses de lait représente une image de l'ensemble des micro-organismes vivants présents dans le lait. Cependant, il faut établir une politique de bonnes pratiques d'élevage et/ou d'hygiène et veiller à la propreté des animaux et leur environnement mais aussi aux moyens de collecte et de transport du lait vers les points de transformation.

P05. Effet de la saison sur la qualité microbiologique du lait cru à la traite dans l'Ouest Algérien.

SASSI elhachemi¹, HOMRANI abdelkader¹, ATTOU sahnoune, NEMMICHE said, SEDDAOUI ismail

Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale (LSTPA), Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

Courriel : hsassitaa_27@yahoo.fr.

Téléphone : 0661432580

Résumé :

Le lait est un aliment essentiel, et est la matière première de certains produits alimentaires. Contaminé, il peut être le vecteur de transmission de germes pathogènes à l'homme. L'analyse de sa qualité microbiologique, instable et douteuse durant les différents stades de lactation, s'avère primordiales. En vue d'étudier l'effet de la saison sur la qualité microbiologique du lait cru à la traite, 108 échantillons ont été prélevés au niveau de 09 exploitations d'élevage bovin dans l'Ouest Algérien pendant quatre saisons de juin 2015 à mai 2016. Notre étude porte sur une enquête menée au près des éleveurs sur la conduite des

troupeaux laitiers. L'analyse microbiologique de nos échantillons laitiers a porté sur 05 groupes bactériens conjecturés par la norme nationale. La moyenne la plus élevée pour la flore mésophile totale a été enregistrée durant la saison du printemps avec une moyenne saisonnière de l'ordre de $5,1 \cdot 10^5$ UFC/ml de lait cru. Les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux étaient présents dans le lait cru avec des moyennes les plus élevées durant la saison du printemps respectivement $5,97 \cdot 10^3$ UFC /ml de lait cru, $5,4 \cdot 10^2$ UFC /ml de lait cru. *Staphylococcus aureus* se trouvait en plus grand nombre durant la saison de l'été avec une moyenne de $3,1 \cdot 10^2$ UFC /ml de lait cru, la teneur en *Clostridium sp* était acceptable avec une moyenne malgré plus élevée durant la saison d'automne $4,75 \cdot 10^1$ UFC /ml de lait cru. Les laits ont été classés selon trois classes ; les laits les moins contaminés produits durant les saisons de l'été et la saison de l'automne, les laits contaminés produits durant la saison de l'hiver et les laits les plus contaminés produit durant la saison du printemps. Des différences importantes témoignent de l'irrégularité de la qualité de ce produit laitier en relation avec la saison et les pratiques d'élevages existant au niveau des exploitations. Ces résultats ne peuvent que renforcer la conviction de la mise en place d'un système de contrôle et d'appui technique ainsi que la révision du mode de prélèvement du lait qui doit prendre en compte l'aspect microbiologique.

Mots clés : lait cru, qualité microbiologique, hygiène, saison, Ouest Algérien.

Introduction

Le lait est un aliment de base pour de nombreux mammifères car il constitue un substrat riche en carbohydrates, lipides, vitamines et minéraux (Bloey et Edmondson, 2000 ; Jones 1999). il est utilisé comme matière première pour la fabrication de nombreux dérivés tels que les produits laitiers fermentés comme les fromages, c'est est un substrat idéal pour le développement des micro-organismes indésirables par sa richesse en nombreux facteurs de croissances permettant de satisfaire de nombreuses espèces microbiennes exigeantes, et les conditions d'hygiènes au niveau de la ferme et tout le long du circuit de la production jusqu'à l'arrivé du lait à la laiterie, comporte autant de sources de contamination à maîtriser afin de préserver la qualité hygiénique du lait (Faye et Loiseau 2000).

L'objectif de notre travail est d'évaluer la qualité microbiologique du lait cru de vache à la traite, qualité souvent instable et douteuse durant toute l'année, au cours des quatre saisons d'une part et d'autre part de déceler les défaillances en amont, au niveau de la ferme, qui peuvent compromettre la qualité du fromage à base de lait cru et qui peuvent constituer des points critiques à maîtriser.

Matériels et méthodes :

L'étude a été menée durant la période de juin 2015 jusqu'à mai 2016, dans la région Ouest de l'Algérie, dans 09 exploitations d'élevages.

Un plan d'échantillonnage a été préalablement établi, nous avons réalisé des prélèvements au niveau de chaque exploitation et durant chaque saison. Les prélèvements étaient réalisés à partir d'un lait de mélange (la traite du soir avec celle du matin) dans des flacons stérile, ces derniers étaient acheminés au laboratoire d'analyses biologiques dans une glacière électrique dans moins de 03 heures.

A chaque prélèvement l'évaluation de la qualité des pratiques d'élevage existant au niveau des exploitations a été réalisée par le biais d'un questionnaire qui comportait les exigences de l'état zootechnique et sanitaire des exploitations laitières.

Les analyses bactériologiques ont été réalisées selon les normes officielles algériennes (J.O.R.A. N° 35 1998).

Nous avons isolés et identifiés les bactéries de la flore mésophile totale à 30C°, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux, l'espèce *Staphylococcus aureus* et les clostridium sulfito-réducteurs.

Résultats et discussions :

La flore mésophile totale

La flore mésophile aérobie totale est l'image de la qualité hygiénique du lait cru, elle est considérée comme un facteur déterminant de la durée de conservation du lait frais (Guinot. Thomas *et al*, 1995).

L'énumération de cette flore durant les 04 saisons a montré qu'il y a une différence significative entre les saisons avec un taux élevé pendant le printemps (Figure 01), durant laquelle tous les échantillons prélevés étaient contaminés avec un taux dépassant le seuil fixé par la législation (Jora, 1998).

La moyenne la plus élevée est de l'ordre de $7.1 \cdot 10^5$ UFC/ml de lait cru durant la saison du printemps pour la wilaya de Relizane, la moyenne la plus basse est de $1.1 \cdot 10^5$ UFC/ml de lait cru était enregistré durant la saison de l'hiver pour la wilaya de Sidi Bellabbes. Le taux de contamination des échantillons prélevés était plus faible, il est de l'ordre de 55.55% durant l'automne contre 100% pour la saison du printemps pour l'ensemble des wilayas.

Nos résultats sont inférieurs à ceux de Aggad et coll (2009) pour le lait cru individuel où la moyenne était de $3.3 \cdot 10^5$ durant la saison hivernale sauf pour la wilaya de sidi bellabbes où la moyenne était de $3.8 \cdot 10^5$ durant la saison hivernale. Nos résultats pour la saison estivale pour la wilaya de Sidi Bellabbes, mascara, et Relizane étaient respectivement de l'ordre de $0.3 \cdot 10^5$ UFC/ml de lait cru, $3.9 \cdot 10^5$ UFC/ml de lait cru, $4.2 \cdot 10^5$ UFC/ml de lait cru, ces valeurs sont inférieure à ceux rapportés par Karimoribo et Coll (Année) en période estivale et qui sont de $3.4 \cdot 10^7$ UFC/ml de lait cru.

Selon Hamhouri et coll (1998), un taux de contamination élevé révèle un manque de respect des bonnes pratiques de production et de stockage du lait. Selon Richard (1983), la flore totale du lait cru est fortement susceptible l'exposition aux polluants (10^5 à 10^8 germes pathogènes/ml de lait cru) essentiellement des streptocoques et des bactéries à Gram négatif. Habituellement trouvée dans la vaisselle laitière mal lavée.

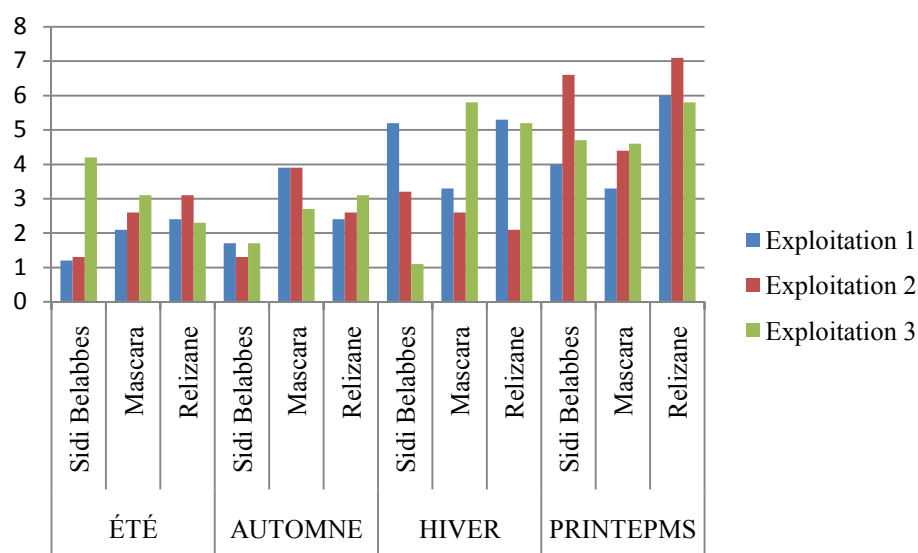


Figure N° 01 évolution de la flore mésophile totale (10^5 UFC/ml de lait cru) pendant les quatre saisons.

Les coliformes fécaux

La moyenne de dénombrement des coliformes fécaux était la plus élevée durant la saison du printemps pour la wilaya de relizane $9.1 \cdot 10^3$ UFC/ml de lait cru (Figure 02), la moyenne la plus faibles était enregistrés durant l'été $0.8 \cdot 10^3$ ces résultats sont très variable et supérieur à la norme 10^3 UFC/ml de lait cru (Jora, 1998). Le taux de contamination de contamination des échantillons prélevés était plus faible durant la saison d'automne avec un taux de 44%.

Ces microorganismes sont des indicateurs de la contamination d'origine fécale et témoigne les conditions hygiéniques lors de la traite ou au cours du transport (Labioui *et al*, 2009). Les coliformes fécaux sont surtout des *Escherichia coli* dans 95 à 99% (Rozier *et al*, 1985), selon Mocquet et Guittonneau (1939) les coliformes du genre *Escherichia coli* sont plus fréquents dans les excréments des vaches laitières et contaminent le lait par le contacte direct avec le pis ou en se multipliant après un mauvais rinçage des ustensiles laitiers.

Srairi et Hmama (2006) ont montré que les premiers jets avant la traite auraient comme prévention naturelle une chute de l'incidence de contamination par les coliformes et les streptocoques dans le lait.

pendant la saison d'été, nos résultats sont similaires à ceux retrouvés par Niar et Ghazi (2011) dans la région de Tiaret avec une moyenne de 1.7×10^4 UFC/ml de lait cru et sont nettement inférieur pour l'ensemble des saisons par rapport à ceux rapportés par Afif et al (2008) au Maroc (32×10^4 UFC/ml de lait cru).

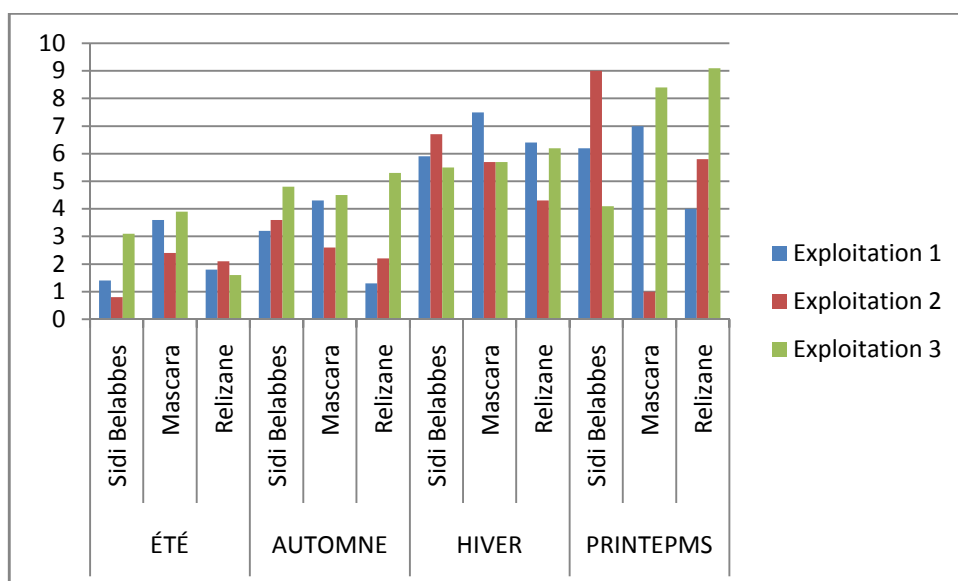


Figure N° 02 évolutions des coliformes fécaux (10^3 UFC/ml de lait cru) pendant les quatre saisons.

Les streptocoques fécaux

La charge moyenne des streptocoques fécaux varie entre 0.4×10^2 et 7.6×10^2 UFC/ml de lait cru. Le critère Algérien fixé pour ce germe est l'absence dans 0.1ml du lait cru. D'après nos résultats (Figure 03) les moyennes les plus élevées étaient enregistrées durant la saison du printemps et la moyenne la plus basse était enregistrée durant la saison de l'automne. Le taux de contamination le plus bas dans nos échantillons analysés était de 33% et était enregistré durant la saison de l'hiver alors qu'il était de 67% durant la saison du printemps.

Selon Veissere (1975), les streptocoques fécaux résistent à une température de 88°C pendant 10 minutes. Nos résultats sont supérieurs à ceux retrouvés par Aggad et al (2009) 0.51×10^2 UFC/ml de lait cru, et sont inférieur à ceux rapportés par Labioui et al (2009) 0.4×10^3 UFC/ml de lait cru. Des charges en streptocoques fécaux dépassant la norme ont été observées par Bouchibi et Boulame (1997) à Constantine avec des charges moyennes de 14×10^4 UFC/ml de lait cru.

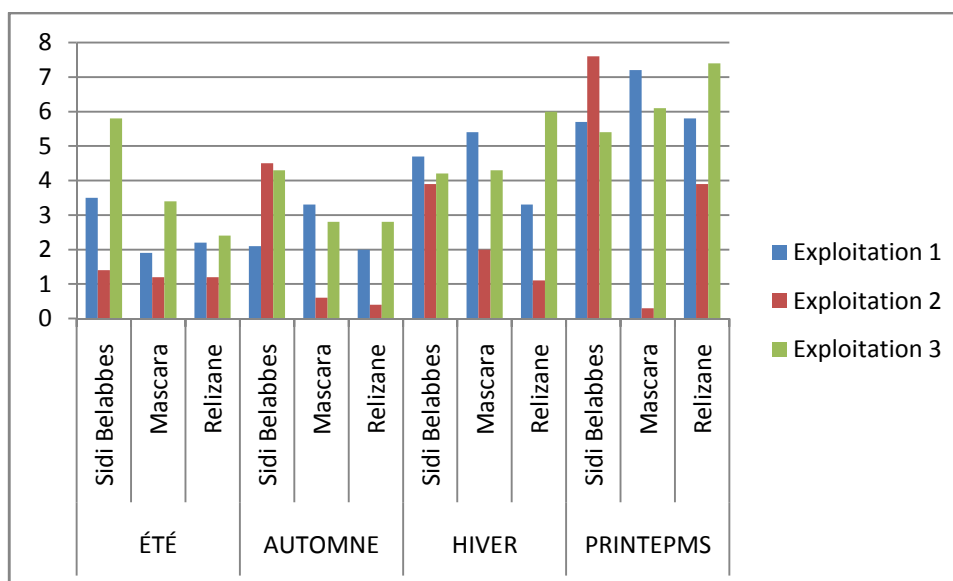


Figure N° 03 évolutions des streptocoques fécaux (10^2 UFC/ml de lait cru) pendant les quatre saisons.

Staphylococcus aureus

Les normes Algérienne pour *Staphylococcus aureus* est l'absence dans le lait cru. *Staphylococcus aureus* contamine le lait cru soit par excrétion directe des mamelles d'animaux atteint de mammmites soit par l'ensemencement lors de la manipulation et de la transformation du lait (Afif *et al*, 2008). Fourichi et al (2004) cité par Bouaziz (2005) montrent que le nettoyage incomplet de la machine à traire permis a survie des agents pathogènes.

La charge moyenne de *Staphylococcus aureus* varie entre 0 et $5.2 \cdot 10^2$ UFC/ml de lait cru, les moyennes les plus faibles étaient enregistrés durant les saisons de l'automne et le l'hiver (Figure 04), le taux de contamination était plus élevé durant la saison de l'été avec des taux allant de 66.66% à 89% des échantillons prélevés. Nos résultats sont inférieurs durant la saison de l'hiver à ceux rapportés par Aggad et al (2009) dans l'Ouest Algérien en hiver avec une moyenne de $35 \cdot 10^2$ UFC/ml de lait cru, et sont nettement inférieur à ceux obtenus par Mennane et coll (2007) au Maroc avec une moyenne de $1.2 \cdot 10^6$ UFC/ml de lait cru.

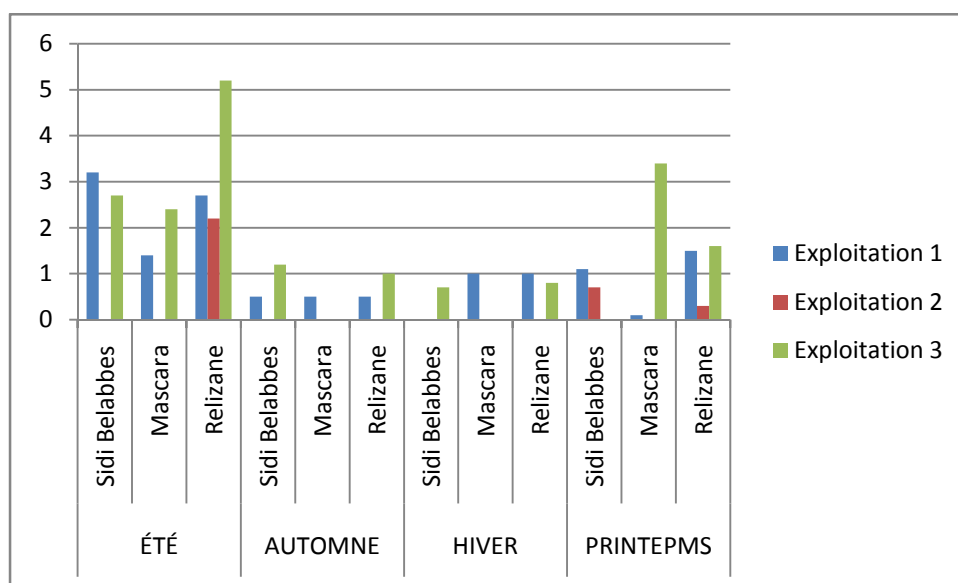


Figure N° 04 évolutions des *Staphylococcus aureus* (10^2 UFC/ml de lait cru) pendant les quatre saisons.

Clostridium sulfito-réducteurs

La norme Algérienne pour les clostridium sulfito-réducteur est de 20 germes /ml de lait cru, ce germe a été présent dans 42% des échantillons, les moyenne les plus élevés étaient observés durant la saison de l'automne avec une charge moyenne de $2.6 \cdot 10^1$ UFC/ml de lait cru, et les moyenne les plus basses étaient observés durant la saison du printemps (Figure 05). Pendant l'automne, nos résultats qui sont de l'ordre de 10^2 UFC/ml de lait cru sont inférieurs à ceux de Farougou et coll (2011) avec une moyenne de $0.4 \cdot 10^2$ UFC/ml de lait cru.

Les résultats de l'enquête sur la conduite des troupeaux à savoir l'état des exploitations, l'aménagement des locaux, la conduite de la traite et l'alimentation ont montré qu'il y a une véritable variation des pratiques d'élevage entre les saisons et que cette variation est à la base de la cinétique des germes recherchés.

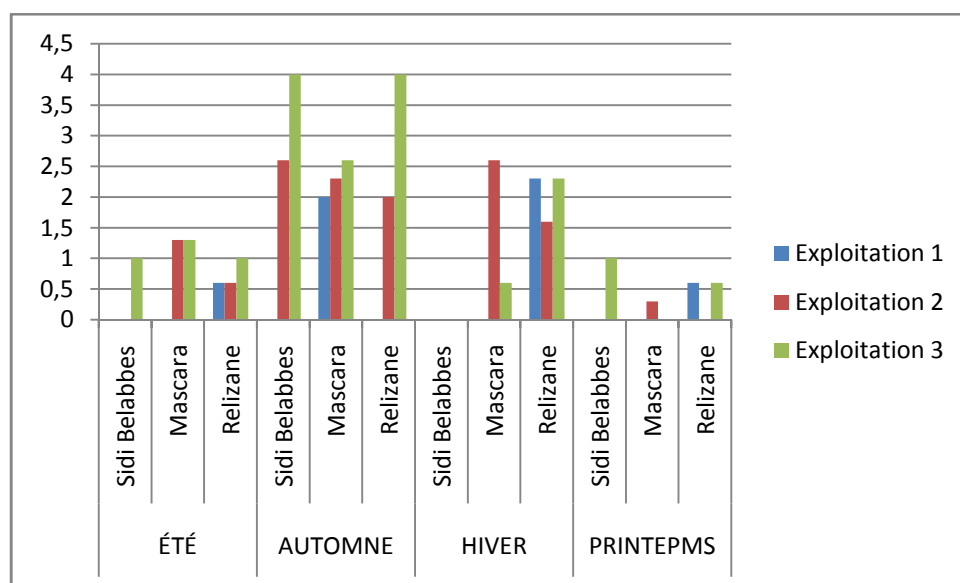


Figure N° 05 : Evolution des clostridium sulfite-réducteurs (10^1 UFC/ml de lait cru) pendant les quatre saisons.

Conclusion :

L'étude réalisée durant les 04 saisons a révélé que la qualité du lait était dans sa globalité en dessous des normes et que les laits les moins contaminés étaient produits durant la saison de l'automne qui coïncide avec la phase de basse lactation.

La saison a un effet significatif par le biais de l'alimentation distribuée et les pratiques d'élevages qui se différencient d'une saison à une autre. Ces résultats confirment la nécessité d'un appui en matière de formation en faveur des éleveurs afin de préserver la qualité du lait destiné à la fabrication d'un fromage à base de lait cru.

Références :

- . Afif A., Faid M., et Najimi M. (2008). Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Revue en biologie et biotechnologie* Vol 7.N° 1. PP : 2-7
- . Aggad H., Mahouz F., Ahmed Ammar Y. et Kihal M. (2009). Evolution de la qualité hygiénique du lait dans l'Ouest Algérien, *Revue Méd.Vét.*, 160, 12. PP : 590-590
- . Arrêté interministériel du 25 janvier relatif aux spécifications microbiologiques de certains denrées. Ministère du commerce. JORADP N° 35, 1998, Algérie
- . Blowey R, Edmonson P.: mastitis control in dairy herds ; an illustrated practical guide farming press toubridge, 200, 134-138.
- . Bouaziz O.: contribution à l'étude des infections intermammaries de la vache laitière dans l'Est Algérie. Thèse de Doctorat d'état en pathologie de la reproduction. Département des sciences vétérinaires. Université de Constantine
- . Faye B., Loiseau G.: sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. In : Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement, actes de l'atelier international, Montpellier, 11-13 décembre 2000, 11-13

- . Ghazi K., et Niar A. Qualité du lait cru de vache dans différents élevages de la wilaya de tiaret (Algérie), Tropicultura. 2011, 29, p. 193-196
- . Guinot Thomas p. Ammoury M. et Laurent F. (1995). Effects of storage conditions on the composition of raw milk. International Dairy Journal N° 5. PP: 211-223
- . Guiraud J.P.(2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNO. Paris. PP: 136-139
- . Jones G.M.: farm tests for drug residues in milk. Milk quality and milking management, department of dairy science, Virginia Tech., 1999, 401-404
- . Karimoribo E., Kusiluka L.J., Mdegela R.H., Kapaga A.M., Sinodato C., Kambarage D.M. : studies on mastitis, milk quality and health risks associated with consumption of milk from pastoral herds in Dodoma and Morogoro region, Tanzania. Journal Vet. Sci., 2005,6, 213-221
- . Labioui H., Laarousi E., Benzakour A., Elyachoui M., Berny E. et Ouhssine M. : Etude physicochimique et microbiologique de lait cru. Bull. soc. Pharm. Bordeaux, 2009, 148. Pp : 7-16
- . Richard J. : Nature de la flore microbienne dominante et sous dominante des laits crus très pollués. Le lait, 1983, 63,148-170.
- Srairi M. T., Hamama A. Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, concepts, état des lieux et perspectives d'amélioration. Transfert de technologie en agriculture, 2006, 137 : 1- 4.
- . Veisseyre R. (1975). Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait 3^{ème} édition. Edition la maison rustique, Paris

P06. Diagnostic de la Qualité du lait cru de vache réceptionné dans les laiteries de l'ouest d'Algérie.

Seddaoui Ismail¹, Ait Saada Djamel², Homrani. A¹ et Sassi E¹.

(¹) : laboratoire Des Sciences Et Techniques De Production Animale, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.

(²) : laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.

Resumé :

L'état hygiénique et la qualité physicochimique du lait frais de collecte comptent parmi les principaux critères déterminants de la qualité organoleptiques des principaux produits dérivés dont les fromages et les yaourts. Cette étude a porté sur l'appréciation en fonction des saisons de collecte (automne, hiver, printemps et été) de la qualité du lait cru de vache réceptionné dans les laiteries couvrant la région Ouest d'Algérie. Quatre vingt seize échantillons de lait cru de vache (lait de mélange) ont été collectés dans différentes laiteries réparties dans la région de l'ouest algérien. Les prélèvements de lait cru ont été effectués chaque mois pendant une période d'une année allant du 21 juin 2015 au 21 mai 2016, au niveau de deux laiteries réparties dans chacune des wilayas suivantes : Mostaganem, Sidi bel abbés, Mascara et Relizane. Les résultats obtenus ont montré une médiocre qualité physico-chimique et un mauvais état hygiénique du lait réceptionné. L'évaluation des caractéristiques physico-chimiques a montré dans l'ensemble des échantillons prélevés dans la région Ouest une moyenne globale de température à la réception de 14.4°C, une moyenne globale d'acidité de 17.4 °D, une densité moyenne globale de 1029.7, une moyenne globale de matière grasse égale 31.2gr/l, et une moyenne globale d'extrait sec total de 115gr/l. Sur le plan microbiologique, les échantillons ont présenté un nombre moyen de 239.10⁴ UFC/ml en flore

aérobie mésophile totale (FAMT), de 16.10^3 UFL/mlen coliformes fécaux, de 790UFL/mlen germes streptocoques fécaux et de 55 UFL /mlen clostridium –sulfito-réducteurs. Aucune présence de *Staphylococcus aureus* n'a été décelée dans les échantillons recensés. Le bien-être, la propreté des animaux, les personnes intervenant et leur environnement avec une disponibilité alimentaire saine et équilibrée peuvent assurer sans doute un lait de vache de meilleure valeur nutritionnelle et hygiénique.

Mots clés : lait cru, qualité physicochimique, L'état hygiénique, qualité organoleptiques, Ouest Algérien.

Introduction

Ces dernières années des tonnages sans cesse croissants en lait collecté à travers plusieurs fermes d'élevages nationales sont utilisés et mélangés au lait recombinaison (à différentes proportions) dans les fromageries et les yaourtières. En dehors du souci de combler le déficit et répondre aux besoins de la population algérienne, le lait frais de collecte est de nature à améliorer sensiblement la qualité organoleptiques des produits fabriqués, étant entendu que la multiplication des traitements technologiques opérés généralement pour l'obtention de la poudre, pour sa reconstitution et pour la stabilisation de son état physico-chimique et hygiénique engendrent inéluctablement des effets néfastes sur la qualité finale du produit obtenu.

Cette étude contribue donc à une meilleure connaissance de la qualité physicochimique et microbiologique du lait cru issu de l'élevage bovin entrepris à l'Ouest d'Algérie en vue de promouvoir sa production potentielle et diversifier son utilisation agroindustrielle dans la région.

Matériel et méthodes :

1. Echantillonnage

Quatre vingt seize échantillons de lait cru de vache (lait de mélange) ont été collectés dans différentes laiteries réparties dans la région de l'ouest algérien. Les prélèvements de lait cru ont été effectués chaque mois pendant une période d'une année allant du 21 juin 2015 au 21 mai 2016, au niveau de deux laiteries réparties dans chacune des wilayas suivantes : Mostaganem, Sidi bel abbés, Mascara et Relizane.

Les prises d'échantillons de lait ont été effectuées avec une louche stérile directement dans les tanks de stockage possédant un système d'agitation mécanique et de réfrigération. Le lait est mélangé à chaque fois au préalable avant remplissage dans un flacon stérile portant un code de la laiterie impliquée dans l'étude. Les prélèvements sont ensuite refroidis à $+02^{\circ}\text{C}$, jusqu'au

moment des analyses physicochimiques et microbiologiques qui doivent être exécutées dans un délai n'excédant pas les 24 heures.

2. Analyses physicochimiques et microbiologiques

Les analyses ont été réalisées au niveau du Laboratoire Des Sciences Et Techniques De Production Animale, et le laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition, relevant de l'Université De Mostaganem.

Les échantillons de lait frais de vache prélevés des différentes laiteries durant toute la période expérimentale ont subi les analyses suivantes:

2. 1. Analyses physico-chimiques :

2. 1.1. Acidité doronic D° : le titrage se fait à l'aide d'une solution de soude à N/9 (0,111 mol/l) et de phénolphtaléine en solution alcoolique à 2 % employée comme indicateur , On prélève 10 ml de lait, on y ajoute deux gouttes de phénolphtaléine et on verse la soude goutte à goutte jusqu'à obtenir une couleur rose pale. La quantité de soude en mL versée multipliée par 10 correspond au degré Dornic. N F 04-206.

2. 1.2. Dosage de la matière grasse : se fait par la méthode acidobutyrométrique dite « Gerber ». C'est la dissolution de tous les éléments du lait par l'acide sulfurique à l'exception de la matière grasse, par centrifugation et grâce à l'alcool iso amylique (1ml). On peut identifier notre matière grasse qui se différencie des autres composants par une couche claire et transparente. **ISO 488|FIL 105.**

2. 1. 3. Densité et T c° de réception : (<https://fr.scribd.com>).

Mesurée à l'aide d'un Thermo lactodensimètre : On met 250 ml de lait dans une éprouvette, il est préférable que celle-ci soit incline pour éviter la formation de la mousse qui gêne la lecture de la température. Après on plonge le lactodensimètre et on le laisse prendre la position d'équilibre et on note la valeur de la densité et celle de la température.

La densité prise est une densité à l'état brut, elle est corrigée à l'aide d'un tableau de référence.

Densité corrigée = densité lue + 0,2 (température du lait - 20°C)

2. 1. 4- Dosage de la matière sèche :

C'est la dessiccation d'un volume de lait et peser le résidu. **AFNOR 1980.**

On fait la pesée d'une capsule vide (m).après on ajoute 10ml de lait dans la capsule, et on met le tout dans l'étuve de 3 à 5 heures à 120°C .Mettre ensuite la capsule dans un dessiccateur.après refroidissement, on pèse la capsule (M).

On dit matière sèche ou extrait sec total à « E.S.T ». $E.S.T \% = 100(M-m)$

M : masse en gramme de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement,

m: masse en gramme de la capsule vide.

3. 2. Analyses microbiologiques :

Pour chaque échantillon, cinq groupes de bactéries ont été étudiés :

la flore mésophile aérobie totale à 30 °C, les coliformes fécaux, les *Streptococcus fecalis*, les *Staphylococcus aureus* et les *Clostridium sulfito-réducteurs* à 46 °C. **JORA N° 35 -1998.**

À partir du lait homogénéisé préalablement par agitation mécanique dans des flacons de verre d'une capacité de 100 ml, des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , ont été réalisées dans une solution de tryptone sel (TSE) porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri vide.

3. 2. 1. Flore aérobie mésophile totale:

Ce dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du produit.

- On utilise 15 ml de gélose PCA (Plate Count Agar) fondue et refroidie à 45 ± 1 °C dans les boîtes de pétri. Pour permettre à l'inoculum de se mélanger au milieu, faire des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 ». Laisser solidifier, puis incuber à 30 ± 1 °C pendant 72 h ± 2 heures.

- Les colonies présentant sous forme de lenticulaire en masse sont considérées comme germes aérobies mésophiles totaux. **ISO 4833-1.2013.**

3. 2. 2. -Coliformes fécaux :

On utilise 15 ml de la gélose biliée lactosée au rouge neutre et cristal violet (VRBL) fondue et refroidie à 45 ± 1 °C. Pour bien mélanger la gélose avec l'inoculum faire des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 ». Laisser solidifier et couler 5 ml de la même gélose cette double couche a un rôle protection contre les diverses contaminations. Incuber les milieux ensemencés à 44 ± 0.5 °C pendant 24 heures ± 2 heures.

Les colonies rouges (lactose +) présentant 0.5 mm de diamètre sont qualifiées de coliformes fécaux.

ISO 4832 NF V08-060

3. 2. 3. Streptocoques fécaux :

Pour le test présomptif, introduire aseptiquement dans une série de tubes (trois tubes par dilutions) contenant le milieu sélectif de ROTH 0.1 ml de lait cru non dilué. Incuber à 37 ± 1 °C pendant 48 heures. Pour la confirmation des résultats, repiquer les tubes de ROTH positifs (présentant un trouble microbien) à l'aide d'une anse bouclée sur des tubes contenant le milieu EVA Litsky. Incuber à 37 ± 1 °C pendant 48 heures. En présence d'un trouble avec ou sans dépôt blanchâtre ou mauve, on suspecte la présence de streptocoques fécaux. **NEN 6817:2016**

3. 2. 4. *Staphylococcus aureus* :

On utilise la gélose de Baird Parker, mélangée soigneusement et aseptiquement avec 15 mL d'une solution de jaune d'œuf au Tétracycline de potassium. Puis repartir le milieu en boîtes de pétri à raison de 15 mL par boîte. après séchage, réaliser un étalement de 0.1 ml de l'inoculum dilué, sur toute la surface de la boîte. Laisser solidifier, puis incubé à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 h à 48 heures.

Les colonies noires, brillantes, convexes ou gris noirâtres ayant parfois un aspect mat et une texture sèche et entourées d'un halo clair d'environ 2 à 5 mm de diamètre sont considérées comme *Staphylococcus aureus*.

ISO 6888-1:1999

3. 2. 5. Clostridium Sulfito-Réducteurs:

On utilise le milieu de culture gélose viande de foie fondue et refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$, et mélangé avec une ampoule d'alun de fer et d'autre sulfite de sodium. Pour activer les spores des clostridies et détruire les germes sous forme végétative, les tubes contenant les dilutions seront chauffés à 80°C pendant 10 min puis refroidis. mélanger aseptiquement dans deux tubes 01 ml de chaque dilution avec 15 ml du milieu de culture. Laisser solidifier, puis incubé à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 h à 48 heures. Les colonies de clostridium-sulfite réducteurs sont envahissantes et on se retrouve en face d'un tube complètement noir ayant poussé en masse. **ISO 15213 .2003**

4. Traitement statistiques

Les données expérimentales ont été traitées statistiquement par un logiciel Software à savoir le Stat Box 6.4. Ils ont subi une analyse de variance mono-factorielle en randomisation totale et une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

5. Résultats :

5.1-Analyses physico-chimiques :

5.1.1. Effet des saisons de collecte sur la qualité physicochimique du lait cru

Les valeurs d'acidité lactique recensées dans les échantillons de lait cru réceptionnés au niveau des laiteries de l'ouest du pays durant la période estivale et au printemps sont significativement ($p < 0.01$) plus élevées que ceux acheminés durant l'hiver et en automne ; 17.79 et 17.56 contre 17.23 et 17.13 $^\circ\text{D}$, en moyenne.

Les degrés de température les plus forts ($p < 0.01$) du lait cru ayant été estimés à 17°C ont été enregistrés dans les tanks de stockage pendant l'été; alors que les faibles ($p < 0.01$) résultats ayant avoisinés 12°C ont été relevées en hiver. En automne comme au printemps la température des lait des tanks de stockage reste comparable ($p > 0.05$); 14.04 vs 14.6°C , en moyenne.

Le lait cru collecté dans la région durant le printemps a présenté une meilleure densité ($p < 0.01$) par comparaison aux autres périodes de l'étude à savoir d'été, d'automne et hivernale ; 1.03056, 1.02937, 1.02929 et 1.02952, en moyenne, respectivement.

En hiver et au printemps les teneurs en matière grasse analysées dans les prélèvements de lait cru sont sensiblement identiques ($p > 0.05$) ; 32.14 et 32.04 g/l. Ces valeurs sont relativement plus élevées ($p < 0.05$) à ceux enregistrées pendant l'été (30.29 g/l) et en automne (30.46 g/l).

Par ailleurs, au printemps et en hiver les échantillons de lait cru collecté étaient remarquablement plus riches en extrait sec total que durant l'été et l'automne ($p < 0.01$) ; 119.89 vs 115.92 vs 111.92 vs 112.46 g/l, en moyenne.

5.1.2. Effet des régions de collecte sur la qualité physicochimique du lait cru

Les laits crus de vache réceptionnés dans les laiteries relevant des quatre régions de l'ouest du pays impliqués dans l'étude dont Mostaganem, Mascara, Sidi Bel Abes et Relizane ont présenté les mêmes valeurs ($p > 0.05$) d'acidité titrable (17.29 à 17.54 °D), de température (13.92 à 15 °C), de densité (1.02950 à 1.02979) et de matière sèche (114.62 à 115.35 g/l).

Comparativement à l'ensemble des régions de l'étude, le lait collecté à Mascara s'avère contenir les teneurs les plus élevées ($p < 0.01$) en matière grasse ; 31.62 g/l, en moyenne. En revanche, les médiocres valeurs ($p < 0.01$) ont été notées dans le lait cru provenant de Sidi Bel Abes ; 30.83 g/l. Les laits enfin originaux de Mostaganem et de Relizane ont accusé des concentrations comparables ($p > 0.05$) et meilleures ($p < 0.01$) à celle de Sidi Bel Abes ; 31.14 et 31.33 g/l, respectivement.

5. 2. Analyses microbiologiques :

5.2.1. Effet des saisons de collecte sur la qualité physicochimique du lait cru

Durant les quatre saisons de l'étude le nombre de germes aérobies mésophiles reste comparable dans tous les échantillons de lait cru réceptionnés dans les différentes laiteries situées à l'ouest d'Algérie ; 223 à 246 10^6 UFC/ml.

En été le nombre de coliformes fécaux est significativement ($p < 0.01$) plus important dans les échantillons de lait cru par comparaison à ceux réceptionnés durant notamment l'automne, l'hiver et le printemps où les niveaux de ces germes ont nettement régressé ; $189 \cdot 10^2$, $139 \cdot 10^2$, $155 \cdot 10^2$ et $177 \cdot 10^2$ UFC/ml, successivement.

Le nombre de Streptocoques fécaux décelé en été dans le lait cru est très élevé ($p < 0.01$) notamment à celui collecté durant l'hiver accusant une meilleure qualité microbienne ; $105 \cdot 10$ vs $52 \cdot 10$ UFC/ml, en moyenne. Par ailleurs, durant l'automne et au cours de la période printaniaire les laits des laiteries ont accusé une charge en Streptocoques fécaux similaire ($p < 0.01$), de l'ordre de $78 \cdot 10$ vs 83 UFC/ml.

Aucune contamination au *Staphylococcus aureus* du lait cru n'a été remarquée en fonction des saisons de l'étude.

Les fortes contaminations au Clostridium sulfito-réducteur enregistrées dans les échantillons expérimentaux en périodes chaudes de l'été (80 UFC/ml) ont connu des diminutions appréciables ($p < 0.01$) durant les périodes de l'hiver (34 UFC/ml), d'automne (49 UFC/ml) et de printemps (57 UFC/ml).

5.2.1. Effet des régions de collecte sur la qualité physicochimique du lait cru :

Le lait cru de la laiterie de Sidi Bel Abes a enregistré une forte contamination aux germes aérobies mésophiles suivi de celui de Mascara ($p < 0.01$) ; $260 \cdot 10^4$ vs $222 \cdot 10^4$ UFC/ml. Le lait cru réceptionné dans les laiteries de Mostaganem et de Relizane ont été les moins contaminés en ces germes ($p < 0.05$) ; $239 \cdot 10^4$ et $235 \cdot 10^4$ UFC/ml, respectivement.

Quant aux coliformes fécaux, le lait cru de la région de Mostaganem s'avère très chargé ($p < 0.01$) en ces germes par comparaison au lait cru des laiteries de Mascara, Sidi Bel Abès et de Relizane ; $229 \cdot 10^2$ vs $166 \cdot 10^2$ vs $136 \cdot 10^2$ vs $129 \cdot 10^2$ UFC/ml, en moyenne.

Le nombre de Streptocoques fécaux des laits crus n'a pas varié significativement ($p > 0.05$) en fonction des régions de l'étude ; de $75 \cdot 10^1$ à $85 \cdot 10^1$ UFC/ml, en moyenne.

Par ailleurs, tous les laits crus des différentes laiteries incluses dans l'étude sont exemptes de contaminations au germe pathogène *Staphylococcus aureus*.

Concernant le germe Clostridium sulfitoréducteur, les niveaux de contamination ont tendance à diminuer significativement dans les laits crus réceptionnés pour respectivement les laiteries des régions de relizane (77 UFC/ml), Sidi Bel Abès (58 UFC/ml), Mascara (65 UFC/ml) et Mostaganem (20 UFC/ml)

6-Discussion :

L'ensemble des échantillons étudiés ont connus une acidité dornic acceptable comparativement à la norme nationale qui exige une acidité dornic inférieure à $18 D^\circ$ JORA N° 069 -1993.

Une moyenne globale de $17.4 D^\circ$ enregistrée dans toutes les laiteries, la saison d'été a enregistré la plus forte acidité, cette situation s'explique par l'effet de la température sur la variation de l'acidité du lait cru.

H. AGGAD et collaborateurs 2009 ont trouvé une acidité acceptable dans des laits crus de mélange dans l'ouest de l'Algérie.

Pour la température à la réception, L'ensemble des échantillons étudiés ont connus une température inacceptable cette situation est inquiétante comparativement à la norme nationale qui fixe une température entre $4 C^\circ$ à $6 C^\circ$ JORA N° 069 -1993 .Une moyenne globale de $14.4 C^\circ$

enregistrée dans toutes les laiteries, la saison d'été a enregistré la plus forte température, cette situation s'explique par le non respect de la chaîne froide.

Le lait de vache a une densité moyenne égale à 1,032. C'est un mélange très complexe et très instable, L'ensemble des échantillons étudiés ont connus une faible densité comparativement à celle rapportée par **Mathieu 1998**, Une moyenne globale de 1029.7 enregistré dans toutes les laiteries, la saison d'automne a connus la plus faible densité, cette situation s'explique par la variation de La teneur en matière sèche, en matière grasse, de l'augmentation de la température et des disponibilités alimentaires **LUQUET F. M.1985**.

La norme nationale exige une densité entre 1030 à 1034 **JORA N° 069 -1993**.

Pour la matière grasse une faible moyenne globale de 31.2gr/l a été enregistrée dans toutes les laiteries, la saison d'automne a connu la plus faible quantité de matière grasse, cette situation reste inquiétante comparativement à la norme nationale qui exige un teneur inférieur ou égale 34gr/l **JORA N° 069 -1993**.

L'extrait sec total de lait de vache a enregistré une faible moyenne globale de 115 gr/l dans toutes les laiteries, la saison d'été a connus la plus faible quantité d'extrait sec total, cette situation s'explique par La variabilité de la teneur en matière grasse dépend des facteurs tels que les conditions climatiques, le stade de lactation et l'alimentation. Une moyenne 117.5gr/l a été trouvée par **Labioui et al. 2009** dans le lait cru de vaches d'étables de deux fermes de la région de Mnasra au Maroc.

La flore mésophile aérobie totale(FMAT) est un indicateur sanitaire qui permet L'ensemble des échantillons étudiés ont montré une contamination très importante par la flore mésophile aérobie totale, elle est supérieure à 105 UFC/ml, une moyenne globale de 239 104ufl/ml enregistrée dans toutes les laiteries, cette contamination s'explique par l'absence et le non respect des règles d'hygiène surtout dans la wilaya de sidi bel abbés. Ce niveau de contamination est très alarmant comparativement à la norme nationale qui fixent le niveau de contamination à 105 ufl/ml **JORA N°35-1998**.

L'ensemble des échantillons étudiés ont montré une contamination très importante par les coliformes fécaux et les staphylococcus aureus, une moyenne globale de 16 103ufl/ml et 79 ufl dans 0.1ml enregistrée respectivement dans toutes les laiteries, la saison d'été a connu la plus forte contamination, cette contamination s'explique par l'absence et le non respect des règles d'hygiène. Ce niveau de contamination est très alarmant comparativement à la norme nationale **JORA N°35-1998**.

Pour Les *Staphylococcus aureus* L'ensemble des échantillons étudiés ont montré une absence des streptocoques aureus dans toutes les saisons et régions, la norme nationale exige absence totale dans les laits cru analysé **JORA N°35-1998**.

L'ensemble des échantillons étudiés ont montré une faible contamination des clostridium sulfito-réducteurs avec une moyenne concentration dans la wilaya de Relizane, une moyenne globale de 55 ufl /ml, enregistrée dans toutes les laiteries, cette contamination s'explique par l'absence et le non respect des règles d'hygiène surtout dans la saison d'été. Ce niveau de contamination est acceptable, comparativement à la norme nationale qui exige 50ufl/ ml de lait cru analysé **JORA N°35-1998**.

Conclusion :

En général, la présente étude a montré une faible qualité physico-chimique avec une mauvaise état hygiénique du lait de vache dans l'ouest de l'Algérie, cette situation alarmante s'explique par les contraintes d'ordre nutritionnel ,environnemental et le stress thermique qui sévit dans la région avec l'absence et le non respect par fois des bonnes pratiques d'élevage et les règles d'hygiène au niveau des exploitations, la collecte et les laiteries, La désinfection des matériels de la traite,transport et de stockage ;le bien-être , la propreté des animaux, les personnes intervenant et leur environnement avec une disponibilité alimentaire saine et équilibrée peuvent assuré un lait de vache de meilleure valeur nutritionnelle et hygiénique .

Références bibliographiques :

<https://fr.scribd.com/doc/135272958/13-Analyses-Microbiologique>
 H. AGGAD1*, F. MAHOUI, Y. AHMED AMMAR1, M. KIHAL.Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. Revue Méd. Vét., 2009, 160, 12, 590-595
 ISO 4833-1:2013
 Microbiologie de la chaîne alimentaire -- Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes
 Partie 1: Comptage des colonies à 30 degrés C par la technique d'ensemencement en profondeur
 ISO 4832 NF V08-060
 Méthode horizontale pour dénombrement des coliformes-méthode par comptage des colonies.
 «Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44°C».
 ISO 6888-1:1999 Microbiologie des aliments -- Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) -- Partie 1: Technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker
 ISO 15213 .2003 : spécifie une méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries sulfito-réductrices se développant en conditions anaérobies

JORA N° 069 -1993 : Spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. p.16 (N° JORA : 069 du 27-10-1993) (arrêté interministériel,18-10-1993).

JORA N°35 -1998:

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35 (Aouel Safar 1419 ,27 mai 1998)

ANNEXE 1 : critères microbiologiques relatifs a certaines denrées alimentaires

Tableau1 : critères microbiologiques des laits et des produits laitiers. P 8.

MATHIEU (J.) 1998 :

Initiation à la physicochimie du lait. PARIS : LAVOISIER, « Tec et Doc », 1998, 220 p.

NEN 6817:2016 Ontw. NI Melk en melkproducten - Bepaling van het gehalte aan fecale enterococcen

Labioui H., Laarousi E., Benzakour A., El Yachoui M., Berny E. et Ouhssine M. (2009).

Étude physico-chimique et Microbiologique de laits crus. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2009, 148. pp: 7-16.

LUQUET F. M. : Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre). Tome 1: les laits de la mamelle à la laiterie

Technique et documentation Lavoisier, 1985, 217-261

NF 04-206: R. Scott, Richard Kenneth Robinson, R. Andrew Wilbey, Cheesemaking practice, Springer, 1998, 3e éd., 449 p. Norme Française 04-206 (Janvier 1969).

AFNOR 1980 : (Association Française de Normalisation) - Lait.

Détermination de la matière sèche. NF VO4 207, In AFNOR (Ed.), Recueil de normes françaises. Laits et produits laitiers. Méthodes d'analyse. Paris : Normalisation française, 1980, p. 33-34.

ISO 488|FIL 105 : Lait — Détermination de la teneur en matière grasse Butyromètres Gerber
NORME AFNOR : NF V04-210 de décembre 1990

P07. Contribution à l'étude du régime alimentaire de l'oursin

***Arbacialixula*, (Linnaeus, 1758) vivant au niveau de la côte de Mostaganem.**

ELAKKERMI Mohammed* et SOUALILI Dina Lila.

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département des Sciences de la Mer et de l'Aquaculture, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie

Résumé

L'activité trophique des oursins a fait l'objet de nombreuses études. Cependant, en Algérie il y a un manque de données sur le comportement alimentaire des oursins en particulier l'oursin noir *Arbacialixula*. A cet effet, le présent travail a pour objectif de traiter le régime et les préférences alimentaires de l'oursin noir, vivant sur la côte de Mostaganem. Les résultats de cette étude permettront de déterminer, la place qu'occupe ce dernier dans le réseau trophique et dans le fonctionnement des écosystèmes marins étudiés.

A cet effet, ce travail, s'est étalé sur une année d'avril 2015 jusqu'à mars 2016 et a consisté à suivre le régime alimentaire des oursins noirs, vivants dans deux sites différents, l'un

(Salamandre) à substrat rocheux, riche en algues photophiles ; l'autre (*Stidia*) à substrat mixte, relativement saint et riche en algues photophiles. Un prélèvement mensuel de 30 individus d'*Arbacialixula*, vivant dans les deux sites a été effectué. Sur ces derniers, on a réalisé le calcul des indices biologique et écologique (indice de réplétion et de sélectivité). Ainsi, les résultats ont montré pour l'étude qualitative destinée à l'identification des items présents dans les contenus digestifs par la méthode des contacts de Jones (1968) que l'oursin *Arbacialixula* en général a une alimentation sélective. Il exerce un choix d'alimentation pour les algues rouges, suivi des algues vertes, ensuite des algues brunes en dernière position.

Mots clés : *Arbacialixula*, Salamandre, *Stidia*, contenus digestifs, algues.

Introduction

L'activité trophique des oursins a fait l'objet de nombreuses études (Frantziset *al*, 1988). En raison du rôle primordial qu'ils ont dans l'évolution des peuplements phytobenthiques (Fernandez et Caltagirone, 1998), la majorité des études sont principalement traitées l'aspect « contrôle des peuplements végétaux », par les échinodermes et leur broutage. D'autres études, basées sur les choix alimentaires des oursins réguliers ont conduit à l'établissement des théories de stratégie alimentaire liées au broutage et à la gestion du milieu. De telles études, montrant ainsi l'importance des relations algues-oursins dans le déterminisme de la structure des écosystèmes, sont encore peu nombreuses en Méditerranée, que ce soit dans les peuplements algaux, ou dans les herbiers à *Posidonia oceanica*.

Du fait qu'il y'a un manque immense de données sur le comportement alimentaire des oursins réguliers en Algérie. Le présent travail présente les résultats préliminaires que nous avons obtenus au cours de l'étude de l'éthologie alimentaire de l'oursin noir *Arbacialixula* de l'infra-littoral superficiel de la côte de Mostaganem.

L'oursin noir *Arbacialixula* (Linnaeus, 1758) fait partie des oursins, les plus abondants dans les habitats rocheux peu profonds de la Méditerranée (Sala et *al*. 1998).

Il est retrouvé dans les écosystèmes côtiers peu profonds (de 0 à environ 50 m de profondeur), il est plus fréquemment rencontré sur les surfaces rocheuses verticales, exposé à un degré élevé d'hydrodynamisme, mais il peut aussi être retrouvé dans d'autres biotopes tels que : les fonds rocheux plats et même les fonds sableux avec des blocs de roches épars (Wangenstein, 2013).

L'objectif principal de notre travail de recherche est de décrire certains aspects biologiques à savoir le comportement alimentaire d'*Arbacialixula*, en analysant son régime alimentaire durant une année, au niveau de deux sites différents de la région de Mostaganem.

Ce suivi a pour but d'une part, de définir les différences entre les populations d'oursins d'un même biotope et d'autre part, de déterminer et de détecter de possibles adaptations ou modifications de comportement de cette espèce en fonction des variations des facteurs de l'environnement. De plus, cela va nous permettre de comparer nos données à celles obtenues chez la même espèce dans d'autres régions méditerranéennes.

Matériel et méthodes

Choix des stations d'étude

Deux sites ont été choisis pour la réalisation de notre travail. Le choix a été établi selon plusieurs critères ; notamment l'état de santé du site en matière de pollution, différences de localisation géographique et pour des raisons pratiques telles que la facilité d'accès aux sites sans avoir recours à une embarcation, ainsi que la nature du biotope des deux sites.

Les sites choisis sont respectivement la Salamandre (extérieur du port devenue opérationnel en 2012), localisé à la périphérie de Mostaganem et la plage de Stidia localisée au sud-ouest de Mostaganem (Figure 1).



Figure 1. Localisation des sites de prélèvements (flèches blanches) dans la région de Mostaganem.

Le site de Salamandre se situe à une distance de 2.81 Km de l'extérieur de la ville de Mostaganem. Ce site est exposé aux vents dominants nord-ouest, il se caractérise par un effet hydrodynamique continu par l'action des vagues et des houles. A des profondeurs qui dépassent les 10 mètres, le substrat est composé de roches et de blocs formant des cavités hébergeant toutes formes d'espèces. C'est un habitat extrêmement riche et diversifié dominé

par des peuplements d'algues photophiles, dont la présence est conditionnée par la pénétration de la lumière. Il est, pour cette raison, très sensible à la turbidité de l'eau.

En vue de sa position géographique dans le golfe d'Arzew, le site s'expose à différentes formes de pollutions, urbaine, agricole et industrielle.

Le deuxième site est la plage de Stidia, situé à une distance d'environ 20 Km au sud-ouest de la ville de Mostaganem. Il se localise à l'ouest de la commune de Stidia à 1.33 Km.

Ce site se caractérise par une zone rocheuse interrompue par quelques criques, parfois sableuses, ouverte vers le nord-ouest mais sa géomorphologie, le laisse tout de même exposé au vent dominant (nord-est). Ce site est situé au pied d'une montagne et les quelques plages sableuses, qui y existent ont un linéaire côtier assez réduit et une largeur qui ne dépasse pas une quinzaine de mètres. Globalement, l'aspect sous-marin du site de Stidia est principalement constitué par une alternance de substrats rocheux, d'éboulis et de substrats sableux.

Le site de Stidia est soumis à de nombreuses activités anthropiques, occupation humaine (rejets et apports des zones habitées), agriculture, tourisme en période estivale (baignade, plongée) et pêche (ancrage, chalutage) ; c'est les raisons pour lesquelles notre choix s'est porté sur ce site, d'autant plus qu'il est aisément accessible.

Échantillonnage et traitement au laboratoire

Un prélèvement mensuel de quarante individus (30) a été réalisée en apnée, durant la période allant d'avril 2015 jusqu'à mars 2016, en zone intertidale, et à une profondeur comprise entre 1 et 5 mètres de profondeur. Des spécimens mesurant entre 30 et 60 mm de diamètre, ont été transportés au laboratoire. Une prospection du milieu, a été réalisée avec prélèvement des températures de l'eau, conditions météorologiques, conditions trophiques et état de la mer suivie de prises de photos aériennes et sous-marines.

Une étude biométrique a été réalisée en procédant à des mesures linéaires, et pesées pondérales du corps, des contenus digestifs, par dissections des oursins.

D'autres mesures pondérales sèches ont été réalisées après étuvage des contenues digestifs à 70°C d'une période de 48 heures.

Indice de réplétion moyen

Le calcul de l'indice de réplétion (IR) a été effectué comme étant le rapport du poids sec des contenus digestifs au diamètre du test au cube (Nedelec, 1983), utilisé par (Regis, 1979; Semroutet Kada, 1987; San Martin, 1990; Soualili, 2008; Sahnoun, 2009; Belkhedim, 2009; Dermeche, 2010).

$$IRM = PCd / D^3$$

IRM : indice de réplétion moyen.

PCd : poids sec des contenus digestifs en mg.

D : le diamètre du test sans piquants en cm.

Analyse des contenus digestifs

Dans chaque site (Salamandre ou Stidia) un prélèvement supplémentaire de cinq individus d'oursins noirs (mesurant entre 30 et 60 mm de diamètre) destiné à l'analyse des contenus digestifs a été réalisé. Les contenus digestifs de ces individus ont été conservés dans de l'eau de mer formolée à 10%.

Ces oursins sont disséqués à l'aide d'une coupe transversale pour effectuer l'analyse des contenus digestifs par la méthode des contacts de Jones (1968) modifiée par Nedelec (1982).

Cette méthode consiste à réaliser un déplacement aléatoire de la lame contenant un échantillon des contenus digestifs (pris au hasard) sous un microscope optique. Dix lames sont utilisées et dans chaque lame dix observations (dix contacts) sont effectuées. Soit pour chaque oursin, 100 contacts sont effectués, ce chiffre est suffisant pour avoir des résultats représentatifs.

Sous l'objectif du microscope et, dans chaque position, l'item situé exactement sous le réticule de l'oculaire est identifiée ; il s'agit d'un contact. Lorsque deux items sont superposés sous le réticule, un contact est compté pour chacune d'elles. La somme des contacts pour un végétal établit le pourcentage de sa présence dans le contenu digestif. La contribution d'un aliment due à ces contacts (CCi) s'évalue par le rapport entre le nombre de contacts obtenu pour cet aliment i (Ci) et le nombre total de contacts réalisés (Ct), est exprimé en pourcentage :

$$CCi = (Ci / Ct) * 100$$

Pour chaque lot d'individus, les contributions moyennes des différents constituants sont calculées.

L'homogénéité des contenus digestifs des oursins dans un même biotope a été analysée grâce au coefficient de similarité de Steinhaus, souvent nommée également « de Czekanowski » (Goodall, 1978) :

$$\beta = 2c / (S1 + S2), \text{ compris entre 0 et 1.}$$

S1 : nombre d'items enregistré dans le premier individu.

S2 : nombre d'items enregistré dans le deuxième individu.

c : nombre d'items communs entre les deux individus.

Des tests statistiques ont été réalisés pour comparer les résultats. En utilisant l'ANOVA à un seul facteur pour la comparaison mensuelle des résultats obtenus dans chaque site, et l'ANOVA à deux facteurs pour comparer entre les deux sites.

Résultats

Evolution de l'indice de réplétion moyen (IRM)

Le test d'ANOVA appliqué pour comparer les valeurs moyennes mensuelles de l'indice de réplétion IRM montre une différence non significative ($p > 0,05$), tandis que ce test appliqué pour comparer entre IRM obtenus dans les deux sites, montre une différence hautement significative ($p < 0,05$).

Au niveau du site de Salamandre, l'analyse du suivi mensuel de l'indice de réplétion moyen (IRM) a montré la présence de deux valeurs élevées aux mois d'avril et décembre avec des valeurs respectives de $9,54 \pm 3,01 \text{ mg/cm}^3$ et de $12,22 \pm 3,26 \text{ mg/cm}^3$. Quant aux valeurs minimales, elles ont été obtenues aux mois de juillet et février. Par ailleurs, dans le site de Stidia, l'IRM le plus élevé a été obtenu au mois de novembre pour le site de Stidia avec une valeur $24,64 \pm 6,86 \text{ mg/cm}^3$. Cependant, l'indice le plus faible a été obtenu en juin avec une valeur de $8,26 \pm 2,59 \text{ mg/cm}^3$, qui reste élevé si on la compare avec celle obtenue dans le site de Salamandre.

Dans l'ensemble les valeurs mensuelles de l'indice de réplétion moyen obtenues dans le site de Stidia sont significativement supérieures à celles obtenues dans le site de Salamandre ($p < 0,05$).

L'allure générale de l'évolution mensuelle des IRM des deux populations d'*Arbacia lixula* vivant dans les deux sites (Salamandre et Stidia) est presque identique (les deux pics se situent à la même période (Hiver) et les plus faibles valeurs sont localisées dans la période estivale).

Discussion

Nous constatons que les valeurs des IRM sont significativement plus élevées dans le site de Stidia que dans le site de Salamandre. Cela signifie que la richesse floristique dans les deux sites est différente et qu'elle est plus favorable à l'épanouissement de l'oursin *Arbacia lixula* à Stidia. En effet, l'indice de réplétion est le reflet des conditions alimentaires au plan quantitative et qualitative, plus les ressources trophiques sont réduites plus l'indice de réplétion est faible.

Les pics de l'IRM, enregistrés dans les mois de décembre et de novembre respectivement à Salamandre et à Stidia avec les valeurs $15,16 \pm 5,38 \text{ mg/cm}^3$ et $24,64 \pm 6,86 \text{ mg/cm}^3$

expliquent bien la période de forte consommation des individus qui pousse l'allocation énergétique au profit de la croissance et maturation gonadique.

Tandis que les valeurs minimales enregistrées en juillet à Salamandre et en juin à Stidia avec les valeurs respectives de $2,29 \pm 1,03 \text{ mg/cm}^3$ et $8,26 \pm 2,59 \text{ mg/cm}^3$ coïncide avec la période du début de la ponte qui se situe selon la littérature et observations personnelles entre les saisons printemps-été en méditerranée pour l'espèce *A. lixula*. Ces valeurs minimales correspondent bien aux valeurs de l'indice gonadique qui sont maximales où les oursins allouent leur énergie au phénomène du frai qu'à l'alimentation.

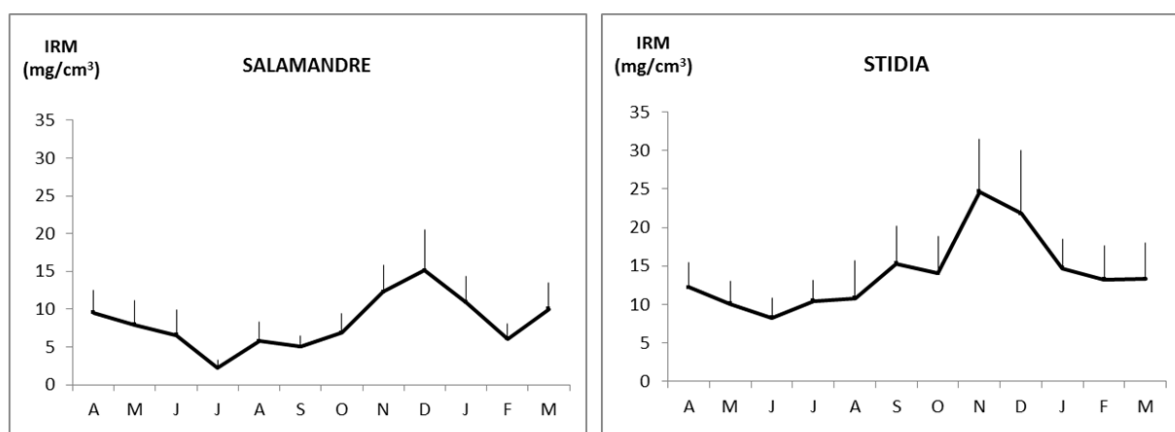


Figure 2. Variation mensuelle de l'indice de réplétion moyen (IRM) exprimé en mg/cm^3 de la population d'*A. lixula* de la côte de Mostaganem (Salamandre et Stidia)

Analyse des contenus digestifs

L'analyse du **tableau 1** et de la **figure 3** montre que l'oursin *A. lixula* se nourrit généralement de façon identique dans les deux sites et durant les quatre saisons étudiées. Le régime alimentaire de l'oursin noir dans la région de Mostaganem est très diversifié, avec des proportions assez variables. L'essentielle de l'alimentation d'*Arbacia lixula* se compose de forte proportion de flore algale suivi des fractions de sable, de débris organiques, de feuilles de posidonie et enfin de cyanobactères. Dans les deux sites, les algues rouges prennent le dessus en matière de contribution avec des proportions allant de 32 à 37%. Ensuite, on retrouve les algues vertes en deuxième position en matière d'alimentation dans la majorité des saisons. Sauf, pour la saison automnale qui montre une légère dominance des algues brunes sur les algues vertes dans le contenu digestif des oursins vivants à Salamandre. Par ailleurs, il faut noter que pour la quantité d'algues vertes ingérées par les oursins dans les deux sites est presque égale. Quant aux algues brunes, ces dernières occupent dans la troisième position en matière d'algues macrophytes, dans l'alimentation de l'oursin *A. lixula*.

Tableau 1. Variations saisonnières de la contribution moyenne (en pourcentage) d'items des contenus digestifs des oursins *A.lixula* et de l'indice de similarité dans la région de Mostaganem (Salamandre et Stidia).

Saisons	Printemps		Eté		Automne		Hiver	
Items	Salamandre	Stidia	Salamandre	Stidia	Salamandre	Stidia	Salamandre	Stidia
Algues vertes	23	24,5	31	22	23	22,5	26,75	28,5
Algues brunes	17	19	13,75	17	26,5	19	22,5	20,5
Algues Rouges	37	32,5	33,75	34,5	34,5	34,5	36,75	32
Total algues	77	76	78.5	73.5	84	76	86	81
Cyanobactéries	4	1,5	5,25	1,5	1,5	2	0,5	3,25
Posidonie	4,5	2,5	6,75	3	3,5	4	1,75	3,5
Totale flore	85.5	80	90.5	78	89	82	88.25	87.75
Sable	7,5	15,5	6,75	17	6,5	13	8,75	9,75
Débris.Org	7	4,5	3,25	5	4,5	5	3	2,75
Indice de similarité	0,91	0,91	0,92	0,85	0,88	0,83	0,88	0,92

On note aussi que la contribution moyenne de la fraction de sable dans le site de Stidia est plus importante que celle retrouvée chez les oursins vivants à Salamandre avec des proportions allant de 10 à 17%.

La fraction débris organiques est peu abondante, elle varie de 3 à 7 % dans les deux sites, suivis de la contribution de la phanérogame *Posidonia oceanica* avec de faible pourcentage de 2 à 4%, sauf pour la saison estivale chez les oursins vivants dans le site de la Salamandre où la contribution moyenne s'élève à 7%.

La contribution des cyanophycées apparaît comme la plus faible en raison des faibles valeurs enregistrées en matière de contribution des items dans les contenus digestifs des oursins noirs, dans toutes les saisons et pour les oursins vivants dans les deux sites (de 0,5 % à 5%).

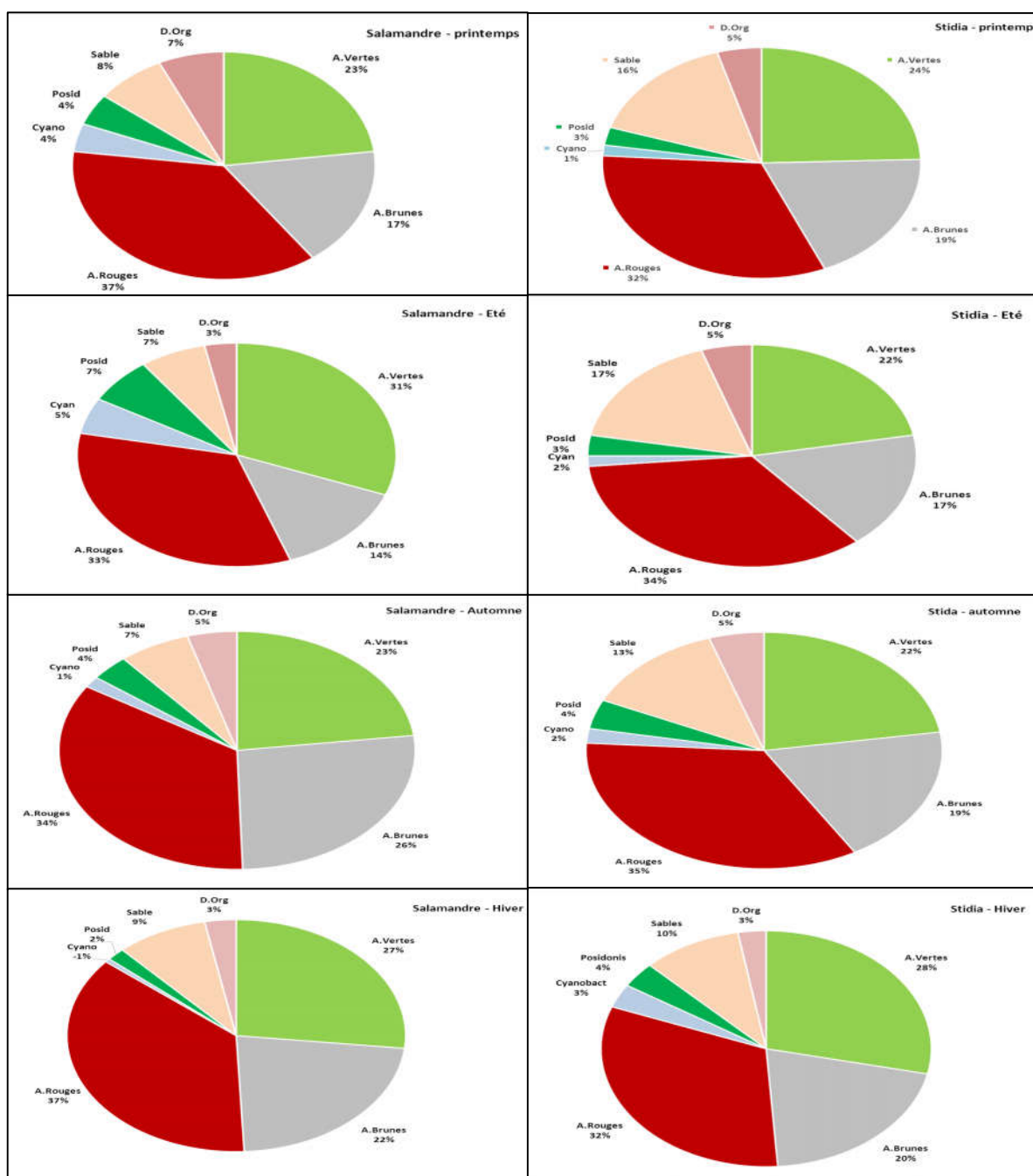


Figure 3. Principaux aliments consommés par les populations d'*A.lixula* vivants dans la région de Mostaganem (Salamandre et Stidia) et durant les quatre saisons (Contributions moyennes exprimées en pourcentage)

Discussion

Les aliments ingérés par les oursins peuvent changer en fonction du biotope, de la saison et des ressources disponibles. Les deux sites choisis pour notre étude présentent une différence en matière de biotope ; le premier présente un substrat rocheux (Salamandre), l'autre (Stidia) quant à lui le substrat est mixte entre sablo-recheux. Néanmoins, les deux sites présentent une richesse en algues photophyles. L'aspect de différence de biotope n'a pas influencé le régime alimentaire des populations d'*A.lixula* vivants dans la région Mostaganémoise. En effet ces oursins, durant les quatre saisons de la période de notre étude, ont présenté un régime alimentaire très diversifié et rationnel. Les indices de similarités allant de 0.82 à 0.91 traduisent l'homogénéité des contenus digestifs des deux populations d'oursins (Salamandre et Stidia).

Le régime alimentaire de ces oursins est nettement perçu comme herbivore représenté en des proportions très élevées par une totale flore comprise entre 78 et 90.5%.

La fraction algale, à elle seule, a présenté des proportions prépondérante allant de 73.5 à 86%. L'avantage très net des algues rouges avec des proportions allant de 32 à 37% est expliqué par la préférence des oursins de ce type d'algues par rapport au reste des types d'algues. Compte tenu que les deux sites sont riches en algues corallinaceae en croûtes notamment *Corallina* sp., *Lythophyllum* sp., *Jania* sp., *Halimtilon* sp., etc. Surtout à Salamandre (à des proportions qui ont atteint les 37% en hiver et printemps).

Ce qui explique que ce genre d'algues très dur est facilement arraché par ces derniers des roches. Ceci, est aussi, confirmé par la présence de fragments de roches ou/et de sédiments dans les contenus digestifs des oursins.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par l'équipe de Frantzis et al (1988), qui ont montré qu'*A.lixula* a une grande affinité pour les Corallinaceae en croûtes durant toutes les saisons étudiées (octobre, mars et juillet 1988) dans l'île de Port-Cros (Var, France).

Les algues vertes se retrouvent en deuxième position en matière d'aliments sélectionnés, et sont composées essentiellement d'Ulvophycées, *Codium* sp., avec des taux de 22 à 28.5%.

La légère dominance des algues brunes sur les algues vertes au niveau des contenus des oursins vivants à Salamandre durant la saison automnale (indice de similarité 0.88) peut être expliqué au sens de Harper, (1969), où les oursins *Paracentrotus lividus* et

A.lixulas attaquent à une algue précise quand elle est abondante et se dirige vers d'autres quand elle devient rare.

La contribution des algues brunes (*Cystoceiras*, *Padinapavonica*, *Dictyotadichotoma*, *Halopteris*sp,...) se retrouvent dans la troisième position en matière de préférence alimentaire parmi les algues macrophytes avec des proportions d'allant de 14 à 26%.

La forte proportion de la fraction de sable dans le site de Stidia (jusqu'à 17% de contribution) est due à la topographie de ce site (biotope mixte). Le sable est ingéré accidentellement avec les aliments enfouis dans le sable.

En ce qui concerne les fractions de débris organiques, des feuilles de posidonie et des cyanophycées ; ces derniers ont enregistré les contributions des items, les plus faibles, dans les contenus digestifs des oursins noirs, durant toutes les saisons et chez les oursins des deux sites. En général, l'évitement de ce type d'alimentation par les oursins noirs (posidonie par exemple à cause de sa composition en phénol) a été déjà signalé (Bououresque, 2006). Ces oursins n'ont recours à ce type d'alimentation que si la nourriture préférentielle fait défaut. Enfin la fraction animale, négligée dans notre étude se compte rare et très peu abondante. Elle est essentiellement représentée par de très jeunes gastéropodes.

Conclusion

Les facteurs impliqués dans le régime alimentaire d'un oursin régulier sont tellement variés et exigent l'étude de tant de paramètres (Biochimiques, physiologiques, biologiques, éthologiques, environnementaux), que nous ne pouvions aborder que très peu d'entre eux dans le cadre de ce travail. Quoi qu'il en soit, une étude de l'écologie trophique des oursins réguliers, au moins des herbivores, ne peut conduire à une image complète de leur régime alimentaire que si elle porte sur un cycle annuel, voire plus.

L'objectif principal de notre étude est de déterminer les préférences alimentaires de l'oursin régulier *A.lixula*. Nous avons recouru à une méthode qualitative simple et efficace connue par la méthode de contact de Jones (1968). Cette dernière bien qu'elle est approximative, elle est un outil sûr pour l'approche du régime alimentaire d'un oursin régulier par le moyen de l'analyse des contenus digestifs.

Elle nous a permis de conclure que l'alimentation de l'oursin noir *A.lixula* est très diversifiée. Le contenu digestif de ces oursins récoltés dans les deux sites de la région de Mostaganem, est très varié.

Globalement, l'oursin noir de la région de Mostaganem a un caractère trophique herbivore. Les proportions dominantes ont été accordées aux algues macrophytes. Avec une nette

préférence pour les algues rouges durant toute la période de l'expérience, où il a montré qu'il a une affinité pour les corallinaceae encroûtantes.

L'espèce *A. lixula* se comporte comme un racleur (Ogden, 1976), qui a une préférence pour les strates gazonnantes encroûtantes. Suivies des algues vertes et enfin des algues brunes en dernière position.

Les autres fractions trouvées dans les contenus digestifs des oursins ont été peu abondantes voire négligeable.

Ce qui nous pousse à dire que l'espèce *A. lixula* sélectionne sa nourriture avec précision et il adapte son régime alimentaire selon la qualité et la quantité de nourriture qui s'offrent à lui, durant les saisons et au cours de l'année.

La mesure de l'intensité de collecte de nourriture macroscopique, par l'utilisation de l'indice biologique de réplétion a révélé des valeurs pics dans la saison hivernale. Ces valeurs ont synchronisé avec la forte quantité d'algues consommées dans cette saison. C'est une autre forme d'adaptation qui traduit le rythme d'alimentation et le comportement que l'oursin prend pour assurer le gain énergétique destiné au développement gonadique.

L'indice de similarité de Steihaus très élevé traduit bien l'homogénéité des contenus digestifs des deux populations d'oursins (Salamandre et Stidia), ainsi les deux biotopes regroupent des lignés systématiques très semblables.

Références bibliographiques

- ✓ Ogden J.C. 1976. Some aspects of herbivore-plant relationship on Caribbean reefs and seagrass beds. *Aqua. Bot.*, Netherl., 2(2): 103-116.
- ✓ Belkhedim L. 2009. Contribution à l'étude de la biologie de l'oursin régulier *Paracentrotus lividus* (Lmck, 1816) du Port d'Oran et d'Ain Franin. Mémoire de Magister en Sciences de l'Environnement, option : Biologie et Pollution Marines, 130p, Université d'Oran.
- ✓ Berthon J.F. 1987. Relations trophiques entre quelques espèces d'échinodermes et les phytobenthos dans la baie de Port-Cros (Var, France). Mém. D.E.A. Océanographie Biologique, Univ. P. et M. Curie, Fr.: 1-72.
- Boudouresque C.F, Mayot N, Pergent G. 2006. *Biologia marina Mediterranea*, 13 (4) : 109-113. *The outstanding traits of the functioning of the Posidonia oceanica seagrass ecosystem. Biol. Mar. Medit.*, 13 (4) : 109-113.
- ✓ Boukhelf K. 2012. Données biométriques, indices physiologiques et dosage des métaux lourds chez l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) dans la région de Mostaganem (Algérie). Mémoire de Magister en sciences de l'environnement, option : Biologie et pollution marines, Université d'Oran, Algérie, 166p.

- ✓ Dermeche S. 2010. Indices physiologiques, bioessais et dosage des métaux lourds chez l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) de la côte oranaise (ouest Algérien). Thèse de Doctorat, LRSE, 137p. Université d'Oran.
- ✓ Fernandez C. Caltagirone A. 1998. Comportement alimentaire de *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) en milieu lagunaire. *Rapp Comm Int Mer Médit* 35:538–539
- ✓ Frantzis A., Berthon J.F. et Maggiore F. 1988. Relation trophique entre les oursins *Arbacia lixula* et *Paracentrotus lividus* (Echinoidea: regularia) et le phytobenthos infralittoral superficiel de la baie de Port-Cros (Var, France). *SciRep Port-Cros Natl Park Fr*, 14: 81-140.
- ✓ Goodall D.W.
1978. Sample similarity and species correlation. *In Ordination of plant communities*, WHITTAKER R. ed., Junk publ., The Hague, Netherl. 99-149.
- ✓ Harper J.L.
1969. The role of predation in vegetational diversity. *Brookhaven Symp. Biol.*, 22: 48-62.
- ✓ Jones R.S. 1968.
A suggested method for quantifying gut contents in herbivorous fishes. *Micronesica*, Guam, 4(2): 369-371.
- ✓ Kempf M.
1962. Recherches d'écologie comparées sur *Paracentrotus lividus* (Lmk.) et *Arbacia lixula* (L.). *Reel. Trav. Stan. mar. Endoume Fac. Sei. Mars., Fr.*, 25(9): 47-116.
- ✓ Linnaeus C. 1758. *Systema naturae*. Regnum animale: Editio decima. Laurentius Salvius, Holmiae (Stockholm).
- ✓ Nédélec H. 1982. Ethologie alimentaire de *Paracentrotus lividus* dans la baie de Galéria (Corse) et son impact sur les peuplements benthiques. Thèse de Doctorat 3ème cycle en Océanographie Biologique, Université Pierre et Marie Curie et Université Aix-Marseille II, 175p, France.
- ✓ Nédélec H. 1983. Sur un nouvel indice de réplétion pour les oursins réguliers. *Rapp. P. V. Réun. Comm. Internation. Expl. sci. Médit.*, 28 (3) : 149-151.
- ✓ Ogden J.C., Lobel P.S. 1978. The role of herbivorous fishes andurchins in coral reef communities. *Environ. Biol. Fishes.*, 3 (1): 49-63.
- ✓ Ogden J.C. 1976. Some aspects of herbivore-plant relationship on Caribbean reefs and seagrass beds. *Aqua. Bot.*, Netherl., 2(2): 103-116.
- ✓ Paine A.T., Vadas R.L. 1969. Calorie values of benthic marine algae and their postulated relation to invertebrate food preferences. *Mar. Biol.*, Germ., 4: 79-86.
- ✓ Powis de Tenbosche T.
1978. Comportement alimentaire et structures digestives de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) (Echinodermata, Echinoidea). Mémoire en sciences biologiques; Université libre de Bruxelles, Belg.: 1-82 + 25 fig. + 7 tabl. h.t.
- ✓ Régis M.B. 1979b. Analyse des fluctuations des indices physiologiques chez deux échinoides (*Paracentrotus lividus* (Lmk) et *Arbacia lixula* (L.)) du golfe de Marseille. *Téthys*, 9 (2): 167-181.
- ✓ Sahnoun Z. 2009. Etude préliminaire des indices physiologiques (Indice de Réplétion, Indice Gonadique) et dosage des métaux lourds chez l'oursin commun *Paracentrotus lividus*

(Lamarck, 1816) dans la région de Mostaganem. Mémoire de Magister en Sciences de l'Environnement, option : Biologie et Pollution marines, université d'Oran.

✓ Sala E, Boudouresque CF, Harmelin-Vivien M. 1998. Fishing trophic cascades and the structure of algal assemblages: evaluation of an old but untested paradigm. *Oikos*, 82:425-439.

✓ San Martin GA. 1990. Suivi d'une opération de Transplantation de *Paracentrotus lividus* Echinodermata Echinidea dans la région Marseillaise. Contrat N°87 34 00 66 IFREMER /GIS Posidonie. France. 16p

✓ Semroud R, Kada H. 1987. Contribution à l'étude de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lmk) dans la région d'Alger (Algérie) : indice de réplétion et indice gonadique. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles, C.F. Boudouresque édit. GIS Posidonie publications. Marseille, France, 117-124.

✓ Soualili DL. 2008. Les populations naturelles d'oursins : un outil évaluateur de l'état de santé de la baie d'Alger. Thèse de Doctorat en Océanographie, option Ecologie marine. Université Houari Boumedienne (USTHB), Alger. pp 147+annexes.

✓ Vadas R.L.

1977. Preferential feeding: an optimization strategy in sea urchins. *Ecol. Monogr.*, U.S.A., 47:337-371.

✓ Wangensteen O.S. 2013. Biology and phylogeography of the black sea urchin *Arbacia lixula* (Echinoidea: Arbacioida). Thèse de Doctorat, Université de Barcelone, Espagne.

P08. Phylogéographie de quelques espèces d'holothuries aspidochiotes de la côte algérienne

Toufik MANSOURI^{1,2} et Karim MEZALI²

¹Département de Biologie, ²Département des Sciences de la Mer et de l'Aquaculture, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, 27000, Boite postale 300, Algérie

✉ king.toufik23@gmail.com ☎ +213 699013846

Résumé

Une étude phylogéographique sur quelques espèces d'holothuries aspidochiotes a été réalisée sur la côte algérienne en 2014 afin de constituer un aperçu général sur les connectivités qui pourraient exister entre les individus de ces espèces. Les relations phylogéographiques ont été établies entre les espèces d'holothuries aspidochiotes suivantes [*H. (R.) poli*, *H. (R.) arguinensis* et les deux morphotypes d'*H. (H.) tubulosa* A & B]. Cette étude a été aussi utilisée pour détecter la source probable de l'espèce exotique *H. (R.) arguinensis* qui a envahi la côte algérienne. Afin de réaliser cette étude, un ensemble de séquences nucléotidiques du gène 16S ARNr ont été utilisées pour établir des réseaux d'haplotypes. D'autres séquences supplémentaires ont été obtenues de GenBank pour faire l'étude phylogéographique. Les résultats obtenus ont montré une récente explosion démographique des espèces étudiées. Nous avons aussi signalé une connectivité entre des individus d'*H. (R.) arguinensis* échantillonnés sur nos côtes et des individus localisés au niveau du Portugal.

Mots clés : Holothuries aspidochiotes, phylogéographie, Haplotypes, connectivité, espèce exotique, côte algérienne.

I. Introduction

La distribution des espèces dépend de leur histoire évolutive et de leur capacité à disperser et coloniser de nouveaux territoires. En milieu marin, cette capacité de dispersion est conditionnée par la durée de la phase larvaire et la répartition plus ou moins continue de leur habitat (Muths, 2006). Afin de mieux comprendre la part respective de ces différents facteurs, l'histoire passée et contemporaine des populations a été étudiée, par le biais de la génétique pour des espèces d'holothuries aspidochiotes de la côte algérienne. Dans la présente étude nous avons mis l'accent sur la phylogéographie de deux morphotypes d'*Holothuriatubulosa* (A & B) (Mezali, 2008), d'*Holothuria* (R.) *poli* et d'*Holothuria* (R.) *arguinensis*. L'étude de la phylogéographie nous donne des informations sur la distribution géographique et les réseaux de connectivités qui pourraient exister entre les différentes espèces de "concombre de mer" de l'ordre des aspidochiotes de la côte algérienne.

II. Matériel et méthodes

Un ensemble de 30 séquences nucléotidiques du gène 16S ARNr ont été utilisées afin de construire les réseaux d'haplotypes par la méthode de lien moyen ou "MedianJoining" (Bandelt *et al.*, 1999). Ces réseaux d'haplotypes sont construits grâce au logiciel "NetWork 4.6" (Polzin et Daneschmand, 2011). La construction de ces réseaux est basée sur la théorie de la coalescence (Kingman, 2000). Cette théorie consiste en une approche rétrospective qui décrit mathématiquement le processus de fusion binaire de tous les lignages généalogiques d'un échantillon de gènes jusqu'à leur plus proche ancêtre commun. Afin d'étudier la phylogéographie de l'espèce exotique *H. (R.) arguinensis* des séquences d'ADN de cette espèce ont été tirées du Genbank pour les utiliser [Trois séquences des individus des Iles Canaries et d'un individu de la station d'Algarve, Portugal (Fig. 2, A)]. Le réseau d'haplotype constitue aussi un moyen efficace afin de détecter la source probable de cette espèce exotique qui a envahi les côtes algériennes. Cette espèce qui a été signalé pour la première fois sur la côte algérienne par Mezali et Thandar, 2014.

III. Résultats

Les analyses du polymorphisme mitochondrial, sous l'hypothèse de neutralité, fournissent des pistes intéressantes sur l'histoire de l'expansion géographique de chaque groupe d'individus des espèces d'holothuries étudiées. En absence d'effet sélectif, ces caractéristiques suggèrent une récente augmentation de la taille des populations. Nous pouvons, cependant, voir sur la

représentation des relations minimales entre les différents haplotypes, qu'il y a quatre groupes bien distincts représentant chaque taxon étudié (Fig. 1).

L'espèce *H. (R.) poli* est représentée par 8 haplotypes dont seulement 2 sont représentés à plus d'un seul exemplaire (Hp1, Hp2) (Fig. 1). L'haplotype Hp1 contient les individus : (Hp6T, Hp8T, Hp9T, Hp10T, Hp12SF, Hp14SF). Quant à l'haplotype Hp2 contient les individus : (Hp7T, Hp11T). L'espèce *H. (H.) tubulosa A* est représentée par 5 haplotypes dont seulement 1 est représenté à plus d'un seul exemplaire (HtA) (Fig. 1). L'haplotype HtA contient les individus : (HtA2S, HtA3S, HtA4SF, HtA8S, HtA9S).

L'espèce *H. (H.) tubulosa B* est représentée par 4 haplotypes dont seulement 1 est représenté à plus d'un seul exemplaire (HtB) (Fig. 1). L'haplotype HtB contient les individus : (HtB2SF, HtB3S, HtB4FP.). *H. (R.) arguinensis* est représentée par 3 haplotypes distincts (Fig. 1).

Le deuxième réseau d'haplotype (Fig. 2, B) montre que les individus d'*Holothuria (R.) arguinensis* échantillonnés au niveau de Figuier plage (Boumerdes) et de Stidia (Mostaganem) sont dans le même haplotype avec l'individu des côtes portugaises. Pour les individus des Iles Canaries la situation est différente. Les individus sont séparés (chaque individu par un haplotype) ce qui reflète une faible connectivité entre les individus des Iles Canaries.

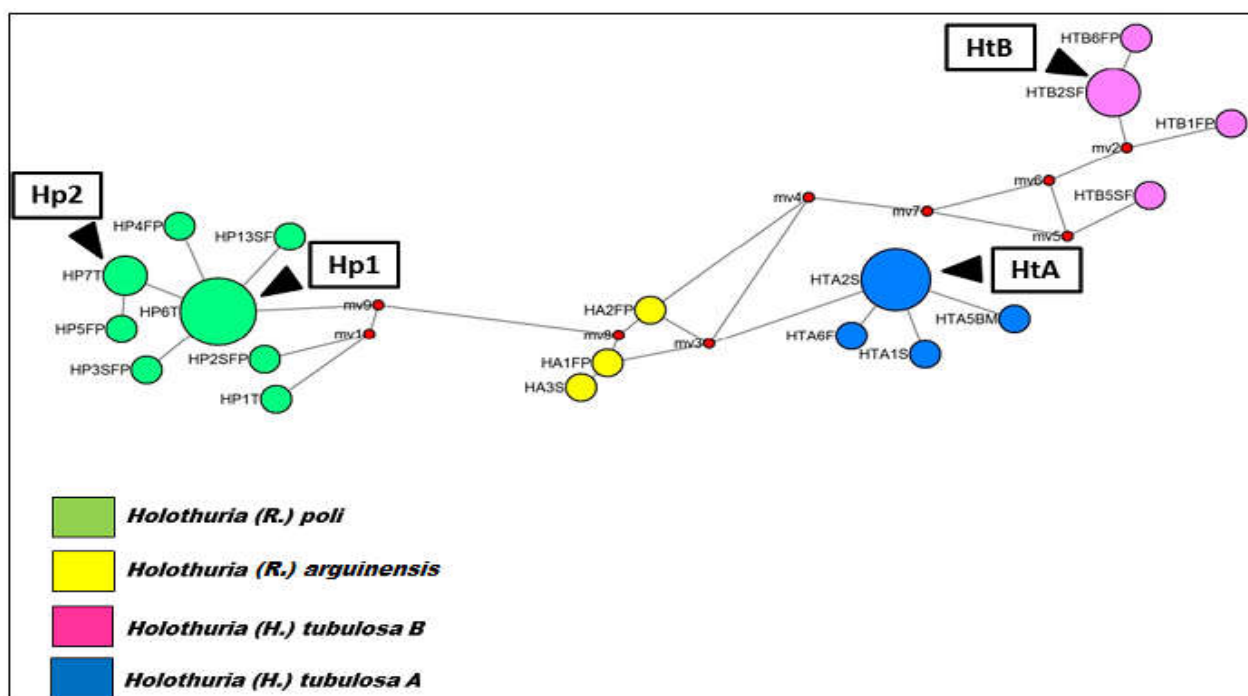


Figure 1 : Réseaux d'haplotypes représentant les relations minimales entre les différents haplotypes des quatre espèces d'holothuries séquencées. mv= nœud hypothétique.

IV. Discussion

Le réseau d'haplotypes (Fig. 1) montre qu'il y a une distribution "en étoile". Ceci expliquerait une explosion démographique récente des espèces étudiées. Celle-ci pourrait être due à la colonisation de nouveaux territoires après la fin de la dernière glaciation il y a environ 20.000 ans. Ce qui a induit l'augmentation du niveau de la mer et donc la formation du passage des eaux atlantiques vers la mer Méditerranée par le détroit de Gibraltar.

L'espèce *H. (R.) arguinensis* qui a été signalé pour la première fois sur la côte algérienne (Mezali et Thandar, 2014) n'est pas endémique à la Méditerranée. Elle est qualifiée comme exotique. Le réseau d'haplotype confirme que la source probable de nos échantillons est bien évidemment située en Atlantique (Fig. 2, A ; B). Plus précisément au Portugal. Plusieurs théories supportent ce résultat. En effet, on pense que les larves de ces individus ont été acheminées par le courant entrant de l'Atlantique (par le détroit de Gibraltar, la proximité d'Algarve de ce détroit joue un rôle primordial). Ce courant atlantique est permanent sur le bassin méditerranéen occidental, qui au-delà de la mer d'Alboran se transforme et forme ce qu'on appelle le "courant algérien". Ce dernier a une trajectoire parallèle à la côte algérienne. Nous avons utilisé le schéma de circulation Méditerranéenne proposée par Millot (1999) et Millot et Taupier-Letage (2005) pour interpréter nos résultats. Par conséquent, les larves sont dispersées le long de la côte algérienne surtout dans la partie Ouest et centre (où l'espèce a été signalée). Une autre théorie considère les eaux de ballast, du fait que le détroit de Gibraltar soit un passage maritime très important pour l'économie. Par conséquent des centaines de navires naviguent dans cette partie du monde et peuvent constituer un moyen de transport pour les larves des holothuries de l'Atlantique (Par ex : les larves de *H. (R.) arguinensis*).

Le réseau d'haplotype (Fig. 2B) reflète aussi une faible connectivité entre les individus d'holothuries des Iles Canaries d'une part et ceux des continents d'autre part (les individus de la côte algérienne et portugaise). Ce même résultat a été précédemment suggéré par des auteurs chez d'autres communautés d'espèces benthiques. Par exemple une rupture génétique significative a été détectée entre La Macaronésie et les populations continentales de *Diplodus sargus*, une espèce de poisson qui présente à la phase adulte des déplacements autonomes et une vie larvaire pélagique (Gonzalez-Wanguemert *et al.*, 2010; 2011). Cette hypothèse a été aussi précédemment suggérée pour les populations de patelles et chez l'étoile de mer *Marthasterias glacialis* (Sapinto *et al.*, 2008; Perez-Portela *et al.*, 2010).

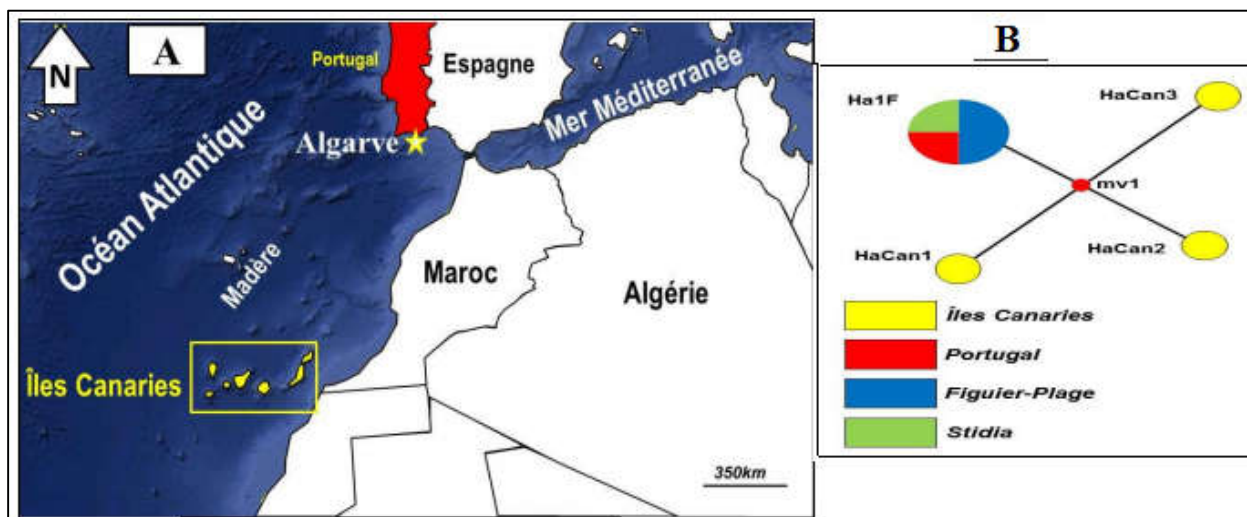


Figure 2 : (A) : Position géographique des Iles Canaries et de la station d'Algarve (Portugal) (Mansouri, 2015). (B) : Réseau d'haplotypes représentant les relations minimales entre les différents haplotypes de l'espèce exotique *H. (R.) arguinensis* étudiée et comparées aux données tirées de Genbank avec les stations étudiées.

Conclusion

A travers cette étude préliminaire nous avons mis l'accent sur la phylogéographie de quelques espèces d'holothurie aspidochirotés de la côte algérienne. Les résultats obtenus indiquent une explosion démographique récente des espèces étudiées et suggèrent que la source de l'espèce exotique *H. (R.) arguinensis* est située au niveau des côtes portugaises. Concernant les individus d'*H. (R.) arguinensis* des Iles Canaries, nous avons signalé une faible connectivité et une barrière génétique entre les individus de ces Iles et les individus continentaux. Ce même résultat a été signalé par plusieurs auteurs chez d'autres espèces notamment les poissons, les astérides et les patelles.

Références Bibliographiques :

- Bandelt H. J., Forster P., Rohl A. (1999). Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16(1): 37–48.
- González-Wangüemert M., Cánovas F., Pérez-Ruzafa A., Marcos C., Alexandrino P. (2010) Connectivity patterns inferred from the genetic structure of white seabream (*Diplodus sargus* L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 383, 23–31.
- González-Wangüemert M., Froufe E., Pérez-Ruzafa A., Alexandrino P. (2011) Phylogeographical history of the white seabream *Diplodus sargus* (Sparidae): implications for insularity. *Marine Biology Research*, 7, 250–260.
- Kingman J. F. C. (2000) The coalescent. *Stochastic Processes and their Applications*, 13: 235-248.

- Mansouri T. (2015) Phylogénie et phylogéographie de quelques espèces d'holothuries aspidochirotés de la côte algérienne (Ouest et centre). Mémoire de Magister. Université d'Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie, 119 p.
- Mezali K. (2008). Phylogénie, systématique, dynamique des populations et nutrition de quelques espèces d'Holothurie aspidochirotés (Holothuroidea: Echinodermata) inféodées aux herbiers de Posidonies de la région Algérienne. *Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Algérie*, 208 pp.
- Mezali, K., Thandar, A.S. (2014) First record of *Holothuria (Roweothuria) arguinensis* (Echinodermata: Holothuroidea: Aspidochirotida: Holothuriidae) from the Algerian coastal waters. *Marine Biodiversity Records. Marine Biological Association of the United Kingdom*, 7 (1), 1–4.
- Millot C. (1999) Circulation in the Western Mediterranean Sea. *Journal of Marine Systems*, 20, 423–442.
- Millot C., Taupier-Letage I. (2005) Circulation in the Mediterranean Sea. *The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol. K: 29–66. DOI: 10.1007/b107143
- Muths D. (2006) Structures génétique et démographique des populations de deux espèces d'ophiures aux caractéristiques biologiques contrastées, *Acrocnida brachiata* et *Ophiothrix fragilis*, en Atlantique Nord-Est. *Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat de l'Université de Paris VI*, 256 pp.
- Pérez-Portela R., Villamor A., Almada V. (2010) Phylogeography of the sea star *Marthasterias glacialis* (Asteroidea, Echinodermata): deep genetic divergence between mitochondrial lineages in the north-western Mediterranean. *Marine Biology*, 157, 2015–2028
- Polzin T., Daneshmand S. V. (2011) NetWork 4.6, Copyright (2004–2011), *Flux-ustechology Ltd.*, disponibles sur : www.fluxus-technology.com
- Sa Pinto A., Branco M., Sayanda D., Alexandrino P. (2008) Patterns of colonization, evolution and gene flow in species of the genus *Patella* in the Macaronesian Islands. *Molecular Ecology*, 17: 519–532

P09. Étude de quelques caractères biométriques chez la thonine *Euthynnus alletteratus* (Rafinesque, 1810), pêchée dans la côte de Mostaganem.

Ansel Mohammed Amine¹, Benamar Nerdjess²

E-mail : anselmohammed@gmail.com, Nardjess16@yahoo.fr

Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Faculté SNV,
Département des Sciences de la Mer et de l'Aquaculture, Algérie.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude de quelques caractères biométriques de la thonine commune *Euthynnus alletteratus* (Rafinesque, 1810), pêchée dans la côte de Mostaganem.

Cette étude est basée sur un total de 185 poissons dont 90 mâles et 95 femelles, récoltés dans le site d'étude entre Février 2015 et Janvier 2016.

Cinq caractères métriques ont pu être analysés, à partir de l'ajustement de type moindre carré pour le calcul de la droite de régression des relativités linéaires entre la longueur à la fourche

(L_F), et les autres dimensions : la longueur standard (L_S), la longueur pré-dorsale de la première nageoire (L_{PD1}), la longueur céphalique (L_C), et le diamètre orbitaire (D_o). Les résultats révèlent que la relativité calculée entre la longueur à la fourche (L_F) et les différentes dimensions (L_C , L_{PD1} , et D_o), implique une allométrie majorante (la pente $b > 1$), par contre la relation longueur à la fourche-longueur standard (L_F - L_S), implique une isométrie ($b = 1$).

Le test de conformité de Schwartz (1983), est appliqué pour les résultats de comparaisons des variances des caractères biométriques, cela afin de confirmer la valeur du paramètre b , les résultats montrent une différence significative entre toutes les dimensions sauf pour la relation (L_F - L_S), qui implique une différence non significative, parallèlement les résultats de l'analyse exploratoire multivariée (l'Analyse en Composante Principale), à l'aide du logiciel Statistica (version 6), confirme une homogénéité entre les deux sexes. Les résultats obtenus semblent être liés aux comportements de coordination de l'espèce.

Mots clés: *Euthynnus alletteratus*, caractères biométriques, Mostaganem, allométrie, Algérie.

1. Introduction

La thonine *Euthynnus alletteratus* (Rafinesque, 1810), est la plus exploitée parmi les thonidés mineurs à Mostaganem, appartenant à la famille des scombridés, c'est un prédateur rapide qui se situe au sommet de la chaîne alimentaire marine, ce spécimen se répartit géographiquement dans les zones tempérées, tropicales et subtropicales, sur les bords de l'océan Atlantique, de la Méditerranée, et de la mer Noire (Belloc, 1955; Froese et al. 2012; Valeiras et Abad, 2006), la thonine est généralement pêchée dans les eaux côtières, cette espèce a une longévité estimée entre 8 et 10 ans (Cayre et Diouf, 1983; Landau 1965).

L'étude biométrique recense l'analyse des caractères physiques, son objectif est d'établir des relations sous forme d'équations mathématiques entre les différentes dimensions métriques de ce spécimen, les variables morphologiques des individus peuvent traduire ou correspondre à certaines variations biologiques, cela pour faire la différenciation entre les sexes opposés au sein de la même espèce.

2. Matériels et méthodes

Un total de 185 thonines de taille à la fourche comprise entre 33,4 cm et 102,2 cm, pêchées pendant la saison de pêche pélagique côtière en termes de captures dans la côte de Mostaganem (région Ouest de la côte algérienne), durant les années 2015 à 2016.

Différentes mensurations (figure 1), sont effectuées sur chaque spécimen récolté au lieu de vente ou de débarquement à l'état frais, à l'aide d'un ichthyomètre, on mesure dans le laboratoire : la longueur à la fourche (L_F), longueur standard (L_S), et à l'aide d'un pied à coulisse on mesure, la longueur de la première nageoire pré-dorsale (L_{PD1}), la longueur céphalique (L_C), et le diamètre orbitaire (D_o).

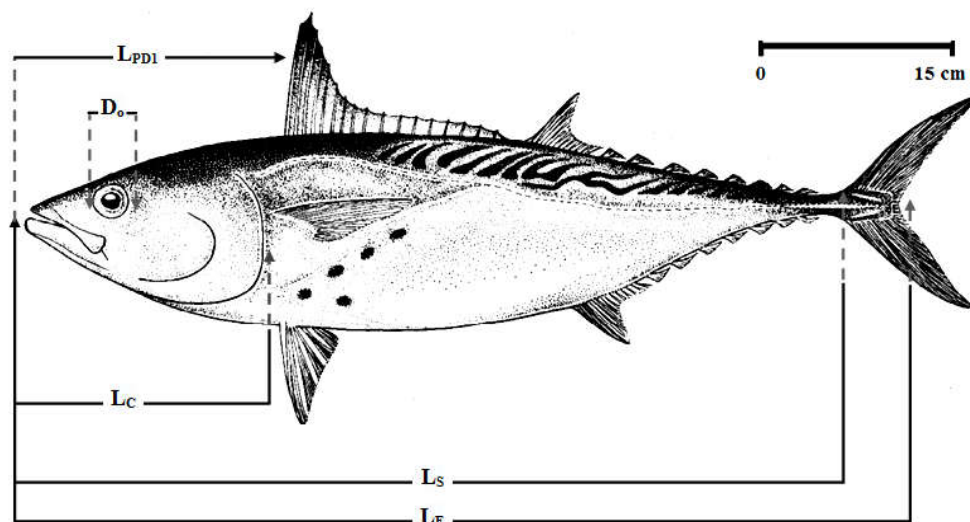


Figure 1 : Les différentes mensurations effectuées.

Dans cette étude les femelles examinées ($\overline{L}_F = 52,5 \pm 2,50$ cm), étaient nettement plus petites que les mâles ($\overline{L}_F = 58,9 \pm 3,32$ cm).

Les relations mathématiques entre la valeur de la longueur à la fourche (L_F) et les valeurs des autres dimensions du corps du poisson (L_S , L_C , L_{PD1} , et D_o), sont calculées selon les différents sexes, à partir d'un ajustement de type moindres carrés, ceci afin de sélectionner une droite d'ajustement qui représente, le mieux possible, le nuage de point obtenu à partir des deux dimensions relatives étudiées. Le but est de confirmer ou d'infirmer la stabilité morphologique en fonction du sexe.

Les couples de valeur de dimension sont :

- ($L_F - L_S$)
- ($L_F - L_C$)
- ($L_F - L_{PD1}$)
- ($L_F - D_o$)

Les relations linéaires sont de type : $y = bx + a$.

Le coefficient b (la pente) détermine le type de la relation.

Si : $b = 1$: Isométrie, $b > 1$: allométrie majorante, $b < 1$: allométrie minorante.

Car les couples de valeurs ont la même dimension.

Selon Schwartz (1983), un test de conformité doit être fait afin de confirmer la valeur du paramètre b :

$$|t_{cal}| = (P - P_0) / Sp_0$$

$$Sp_0 = \sqrt{\frac{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n-1}}}$$

P : pente théorique (p = 1)

P₀ : pente observée

S²(y) : variance de (L_F)

S²(x) : variance de (L_S, L_C, L_{PD1}, D_O)

N-2 : degré de liberté (d.d.l = N-2, α=5%)

On compare le $|\epsilon_{cal}|$ avec le $|\epsilon_{Table}|$:

-Si $|\epsilon_{cal}| < |\epsilon_{Table}|$: la différence est non significative.

-Si $|\epsilon_{cal}| > |\epsilon_{Table}|$: la différence est significative.

L'étude repose sur l'analyse de la variance à l'aide du test schwartz (1983), avec un degré de liberté (d.d.l = N-2, α=5%), ainsi une analyse en composantes principales(ACP) est appliquée, permettant de tester en se basant sur une seule variable, l'homogénéité ou l'hétérogénéité de plusieurs échantillons, selon Volle, (1997) et Benzécri, (1973), l'analyse en composantes principales est une méthode de la famille de l'analyse des données et plus généralement de la statistique multivariée, qui consiste à transformer des variables liées entre elles (dites "corrélées" en statistique) en nouvelles variables décorrélées les unes des autres, ces nouvelles variables sont nommées "composantes principales", ou axes principaux, elle permet au praticien de réduire le nombre de variables et de rendre l'information moins redondante.

Il s'agit d'une approche à la fois géométrique (les variables étant représentées dans un nouvel espace, selon des directions d'inertie maximale) et statistique (la recherche portant sur des axes indépendants expliquant au mieux la variabilité - la variance - des données). Lorsqu'on veut compresser un ensemble de variables aléatoires, les (N) premiers axes de l'analyse en composantes principales sont un meilleur choix, du point de vue de l'inertie ou de la variance. Les rapports exprimés en pourcentage entre les caractères biométriques, et la longueur à la fourche (L_F) respectivement, (L_S%), (L_C%), (L_{PD1}%), et (D_O%), permettent de faire cette distinction.

$$- L_S\% = (L_S * 100) / L_F - L_{PD1}\% = (L_{PD1} * 100) / L_F$$

$$- L_C\% = (L_C * 100) / L_F - D_O\% = (D_O * 100) / L_F$$

3. Résultats et discussions

Le déterminisme de la relativité mathématique entre la valeur de la longueur à la fourche (L_F) et les autres dimensions concernant le corps du poisson est établi par rapport aux sexes séparés à partir d'un ajustement de type moindre carré. Les équations montrant la relativité entre la longueur à la fourche (L_F) et les autres dimensions, ainsi que le test de conformitéschwartz (1983), sont portées dans le (tableau 1).

D'après le (tableau 1), et les (figures : 2, 3, 4, et 5), la relativité calculée entre les différentes dimensions du corps des poissons montre une très bonne corrélation entre ces derniers, et ce quel que soit le sexe, (r de 0,94 à 0,99).

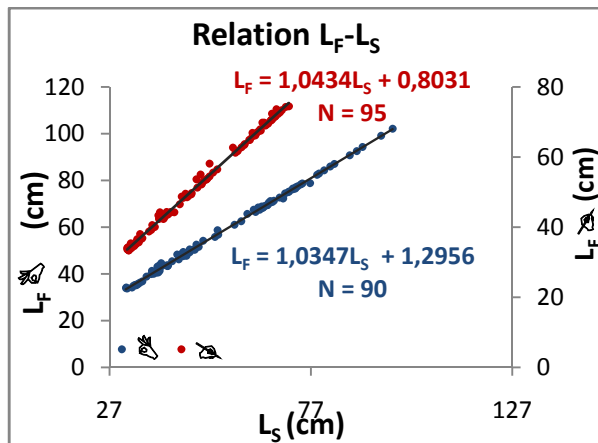
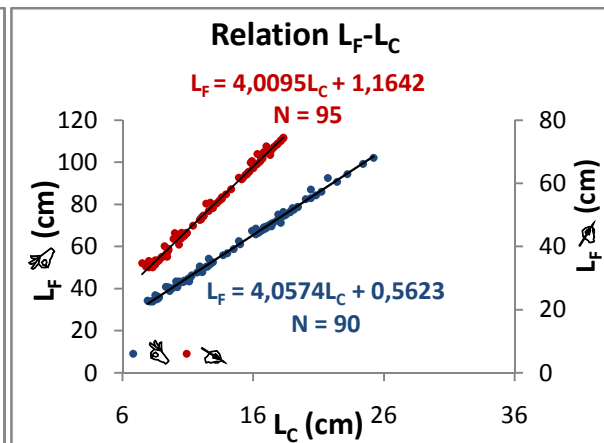
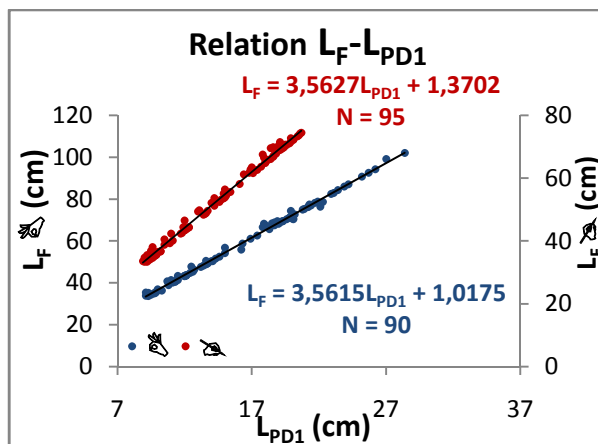
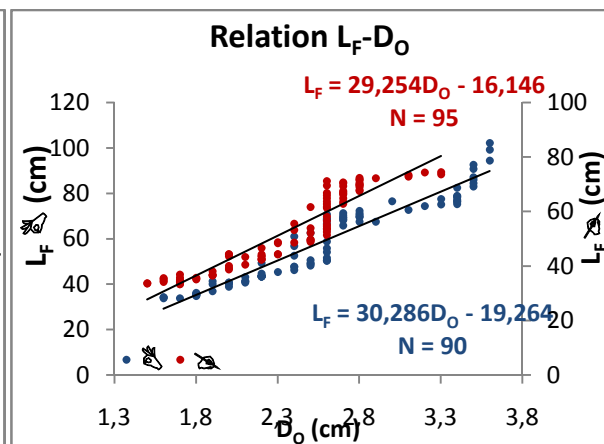
En terme de pente les valeurs sont toutes supérieures à 1 ce qui implique une allométrie majorante, sauf pour la relation longueur à la fourche-longueur standard (L_F-L_S), qui implique une isométrie (pente $b \approx 1$), il apparaît que la longueur à la fourche (L_F) croît plus vite les autres dimensions du corps (L_C , L_{PD1} , et D_O), par contre la longueur à la fourche (L_F) croît parallèlement que la longueur standard (L_S).

Sokal et Rohlf (1981), expliquent que l'allométrie correspondrait au développement de certaines parties qui se fait plus rapidement, ou plus lentement que d'autres lors de la croissance d'un organisme.

Le test de schwartz (1983) (tableau 1), indique une différence significative entre toutes les dimensions sauf pour la relation (L_F-L_S), qui montre une différence non significative.

Tableau 1 : Équations des relations biométriques de *E. alletteratus*.

Relations	Sexes	Equations linéaires	r	Pentes	cal	Type d'allométrie
L_F-L_S	Femelles	$L_F = 1,0434L_S + 0,8031$	0,99	1,04	1,68	Isométrique
	Mâles	$L_F = 1,0347L_S + 1,2956$	0,99	1,03	1,36	Isométrique
L_F-L_C	Femelles	$L_F = 4,0095L_C + 1,1642$	0,99	4,00	8,29	majorante
	Mâles	$L_F = 4,0574L_C + 0,5623$	0,99	4,05	8,1	majorante
L_F-L_{PD1}	Femelles	$L_F = 3,5627L_{PD1} + 1,3702$	0,99	3,56	8,13	majorante
	Mâles	$L_F = 3,5615L_{PD1} + 1,0175$	0,99	3,56	7,93	majorante
L_F-D_O	Femelles	$L_F = 29,254D_O - 16,146$	0,94	29,25	8,92	majorante
	Mâles	$L_F = 30,286D_O - 19,264$	0,95	30,28	8,79	majorante


Figure 2 : Relation linéaire (L_F - L_S).

Figure 3 : Relation linéaire (L_F - L_C).

Figure 4 : Relation linéaire (L_F - L_{PD1}).

Figure 5 : Relation linéaire (L_F - D_O).

À l'aide du logiciel Statistica (version 6), une ACP a été établie sur une matrice de 185 lignes (les deux sexes) et 4 colonnes ($L_S\%$, $L_C\%$, $L_{PD1}\%$ et $D_O\%$).

D'après les résultats obtenus au cours de l'opération statistique mentionnés au (tableau 2) et schématisés sur la (figure 6). Les deux premiers axes expliquent plus de 59% de la variance totale, correspondant aux plus fortes valeurs propres. Selon Philipeau. (1986) les valeurs propres dont le taux d'inertie est inférieur à 10% sont probablement fort peu intéressantes.

Tableau 2 : Extraction des composantes principales et valeurs propres.

Valeurs Facteurs	Val,propre	% Total variance	Cumul Val,propre	Cumul%
1*	1,426557	35,66392	1,426557	35,6639
2*	0,967823	24,19559	2,394380	59,8595
3	0,886366	22,15914	3,280746	82,0187
4	0,719254	17,98135	4,0000000	100,0000

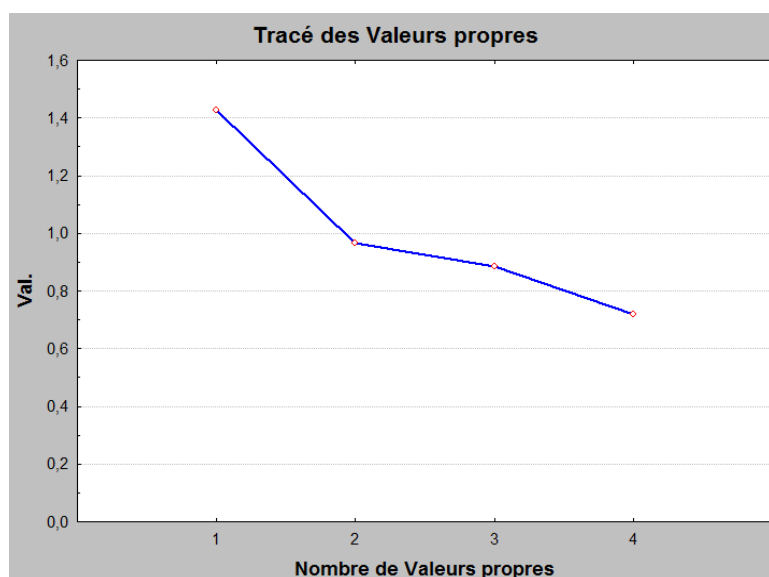


Figure 6: Valeurs propres en fonction des axes principaux.

D'après les résultats obtenus mentionnés au (tableau 3) et schématisés sur la (figure 7). Les coefficients de corrélation entre les quatre variables initiales et les axes principaux expliquent les contributions de chacune de ces variables dans la construction de ces axes. La variable rapport ($L_S\%$), aboutit à la construction de l'axe I. L'axe II est représenté par les variables ($L_C\%$).

Tableau 3 : Projection des variables.

Variable Critères	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
$L_S\%$	0,989442	0,038977	0,039994
$L_C\%$	0,038227	0,996713	0,054664
$L_{PDI}\%$	0,039471	0,054962	0,994847
$Do\%$	-0,134826	-0,047263	-0,077279
Var.Exp	1,000193	1,000211	1,000281
Prp.Tot	0,250048	0,250053	0,250070

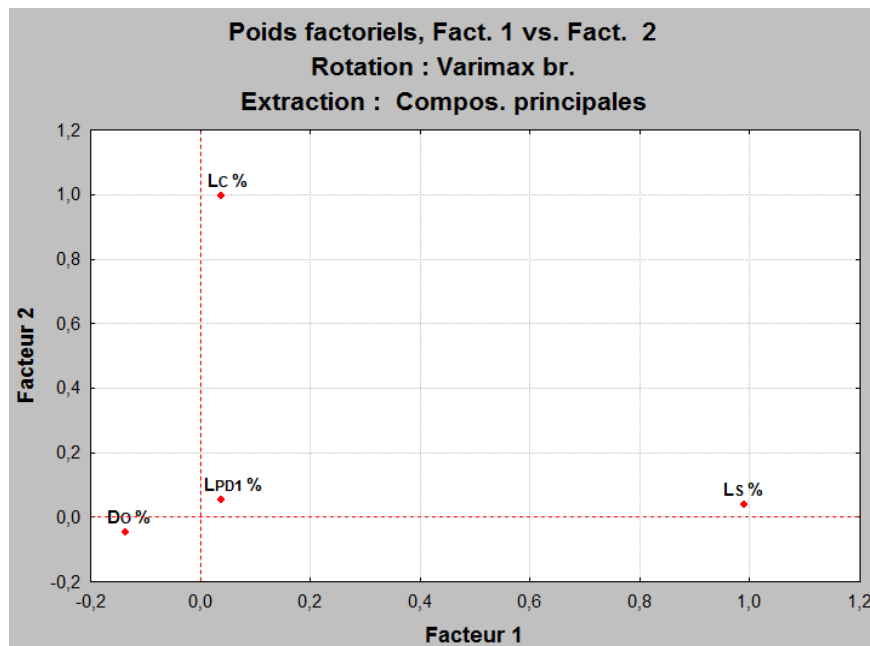


Figure 7 : Projections des variables sur les axes retenus.

La projection sur le plan I-II est effectuée à partir des coordonnées concernant les points sexes présentés dans l'annexe (tableau A1), les résultats sont graphiquement schématisés sur la (figure 8) ci-dessous.

La projection sur deux dimensions des variables et des deux sexes dans l'espace permet d'indiquer que les deux sexes contribuent fortement à la formation de l'axe I et II, ils sont très caractéristiques aux deux sexes, ceci explique l'existence d'une homogénéité entre les mâles et les femelles concernant les rapports entre les caractères métriques, confirmant le type d'allométrie entre les deux sexes (tableau 1).

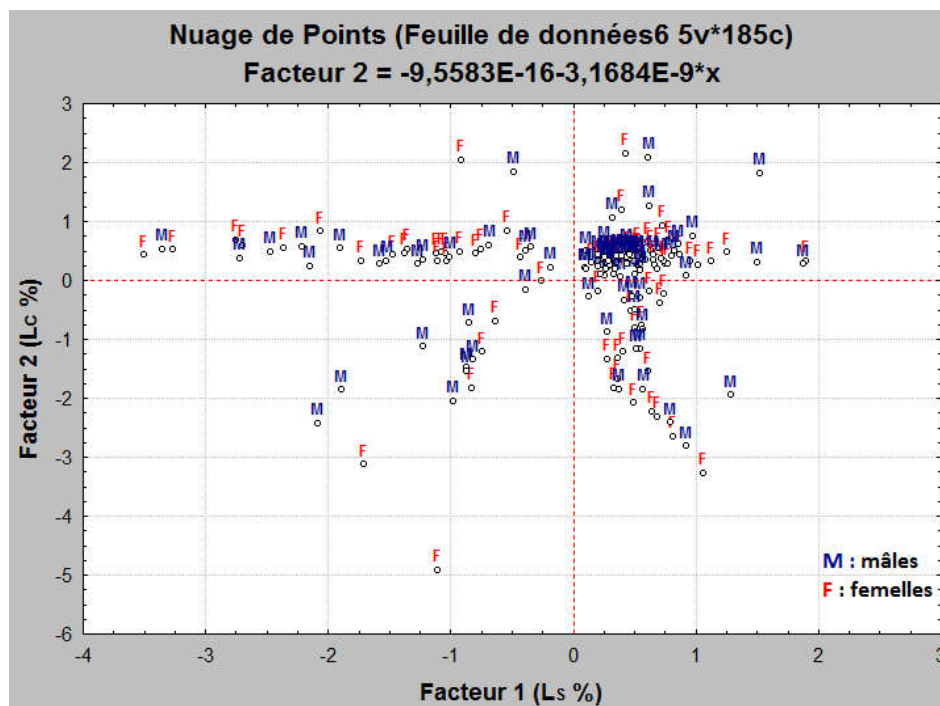


Figure 8 : Projection des individus dans les plans I-II.

Conclusion

La présente étude nous offre un certain nombre d'informations à signaler, d'abord la longueur à la fourche (L_F) croît plus vite que les différentes dimensions du corps (L_C , L_{PD1} , et D_O), quel que soit le sexe, ceci est expliqué par une allométrie majorante ($b > 1$), car il existe une différence significative ($|t_{cal}| > 1.96$) entre les relations de ces dimensions.

Ensuite la relativité mathématique établie entre les dimensions (L_F , et L_S), montre que la longueur à la fourche (L_F) croît à la même vitesse que la longueur standard (L_S) quel que soit le sexe, elle est expliquée par une isométrie ($b \approx 1$), car la différence est non significative ($|t_{cal}| < 1.96$).

L'analyse en composantes principales confirme le type d'allométrie entre les deux sexes, ceci quel que soit les rapports entre les caractères métriques, elle révèle une homogénéité entre les mâles et les femelles.

Références bibliographiques :

- Belloc, G., (1955). Les thons de la Méditerranée. Deuxième note: Thonine et Bonite. FAO Proc. Gen. Fish. Counc. Medit. n° 3 (52): 471-486.
- Benzécri, J. P., (1973). Analyse des données. T2 (leçons sur l'analyse factorielle et la reconnaissance des formes et travaux du Laboratoire de statistique de l'Université de Paris 6. T. 2 : l'analyse des correspondances), Dunod Paris Bruxelles Montréal: 1-7.
- Cayré, P. M., Diouf, T., (1983). Estimating age and growth of *Euthynnus alletteratus*, off the coast of Senegal, using dorsal fin spine sections. U.S. Department of Commerce, NOAA Tech. Rep., NMFS, 8: 105-110.
- Froese, R et Pauly, D., (2012). "*Euthynnus alletteratus*" in [FishBase](#). January 2012 version.

Landau, R. (1965).Determination of age and growth rate in *Euthynnus alletteratus* and *Euthynnus affinis* using vertebrae. Rapports et proces. Verbaux des reunions. Publié par les soins de Jean Furnesting commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mediterranée, Vol. XVIII, Fas. I, 241-244.

Philippeau, G., (1986). Comment interpréter les résultats d'une analyse en composante principales. I.t.c.f., paris, 63.

Rafinesque, C.S., (1810).Caratteri di alcuninuovigeneri e nuove specie di animali e piante dellasicilia, con varieosservazionisopra i medisimi. Part 2 (with slightly different title, pp. ia-iva + 71 - 105).Palermo, 105.

Schwartz, D., (1983).Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Flammarion Ed., 3ème ed.,7ème tirage: 318.

Sokal, R. R et Rohlf, F. J., (1981).Biometry.Eds. Freeman, San Francisco, CA.

Valerias, J., Abad, E., (2006).Little tuna.Field Manual, International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas (ICCAT), Chapter 2.1.115 ATL., 9s.

Volle, M., (1997). Analyse des données, Economica, 4^eédition, ISBN 2-7178-3212-2.

Annexe

A1 :Projection des individus sur les axes principaux.

Codes	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Codes	Axe 1	Axe 2	Axe 3
F	0,55467	-0,75444	0,31666	F	-0,43949	0,40085	0,46598
F	0,72513	0,94258	-0,76910	F	0,68997	0,56708	0,60594
F	0,49296	-2,07403	-1,46454	F	-1,48169	0,43749	0,45210
F	-0,75272	0,54519	-1,20431	F	0,76496	0,29883	0,70191
F	0,63854	-2,21100	0,40810	F	1,11890	0,32660	-1,79824
F	-0,54798	0,85364	-0,95370	F	-1,04221	0,46879	0,41843
F	0,20256	-0,16653	0,17887	F	0,73815	0,34306	-1,81186
F	-1,35519	0,54561	0,32375	F	0,64712	0,34933	0,47764
F	-1,37619	0,46841	-1,30826	F	0,78038	0,67199	-1,01374
F	-1,11552	-4,90670	-2,16089	F	0,55645	0,34926	0,67606
F	0,95024	0,33005	0,55336	F	0,24716	0,08610	0,33358
F	0,61308	-0,17801	0,52871	F	0,67919	-2,30436	0,77576
F	0,73309	-0,22952	-0,50440	F	-2,36598	0,56336	-1,53147
F	0,52548	0,45398	0,52593	F	0,61054	-1,53723	0,75516
F	-1,71855	-3,11225	-0,66960	F	0,50838	0,37236	0,47641
F	0,49541	-0,79921	-2,59588	F	-2,75023	0,69957	-0,55462
F	-0,26839	-0,00634	0,55847	F	0,21878	0,10883	0,41206
F	1,25118	0,48674	0,53270	F	0,51442	0,48289	-1,47560
F	0,42565	2,16668	0,46639	F	-3,50376	0,44161	0,47118
F	-0,93152	0,49208	-0,05693	F	0,44200	0,49304	-1,19158
F	0,65413	0,27884	0,68511	F	0,36348	0,40103	0,37848
F	0,60130	0,65859	-2,81826	F	0,46835	-0,50884	-0,43168
F	-2,06895	0,84058	-3,59756	F	-1,73536	0,33483	0,51932
F	0,52240	0,27228	-0,52612	F	0,52391	0,57154	-0,92833
F	0,69835	-0,36904	0,60802	F	0,45584	0,37065	-1,15415
F	0,80766	-2,63852	0,61599	F	0,36491	0,41854	0,50121

F	-0,92083	2,04727	-2,56177	F	0,30415	0,43013	0,40497
F	-0,82943	-1,81599	0,51027	F	0,44755	0,43937	0,42481
F	0,86743	0,44061	-2,39367	F	0,14814	0,30975	0,21156
F	0,63143	0,51566	0,51664	F	0,58289	0,36599	0,51038
F	-1,11810	0,47731	0,36533	F	0,39746	-1,20411	-0,92777
F	-2,69584	0,60513	0,47572	F	-0,80408	0,46681	0,52890
F	0,32707	-1,81510	0,26193	F	0,27745	-1,32604	0,47463
F	0,68581	0,20420	0,49269	F	0,35061	0,38202	-1,89902
F	-3,26593	0,53322	0,70797	F	0,53424	0,24967	0,28585
F	1,06033	-3,25643	-0,30943	F	0,19709	0,34064	0,35325
F	1,89322	0,33492	0,49424	F	0,39286	1,20710	0,28105
F	-0,74388	-1,20099	-0,83932	F	0,35727	-1,66038	0,44575
F	0,43565	0,28222	0,43467	F	0,32494	0,36128	-1,78718
F	0,74674	0,30024	-2,77614	F	0,53064	0,27005	0,40084
Codes	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Codes	Axe 1	Axe 2	Axe 3
F	-1,08501	0,48287	-1,42268	M	-3,35985	0,54078	0,66225
F	-0,64072	-0,68038	0,52184	M	-0,34833	0,57236	0,61607
F	0,36232	0,33086	-0,85603	M	0,92018	0,08695	0,08633
F	0,27458	0,41153	0,44527	M	0,53625	0,28925	0,46598
F	0,34060	0,34783	0,12364	M	1,51911	1,83205	-2,16833
F	0,21538	0,25791	0,48274	M	-2,22035	0,58172	0,67165
F	0,35976	0,37742	-1,36465	M	-1,23023	0,36006	0,75755
F	0,36245	-1,31652	0,51026	M	0,50044	-0,48753	0,60916
F	-1,10678	0,33440	0,47493	M	-1,58209	0,28856	0,63232
F	0,36271	0,36125	0,51676	M	0,48899	0,34489	0,56571
F	0,47771	0,36101	-0,21917	M	-0,87523	-1,46518	-0,73444
F	0,37884	0,45332	0,53222	M	0,97478	0,76356	0,95137
F	-1,03243	0,33268	0,65797	M	0,65272	0,43749	0,52269
F	0,44582	0,41014	0,43392	M	-1,27253	0,28954	0,58336
F	1,01354	0,27692	0,54277	M	-0,98177	-2,04007	0,59817
M	-0,85229	-0,71742	0,24956	M	0,49943	0,10792	2,58310
M	-1,52590	0,33999	-0,85324	M	0,42994	0,54891	-1,76896
M	-2,08552	-2,41527	0,66478	M	-1,90293	0,54788	0,50711
M	0,54242	-0,27752	-0,97357	M	0,19892	0,24281	0,28034
M	0,10436	0,51207	0,68739	M	0,54173	-1,14854	0,57830
M	0,21580	0,11376	-1,70501	M	-1,01035	0,41141	0,58711
M	0,85632	0,61725	0,73102	M	0,29145	0,44177	-1,29641
M	0,52628	0,25967	0,36242	M	0,52205	0,41556	-1,34901
M	0,80366	0,41944	-2,92274	M	-0,87031	-1,52346	0,53541
M	0,71705	0,38193	0,42324	M	0,19842	0,44320	-2,15578
M	0,56272	-0,80982	1,67387	M	0,35301	0,31397	0,53948
M	0,78421	-2,40375	-0,33211	M	-0,82184	-1,33689	-0,70990
M	-0,68807	0,60524	0,65327	M	0,35847	0,45605	0,39546
M	0,32530	0,10475	0,44805	M	-0,39728	0,51878	-0,60100
M	-0,39412	-0,14982	-0,61575	M	0,11980	-0,26530	0,44759

M	1,28447	-1,93352	0,69175	M	0,29647	0,32659	0,44895
M	0,61284	1,27050	0,58434	M	0,37963	0,05961	-0,53648
M	0,91479	-2,79821	-1,80496	M	0,31836	1,06893	0,36562
M	-2,15316	0,24812	0,43977	M	0,10293	0,20547	1,74827
M	0,53134	0,44239	0,56150	M	-0,18531	0,22630	0,53462
M	0,25307	0,59677	-1,36338	M	0,27411	0,21604	1,21518
M	-2,71860	0,38118	0,70379	M	-0,48633	1,85342	0,46534
M	-1,89540	-1,84212	-1,29389	M	0,26162	0,20841	0,44082
M	-1,22819	-1,11378	0,55841	M	1,49347	0,31430	0,46383
M	0,81572	0,51775	0,41344	M	0,45156	0,38608	0,52762
M	-2,47480	0,49933	0,78526	M	0,24144	0,38038	-1,24129
M	0,09044	0,22247	0,50929	M	0,41840	0,42843	0,39956
M	0,61109	2,09499	0,61144	M	0,50878	-1,15372	0,59654
M	0,53697	0,20876	0,49684	M	0,48159	0,43499	0,55419
Codes	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Codes	Axe 1	Axe 2	Axe 3
M	0,54619	0,17308	2,31053	M	0,39196	0,42463	0,40875
M	0,27723	-0,87347	0,50588	M	0,34997	0,42565	0,50635
M	0,34143	0,20612	0,51493	M	0,37371	-1,83980	0,60424
M	0,40506	0,45578	0,02454	M	0,45830	0,44037	0,40613
M	0,47259	-0,25613	0,45428	M	0,56848	-1,84084	0,51017
M	0,43012	0,39778	1,44837	M	0,29137	0,27021	0,41489
M	1,86776	0,28722	0,45051	M	0,28629	0,33750	-0,50720
M	0,41294	-0,32028	0,49651	M	0,25434	0,39202	0,42033
M	0,43546	0,29866	0,60121				

F : femelle, M : mâle

P10. Contribution de la biomasse des épiphytes de *Posidonia oceanica* à l'apport de matière organique au substrat de l'herbier, Côte de Mostaganem

Abdelhamid BOUCHHER^{1,2}, Nasr-Eddine TAIBI²

Laboratoire : Protection, Valorisation des Ressources Marines & Littorales, et Systématique Moléculaire

¹Département de Biologie, ²Département des Sciences de la Mer et de l'Aquaculture, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, 27000, Boîte postale 300, Algérie

E-mail (s): abdelhabouchh01@gmail.com / geomarine1997@gmail.com

Tél(s): 0661261731 / 0550431401

Résumé

Ce travail de recherche s'est centré sur la communauté des épiphytes associés aux feuilles de *Posidonia oceanica* et leur relation avec la matière organique contenue dans le substrat de

l'herbier. L'échantillonnage de la posidonie et du sédiment sur lequel elle évolue a été réalisé sur la Côte de Mostaganem en plongée sous-marine entre 3 et 5 m de profondeur. Les prélèvements ont eu lieu à Stidia, Salamandre et Petit Port de Mai à Octobre 2014. La détermination des paramètres phénologiques des feuilles a été suivie de l'identification de ses principales espèces d'épiphytes et la détermination de leur biomasse. Au total, 18 espèces de faune et de flore épiphytes des feuilles de posidonie ont été identifiées. Le bryozoaire *Electraposidonia* est l'épiphyte le plus répandu. Les paramètres phénologiques de la posidonie montrent que l'herbier de Stidia est en meilleure condition de conservation que celui de Salamandre et de Petit Port ; ces deux derniers se trouvent à proximité de ports de pêche. Pour les trois sites, une corrélation positive a été trouvée entre la biomasse des épiphytes des feuilles de la posidonie et le taux de matière organique contenue dans le sédiment de l'herbier.

Mots clés : *Posidonia oceanica*, épiphytes, sédiment, matière organique, Mostaganem.

I. Introduction

La Magniophyte *Posidonia oceanica*, et les herbiers qu'elle constitue sont devenus un objectif majeur en termes de protection et de gestion du milieu marin en Méditerranée (Pergent, 1991; Boudouresque et al., 1995 ; Procaccini et al., 2003). En effet, les herbiers de posidonie constituent l'écosystème marin le plus important de la Méditerranée (Boudouresque et Meinesz, 1982) puisqu'ils représentent un grand pôle de diversité biologique.

La communauté des épiphytes des feuilles de *Posidonia oceanica* (L.) Delile, est un élément essentiel de l'écosystème méditerranéen; elle est impliquée dans plusieurs fonctions écologiques. Cette communauté peut présenter une grande diversité biologique caractérisée par des taux de productivité très élevés la rendant une source importante de nourriture pour les herbivores associés aux herbiers (Havelange et al., 1997 ; Lepoint et al., 2000 ; Vizzini et al., 2002 ; Heck et Valentine, 2006). Certains auteurs introduisent également l'idée que les épiphytes pourraient être utilisés comme outils de diagnostic pour estimer la qualité et/ou le degré d'enrichissement en nutriments de l'eau (May, 1982 ; Borum, 1985).

L'étude de la communauté des épiphytes de la posidonie de la Méditerranée algérienne est à ses débuts. Le présent travail se propose d'étudier les épiphytes des feuilles de la posidonie échantillonnées dans trois sites de la Côte de Mostaganem. La méthodologie considère les paramètres phénologiques des feuilles pour rendre compte de l'état de conservation de l'herbier de chacun des sites. Cette étape est suivie par la détermination de la biomasse des épiphytes des feuilles. L'objectif consiste à connaître la relation entre la biomasse des

épiphytes et le taux de matière organique contenue dans le sédiment formant le substrat de l'herbier. Les épiphytes des feuilles, contribuent-ils à l'apport de matière organique au substrat de l'herbier?

II. Matériel et méthodes

Échantillonnage

La présente étude a été menée sur trois sites différentes de la frange côtière Mostaganemoise ; Plage de Stidia (35° 49' N / 0° 01' O), Plage de Salamandre (35° 55' N / 0° 03' E) et la plage de Petit Port (36° 12' N / 0° 22' E) de Mai à Octobre 2014 (Fig. 1).

L'échantillonnage de la posidonie et du sédiment du substrat de l'herbier a été effectué en plongée avec scaphandre autonome. Huit échantillons de posidonie et de sédiment ont été prélevés pour chacun des sites. Les rhizomes orthotropes récoltés sont distants de 50 cm à 1 mètre les uns des autres afin d'éviter de récolter des individus rattachés à un même rhizome plagiotrope encore vivant (Pergent, 1987).



Fig.1: Carte de la cote de Mostaganem avec les trois sites de notre échantillonnage (Google map, 2014 ; modifiée).

Traitement des échantillons

Echantillons de la posidonie

Identification des épiphytes

Pour chaque faisceau, les deux feuilles adultes les plus externes et une feuille intermédiaire ont été observées à la loupe binoculaire et, au besoin, au microscope. Les taxons trouvés (épiphytes) ont été photographiés en macro et en partie, selon la disponibilité des clefs de détermination, identifiés.

Paramètres phénologiques des feuilles de posidonie

Cinq faisceaux ont été prélevés par station. Les feuilles sont séparées selon le protocole de Giraud(1977a) puis dénombrées. En fonction de leur âge, on distingue: les feuilles adultes, les feuilles intermédiaires et les feuilles juvéniles. Pour chaque type de feuilles, la longueur moyenne, la largeur, la surface foliaire moyennesont mesurées et le «Coefficient A» est déterminé ; ce dernier qui traduit le pourcentage de feuilles ayant perdu leurs apex (feuilles cassées ou broutées selon Giraud (1977a).

Biomasse des feuilles et des épiphytes des feuilles

Les faisceaux échantillonnés pour l'étude phénologique sont également utilisés pour déterminer la biomasse des feuilles et des épiphytes des feuilles. Selon la méthode de Dauby et Poulicek(1995), les deux faces de chaque feuille sont grattées soigneusement afin d'en séparer les épiphytes. Pour chaque faisceau, les débris résultant du raclage des feuilles ainsi que les lots de feuilles débarrassées de leurs épiphytes, sont séchées séparément à l'étuve à 70°C pendant 48 heures. Chaque lot est ensuite pesé. Le poids sec des feuilles après grattage, c'est la biomasse des feuilles, exprimée en mg Ps (poids sec) par faisceau. Le poids sec des débris résultant du raclage des feuilles c'est le poids sec des épiphytes. Ces débris sont ensuite calcinés à 550°C dans un four à moufle pendant 3 heures. La différence de poids représente la biomasse des épiphytes.

Échantillons du sédiment

Taux de la matière organique dans le sédiment

Selon la méthode de perte au feu(Rodier, 1984)qui consiste en deux étapes :

a/ séchage dans l'étuve (à 70 C°/24h), puis pesage (S1).

b/ Calcination (four à moufle à 600 C°/2h), puis pesage (S2).

Et le pourcentage de la matière organique dans le sédiment est calculé selon la formule suivante:

$$MO (\%) = [(S1 - S2) / S1] \times 100$$

Analyse de la variance ANOVA à un seul facteur

Elle a été utilisée pour tester d'une manière significative ($p = 0.05$) les différences entre les trois sites d'étude.

III. Résultats et discussion

Identification des principales espèces d'épiphytes

Pour les trois sites d'étude, 18 espèces de faune et de flore épiphytes ont été identifiées. *Electraposidonia* (bryzoaire) est l'espèce la plus répandue : elle occupe presque la moitié de

la surface des feuilles de la posidonie (Fig. 2). Elle est présente dans toutes les stations et à toutes les profondeurs d'échantillonnage (de 1 jusqu'à 5 m).

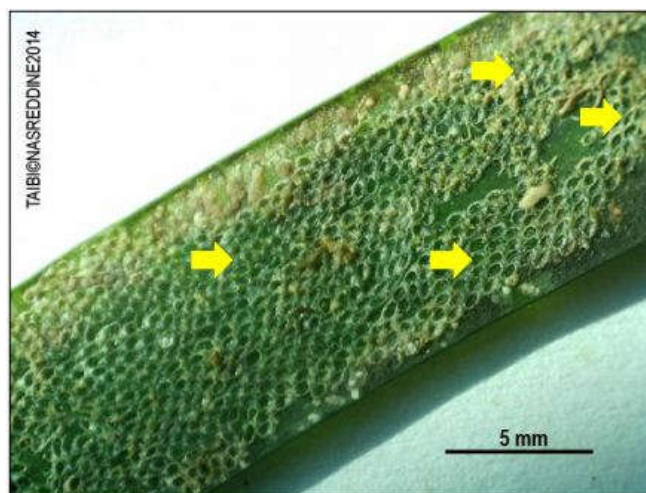


Fig. 2 : *Electraposidonia*, épiphyte fixé sur la feuille de *Posidonia oceanica* (TAIBI.N©2014).

Variation des paramètres phénologiques

L'étude des paramètres phénologiques des feuilles de *Posidonia oceanica* a permis de mettre en évidence une différence significative entre les trois sites d'étude. Par rapport aux sites de Salamandre et Petit Port, l'herbier de posidonie de la plage de Stidia semble être en bon état de conservation du fait qu'il présente les meilleures valeurs des paramètres phénologiques (Figures : 3, 4 et 5). Les nutriments provenant par des effluents d'origines anthropiques constituent vraisemblablement la source principale des faibles valeurs des paramètres phénologiques obtenues à Salamandre et à la Plage de Petit Port.

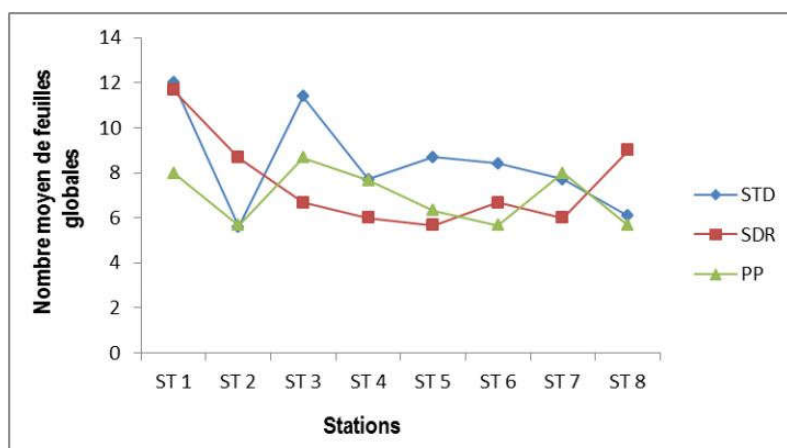


Fig. 3: Nombre moyen de feuilles globales (adultes et intermédiaires) de *Posidonia oceanica* dans les stations de Stidia, Salamandre et Petit Port.

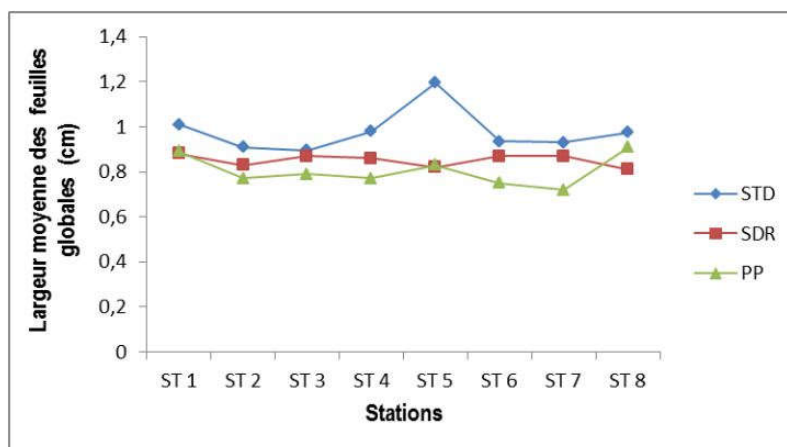


Fig. 4: Largeur moyenne des feuilles globales (adultes et intermédiaires) de *Posidonia oceanica* dans les stations de Stidia, Salamandre et Petit Port.

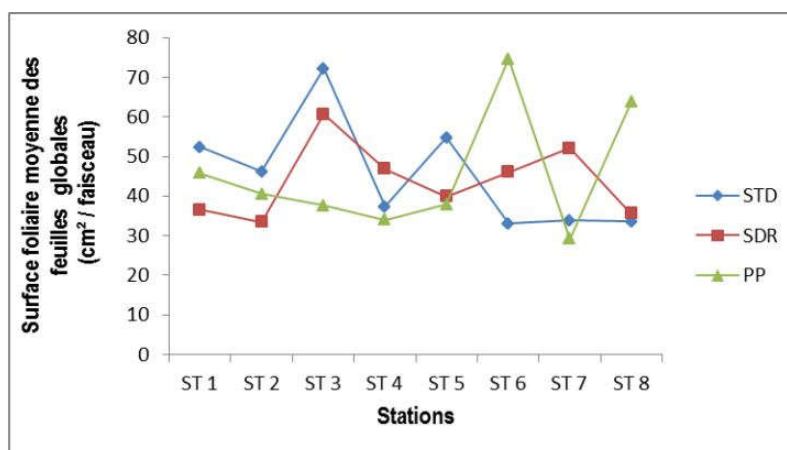


Fig. 5: Surface foliaire moyenne des feuilles globales (adultes et intermédiaires) de *Posidonia oceanica* dans les stations de Stidia, Salamandre et Petit Port.

Biomasse des épiphytes des feuilles

Les valeurs élevées de la biomasse moyenne des épiphytes enregistrées dans le site de Salamandre (Fig. 6) peuvent être expliquées par les fortes concentrations en nutriment résultant des rejets urbains de ce site.

Les variations saisonnières et spatiales de la biomasse des épiphytes sont dues essentiellement aux algues brunes (*Sphacelaria*, *Gyraudia*, *Castagneae*) ou algues rouges (*Ceramium*) qui sont des macro-algues.

Car les algues encroûtantes, les Corallinacées (*Fosliellasp.* et *Pneophyllumsp.*) et les Diatomées sont les composantes essentielles de la communauté épiphytique le long de l'année et à toutes les profondeurs (Mazzella et al., 1993).

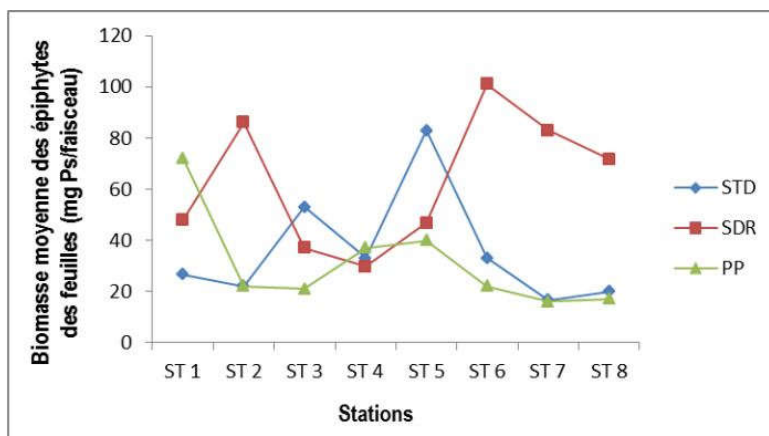


Fig. 6 : Biomasse moyenne des épiphytes des feuilles de *Posidonia oceanica* dans les stations de Stidia, Salamandre et Petit Port.

Taux de matière organique dans le sédiment

Le taux de matière organique contenue dans le sédiment diffère significativement entre les trois sites d'étude (ANOVA, à $P < 0,05$). Les valeurs élevées du taux de matière organique contenu dans le sédiment obtenues au niveau de Salamandre (Fig. 7) sont dues à la mauvaise qualité de l'eau de ce site du fait qu'il soit plus exposé aux perturbations anthropiques par rapport aux deux autres sites d'étude. En effet, les rejets urbains et d'autres activités anthropiques peuvent accroître la charge des eaux côtières en particules en suspension, en nutriments et en matière organique dissoute ou particulaire.

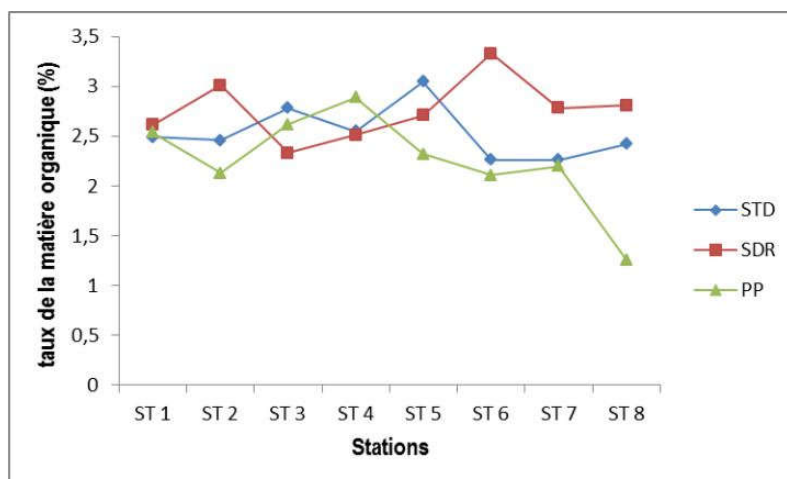


Fig. 7 : Taux de la matière organique contenue dans le sédiment dans les stations de Stidia, Salamandre et Petit Port.

*Relation entre le taux de matière organique contenue dans le sédiment et la biomasse des épiphytes des feuilles de *P. oceanica**

Le taux de la matière organique contenue dans le sédiment est significativement corrélé avec la biomasse des épiphytes des feuilles de posidonie au niveau des trois sites ($r = 0,91$ à la

plage de Stidia, (Fig. 8), ($r = 0,90$ à Salamandre, Fig. 9) et ($r = 0,84$ à la plage de PetitPort, Fig. 10). Donc, si la biomasse des épiphytes augmente, le taux de matière organique contenue dans le substrat de l'herbier augmente.

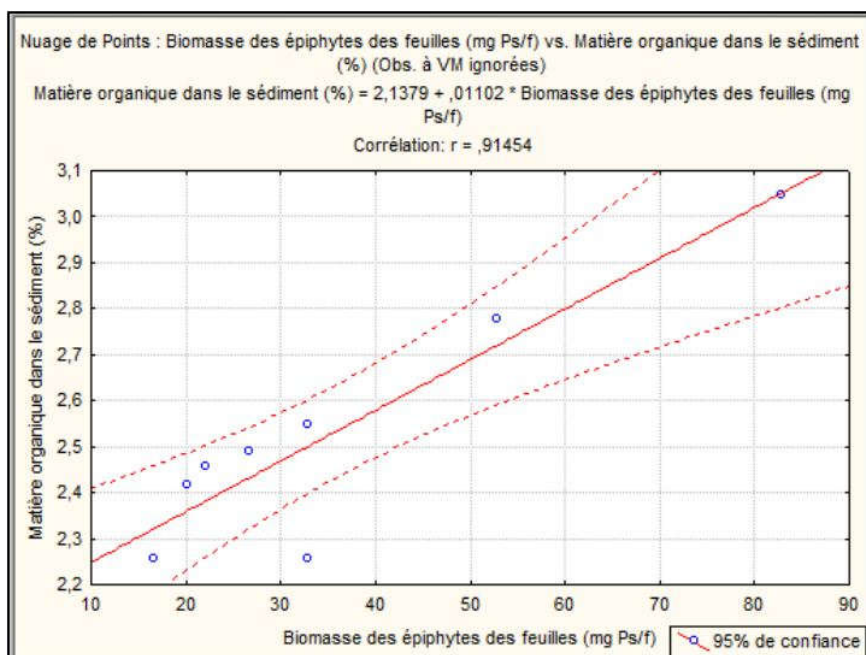


Fig. 8 :Corrélation entre le taux de matière organique contenue dans le sédiment et la biomasse des épiphytes des feuilles (plage de Stidia).

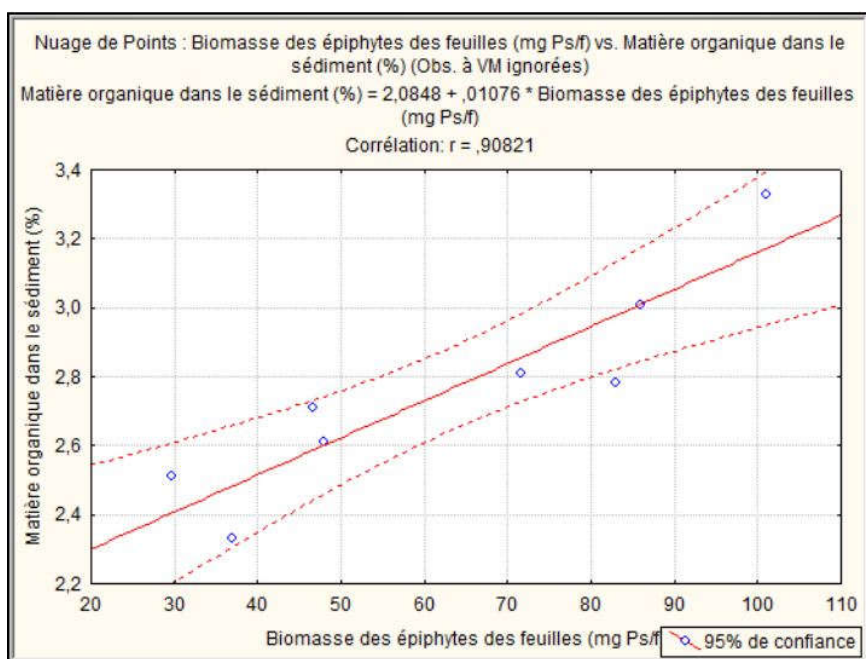


Fig. 9 :Corrélation entre le taux de matière organique contenue dans le sédiment et la biomasse des épiphytes des feuilles (plage de Salamandre).

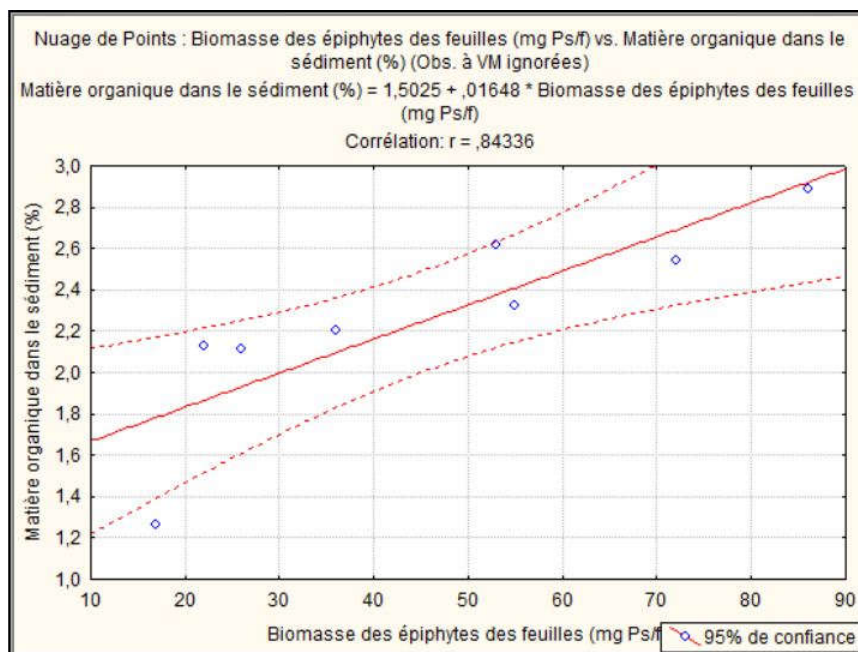


Fig. 10 :Corrélation entre le taux de matière organique contenue dans le sédiment et la biomasse des épiphytes des feuilles (plage de Petit Port).

Conclusion

Comparé avec la Plage de Stidia et celle de Petit Port, le taux de matière organique contenue dans le sédiment ainsi que le taux de recouvrement des feuilles par les épiphytes sont très élevés à Salamandre. Les feuilles sont recouvertes complètement par les épiphytes, ceux qui les rendent attrayantes pour les herbivores. De ce fait, les feuilles en question sont généralement bien broutées par la faune et deviennent sensibles aux effets de l'hydrodynamisme.

Pour les trois sites, une corrélation positive a été trouvée entre la biomasse des épiphytes des feuilles de la posidonie et le taux de matière organique contenue dans le sédiment de l'herbier. Les résultats de l'étude montrent que la biomasse des épiphytes des feuilles contribue à l'apport de la matière organique contenue dans le substrat de l'herbier.

Références bibliographiques:

- Borum J., (1985). Development of epiphytic communities on eelgrass (*Zostera marina*) along a nutrient gradient in a Danish estuary. *Mar. Biol.* 87: 211-218.
- Boudouresque C.F., Meinesz A., (1982). Découverte de l'herbier de Posidonie. *Cah. Parc nation. Port-Cros*, Fr., 4: 1-79.
- Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Molenaar H., Pergent G., Vitiello P., (1995). L'herbier à *Posidonia oceanica* en Méditerranée : Protection légale et gestion. In : Pour qui la Méditerranée au 21^{ème} siècle. Villes des rivages et environnement littoral en Méditerranée. Actes du colloque scientifique Okeanos, Maison de l'Environnement de Montpellier publ., Fr.: 209 – 220. 37:463-475.

- Dauby P., Poulicek M., (1995).Methods for removingepiphytesfromseagrasses: SEM observations on treatedleaves. *AquaticBotany*, 52: 217-228.
- Giraud G., (1977a). Contribution à la description et à la phénologie des herbiers de *Posidoniaoceanica*(L.) Delile. *Thèse Doct. Spécialité, Univ. Aix-Marseille II*, Fr.: 1-150.
- Havelange S., Lepoint G., Dauby P., Bouquegneau J.M., (1997). Feeding of the sparidfish*Sarpasalpa* in a seagrassecosystem: Diet and carbon flux. *PSZNI Mar. Ecol.* 18: 289-297.
- Heck J., Valentine J.F., (2006).Plant-herbivore interactions in seagrassmeadows.*J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 330: 420-436.
- Lepoint G., Nyssen F., Gobert S., Dauby P., Bouquegneau J.M., (2000).Relative impact of a seagrassbed and its adjacent epilithic algal community in consumerdiets.*Marine Biology*, 136: 513-518.
- MayV., (1982). The use of epiphyticalgae to indicateenvironmental changes (*Platysiphoniaminiata*). *Austral. J. Ecol.* 7: 101-102.
- Mazzella L., Scipione M.B., Gambi M.C., Buia M.C., Lorenti M., Zupo V., Gancemi G., (1993). The Mediterraneanseagrass*Posidoniaoceanica*meadow.*Marine ecology*, P.S.Z.N.I., 10(2): 107-129.
- PergentG., (1987). Recherche lépidochronologiques chez *Posidoniaoceanica* (Potamogetonaceae). Fluctuations des paramètres anatomiques et morphologiques des écailles des rhizomes. *Thèse Doctor. Océanol., Univ. Aix-Marseille II* : 1-853.
- Pergent G., (1991).Les indicateurs écologiques de la qualité du milieu marin en Méditerranée. *Oceanis*17(4) : 341-350.
- Procaccini G., Buia M.C., Gambi M.C., Perez M., Pergent G., Pergent-Martini C., Romero J., (2003). Seagrassstatus and extentalong the Mediterraneancoasts of Italy, France and Spain. In: Green E.P., Short F.T., Spalding M.D. edits. *World Atlas of Seagrass: Presentstatus and future conservation*. University of CaliforniaPresspubl.
- Rodier J., (1984). L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. *Edition DunodParis*.
- Vizzini S., Sarà G., Michener R.H., Mazzola A., (2002). The role and contribution of *Posidoniaoceanica* (L.) Delileorganicmatter for secondary consumer as revealed by carbon and nitrogen stable isotope analysis. *Acta Oecologica*, 23: 277-285.

P11. Etude préliminaire sur la Biologie et la Reproduction d'un petit requin *Galeusmelastomus* (Rafinesque, 1810) sur les côtes oranaïses.

AIT DARNA Samira. *, TALEB BENDIAB A.A., BOUTIBA Z.

*Laboratoire Réseau de Surveillance Environnementale, Université d'Oran 1 Algérie.

Tél : 0672-00-36-39 ; Email : Sami.bio2014@gmail.com

Résumé

Galeusmelastomus (Rafinesque, 1810) appelée aussi chien espagnol, est une espèce capturée accidentellement, ainsi qu'elle est sentinelle en reflétant l'état des stocks halieutiques de la région, par sa vulnérabilité à l'impact de la pêche, de part une faible fécondité, et une reproduction tardive, n'assurant pas un bon renouvellement de la ressource.

Nos connaissances sur la biologie de cette espèce sont fragmentaires, notamment dans la zone d'étude pour cela les données récoltées sur une période de 6 mois allant du mois de novembre 2014 au mois d'Avril 2015 sont analysées pour compléter le manque d'informations sur la structure de la population du chien espagnol sur la façade maritime oranaïse. Au total, 220 spécimens, 141 mâles et 79 femelles, ont été récoltés. Les femelles atteignent dans l'ensemble des tailles sensiblement supérieures aux mâles. Généralement les femelles sont légèrement plus grandes, mêmes observations pour le poids, La taille des spécimens variait entre 28 cm et 56 cm de longueur totale, et le Poids entre 66,51 g et 390,65 g pour les deux sexes.

Mot clés : *Galeusmelastomus*, sentinelle, la façade oranaïse, biologie, reproduction.

Introduction

Le chien espagnol *Galeusmelastomus* (Rafinesque, 1810) (scyliorhinidae) est un petit Elasmobranch (Compagno, 1984), c'est l'espèce de Chondrichthyens ovipare la plus abondante en Méditerranée et également présente dans l'Atlantique oriental et de la Norvège au Sénégal (Fisher et al., 1987).

C'est un petit requin à corps allongé et fusiforme avec cinq fentes branchiales équidistantes, les deux dernières sont situées au-dessus de la base des pectorales, son museau long et pointu comprenant environ 6-9 % de la longueur totale (Capapé et al., 2008). Les longueurs maximales rapportées atteintes par le petit requin *Galeusmelastomus* (Rafinesque, 1810) varient de 67 à 79 cm pour les requins de l'Atlantique et de 50 à 64 cm pour les requins de la Méditerranée. Les femelles peuvent atteindre une taille maximale plus grande que celles des mâles (Ragonese et al., 2009), ce petit requin

peut aussi atteindre un poids maximum de 1,4 kg (Capapé et al., 2008).

Matériels et méthodes

Les échantillons ont été récoltés de la région Ouest du bassin algérien, côtes oranaises.

Chaque échantillon mensuel a été traité au niveau du laboratoire, et soumis à un sexage, des mensurations et des pesées suivis d'une dissection afin de déterminer les différents stades de maturité sexuelle

La détermination du sexe a été effectuée grâce au dimorphisme sexuel existant chez l'espèce *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810), les femelles sont caractérisées par la présence d'un cloaque au niveau des nageoires pelviennes contrairement aux mâles, possédant un appareil copulateur constitué de ptérygopodes.

La longueur totale est mesurée des deux extrémités du poisson à partir du museau jusqu'à la nageoire caudale à l'aide d'un ichtyomètre gradué en centimètre. La pesée de tous les spécimens a été réalisée à l'aide d'une balance magnétique de précision au 1/100 de gramme près.

Après la pesée, chaque spécimen est mis sur une plaque de dissection par sa face dorsale, et une ouverture au niveau de la ligne médio-ventrale est pratiquée dans la Région abdominale afin d'observer et de prélever l'ensemble des organes.

Poids éviscéré (Wev) : poids du poisson éviscéré

Poids des gonades (WG) : Nous avons pesé les capsules trouvées chez toutes les femelles échantillonnées.

Poids du foie (WF) : nous avons pesé le foie par la même balance de précision

1- Sex-ratio

1.1 - Sex-ratio global

C'est un indice qui désigne la proportion des individus de chaque sexe d'une population d'une espèce donnée, le sex-ratio ou proportion des sexes (Capapé et al., 1991).

Dans ce présent travail, la valeur du sex-ratio est donnée par l'expression suivante :

Taux de féminité = $F / (F+M) \times 100$

Taux de masculinité = $M / (M+F) \times 100$

1.2 - Sex-ratio en fonction de la taille

Cette étude permet d'étudier la distribution des sexes par rapport aux classes de taille au centimètre près.

1.3- Sex-ratio en fonction des saisons

La détermination du sex-ratio en fonction des saisons permet de suivre la dynamique de la proportion des deux sexes durant les 6 mois de prélèvements.

2- Ecart réduit

La valeur de l'écart réduit ε (Schwartz, 1983) est un test d'homogénéité qui permet de comparer les tailles moyennes des mâles et des femelles, dans le cas des grands échantillons

$$\varepsilon = \frac{|\overline{X}_1 - \overline{X}_2|}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}}$$

3- Etude des stades de maturité sexuelle

3.1- Etude macroscopique des ovaires

Sur la base des travaux de plusieurs auteurs sur l'espèce *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810) (Mellinger, 1995 ; Cabello-Rodriguez, 2008 ; Capapé et al., 2008), la maturité sexuelle a été déterminée à partir des observations macroscopiques et adoptant trois stades de maturité (i) immature, (ii) début de maturation, ovaires bruns clairs et capsules peu rigides, (iii) maturation avancée, ovaires bruns foncés, capsules rigides

4- Oviduco-somatique index (OSI) et Hépto-somatique index (HSI)

En référence aux travaux de Capapé et al., (2008), afin de préciser l'époque et la durée de ponte, il est utilisé l'index oviduco-somatique étant l'évolution saisonnière du poids des capsules par rapport au poids total de l'individu exprimé en pourcentage, défini par la relation : **OSI = CW/TW*100**

Pour le suivi de l'évolution de la ponte, l'indice hépto-somatique, rapport entre poids du foie et poids total du corps, est aussi calculé, cet indice se définit par la relation **HSI = LW/TW*100**

5- Etude de l'indice relatif de condition

Nous avons étudié ce facteur de condition chez les femelles de *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810), dans le but de mettre en évidence les différences du **Kn** (Le Cren, 1951) en fonction du temps. Cet index compare le poids corporel (observé) réel d'un individu donné à une norme estimée par la relation taille-poids basée sur la population à partir de laquelle l'individu a été prélevé.

$$\text{Kn} = W/W_{th} \text{ avec } W_{th} = a \times L^b$$

6- Taille à la première maturité sexuelle

Ce paramètre permet de connaître la contribution des Poissons de petite taille au renouvellement du stock (reproduction).

Approche statistique : elle a été décrite par **Fontana et al, (1969)** comme la taille pour laquelle 50 % des individus sont matures. Cette taille est déterminée à partir de l'abscisse correspondant à l'ordonnée 50 % (**L50**) de la courbe logistique liant le pourcentage de femelles matures aux classes de taille (**Nelder, 1961 ; Cardenas et al,1997**) correspondant à l'expression :

$$p_i = \exp(a+b * Li) / 1 + \exp(a+b * Li)$$

Résultats

Tableau1 : Pourcentage des sexes de *Galeusmelastomus*(Rafinesque, 1810).

Sexe	Effectif	Pourcentage
Femelles	79	35,90%
Mâles	141	64,09%
Total	220	100%

A partir d'un échantillonnage de 6 mois représenté par un effectif de 220 individus de petits spécimens de *G.melastomus*sexés, nous obtenons un taux de féminité total de 35,09% pour un taux de masculinité total de 64,90%. Selon le test de significativité nous remarquons que les mâles sont plus nombreux que les femelles (**Tab.1**)

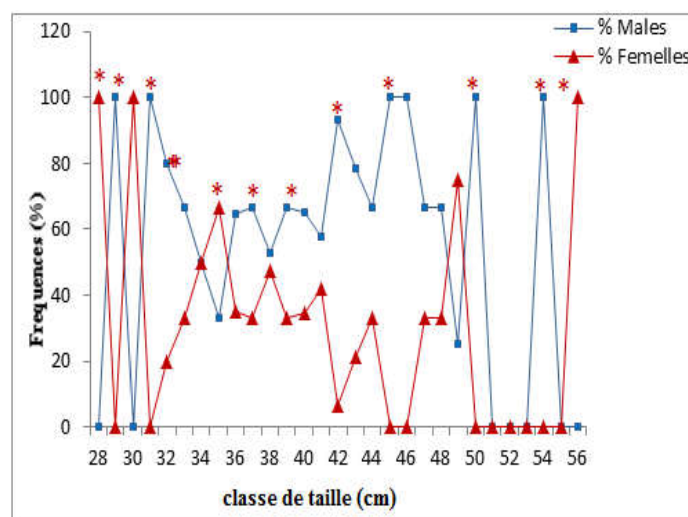


Fig 1 : Courbed'abondance des femelles et des mâles en fonctions de la taille chez *Galeusmelatomus* (*Rafinesque, 1810*)

A partir de fréquences de femelles et de mâles par classe de taille, on fera ressortir les courbes d'abondance de taille sur la figure 1 où De façon général, nous observons que les mâles sont plus grands que les femelles

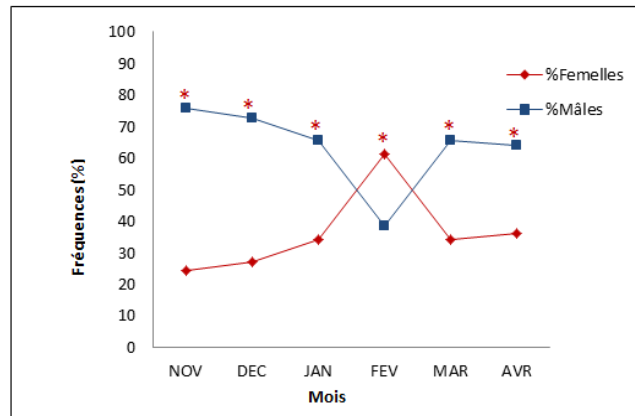


Fig 2 Distribution des sexes en fonctions des saisons chez *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810)

Sur la **figure 2** sont représentées les variations d'un mois à un autre du taux de féminité. Le pourcentage des mâles reste significativement dominant durant le mois de Novembre, Décembre et janvier, et diminue au mois de Février. La tendance est à l'inverse chez les femelles

Tab 2: Différents paramètres de taille des mâles et des femelles chez *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810)

Sexes	Mâles	Femelles
Effectif	141	79
$\bar{X}(cm)$	39,84	38,39
σ^2	223832,173	113525,957
$(cm)^2$		
χ^2	0,52	

Les résultats sont comparés à χ^2 théorique(1,96) au taux de sécurité de 95% (Tab.2)

La valeur calculée de $\varepsilon = 0,52$ est inférieure à la valeur 1,96 mais ne s'éloigne pas de cette valeur donnée par la table de l'écart réduit (**Tab.2**) le constat indique donc un résultat significatif, qui par conséquent, traduirait que les mâles sont en moyenne plus grands que les femelles.

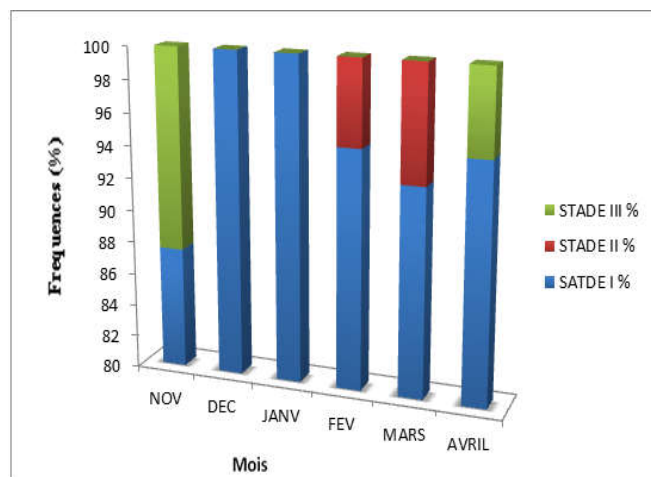


Fig 3: Evolution mensuelle des fréquences des différents stades de maturité sexuelle chez les femelles de *Galeusmelastomus* (Rafinesque, 1810).

Les femelles matures sont présentes au mois de Novembre et Avril alors que les femelles en début de maturation sont observées en Février et Mars, **figure3**. Selon quelques observations tirées de différents travaux réalisés en Méditerranée (Capapé et al., 1977 ; Rey et al., 2005 ; Rinelli et al., 2005 ; Taleb Bendiab, 2010) la période de reproduction est définie comme annuelle.

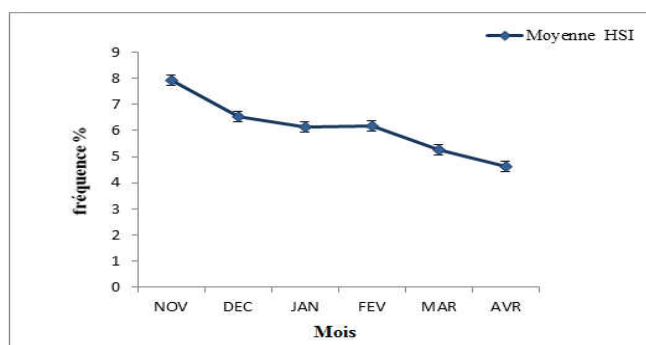


Fig 4 : Evolution mensuelle de l'HSI avec erreur standard chez les femelles de *Galeusmelastomus* (Rafinesque, 1810)

Les pics observés sur la **figure 4** correspondent à la période de ponte annuelle de la population, les valeurs les plus élevées se trouvent aux mois de Novembre, et Février c'est la période de forte maturation et de ponte, les valeurs les plus basses s'inscrivent aux mois de Janvier, Mars, ainsi que le mois d'Avril

Concernant l'oviduco-somatique index (OSI) qui est spécifique aux Elasmobranches il n'a pas été estimé en raison de la quasi absence de spécimens mâtures dans notre échantillonnage, ce qui rend l'étude non significative, ce manque de disponibilité d'échantillons femelles mâtures pourrait être expliqué par le fait que notre échantillonnage n'a pas été poussé jusqu'à la période de reproduction de l'espèce.

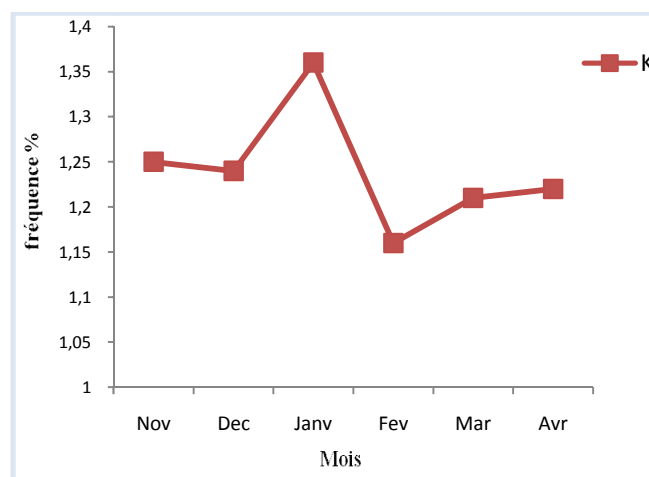


Fig 5: Evolution mensuelle de l'indice de condition kn chez les femelles de *G. melastomus*

Les valeurs du Kn sont au-dessus de 1 traduisent un embonpoint, et donc révèlent une période de reproduction tout le long de l'échantillonnage et confirmant une période de forte maturation dans les intervalles de Novembre à Décembre et de Février à Mars où les valeurs du Kn sont relativement basses, **figure 5**

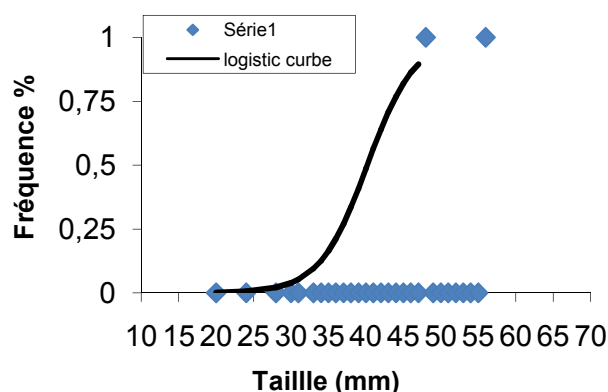


Fig6 : Taille de première maturité sexuelle de l'espèce *Galeusmelastomus* (Rafinesque, 1810).

A partir de cette courbe logistique, **figure6** nous remarquons que la fréquence des femelles mûres est très faible en raison du manque de disponibilité des spécimens mûres ou en début de maturation. Néanmoins, nous pouvons constater que le point où 50% des femelles sont immatures et 50% sont mûres correspond à la taille 48 cm.

Conclusion

Ce travail nous a permis une meilleure connaissance de l'espèce *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810) et de tirer des conclusions générales sur l'espèce, nous retenons que les mâles ont une dominance importante par rapport aux femelles, la période de forte maturation est définie au mois de Décembre, Mars et Avril, La taille du plus petit spécimen est de 28 et

du plus grand est de 56cm dont la plus grande taille est observée chez les mâles, et La taille de première maturité est estimée à 48 cm chez les femelles.

Ces résultats nous permettent de dire que les paramètres de la biologie de la reproduction de l'espèce *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810) ne diffèrent pas de façon significative des autres régions de la Méditerranée (Rey et al., 2005 ; Rinelli et al., 2005) ou nous retrouvons la période de maturation notée en période automnale et printanier, alors que les phases de repos sont observées en saison froide, il donc important de souligner qu'à partir de toutes ces observations relevées des différentes études sur l'espèce *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810) nous pouvons dire que ce petit requin qui n'est considéré que comme espèce accidentelle voir accessoire représente un excellent indicateur reflétant la richesse et la diversité des stocks de pêche de la région.

Références Bibliographiques :

CABELLO-RODRIGUEZ, C., 2008- Biología y ecología de la pintarroja *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus, 1758) en el mar Cantábrico. *These de Doctorat Université de Cantabrique. Espagne*. 248p.

CAPAPE, C., 1977- Contribution à la biologie des Scyliorhinidæ des côtes tunisiennes. I. *Scyliorhinus canicula* (Linné, 1758): répartition géographique et bathymétrie, sexualité, reproduction, fécondité. *Bulletin de l'Office National des Pêches de Tunisie*, 1(1): 83-101.

CAPAPE, C., O. GUÉLORGET, Y. VERGNE, ET C. REYNAUD., 2008- Reproductive biology of the blackmouth cat shark, *Galeus melastomus* Chondrichthyes: Scyliorhinidae off the Languedocian coasts southern France, northern Mediterranean. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 88 (2): 415–421. doi:10.1017/s002531540800060x. (subscription required)

COMPAGNO, L.J.V., 1984- Sharks of the World: An Annotated and Illustrated Catalogue of Shark Species Known to Date. Food and Agricultural Organization. p. 312. ISBN 92-5-101384-5.

CARDENAS, E., AVILA DE MELO, A., IGLESIAS, S ET SABORIDO, F., 1997- Selectivity of 130 mm mesh size in deep sea bottom trawl fishery in NAFO regulatory area. *NAFO Sci. Coun. Studies*, 30: 21-25.

CAPAPE, C., TOMASINI, J. A. ET BOUCHEREAU, J. L., 1991- Observations sur la biologie de reproduction de la petite roussette, *Scyliorhinus canicula* (Linnæus, 1758) (Pisces, Scyliorhinidae) du golfe du Lion (France méridionale). *Ichthyophysiologica Acta*, 13: 87-109.

FISCHER, W ; BAUCHOT ET. SCHNEIDE, M., 1987- Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Révision 1. Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Volume II. Vertébrés. Publication préparée par la FAO, résultat d'un accord entre la FAO et la Commission des Communautés Européennes (Projet GCP/INT/422/EEC) financée conjointement par ces deux organisations. Rome, FAO, Vol. 2: 761- 1530.

FONTANA, A ET LE GUEN, J.C., 1969- Etude de la maturité sexuelle et de la fécondité de *Pseudotolithus elongatus*. *Cahiers ORSTOM, sér. Océanogr.*, 7 (3) : 9-19.

- LE CREN, E.D., 1951- The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Percafluviatilis*). *J. Anim. Ecol.*, 20(2), 201-219.
- MELLINGER J., 1989. Reproduction et developpement des chondrichthyens. In *Oceanis*. Vol 15. Fasc3 :283 308.
- NELDER, J.A., 1961- The fitting of generalization of the logistic curve. *Biometrics.*, 1961: 89-110
- RAGONESE, S., G. NARDONE, D. OTTONELLO, S. GANCITANO, G.B. GIUSTO, ET SINACORI, G., 2009- Distribution and biology of the Blackmouthcatshark *Galeusmelastomus* in the Strait of Sicily Central Mediterranean Sea PDF *Mediterranean Marine Science* 10 (1):55–72.doi:10.12681/mms.122.
- REY, J., L. G. DE SOLA ; ET. MASSUTI, E .,2005- Distribution and Biology of the BlackmouthCatshark *Galeusmelastomus* in the Alboran Sea (Southwestern Mediterranean). *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, 35: 215-223. doi:10.2960/J.v35.m484
- RINELLI, P ; BOTTARI, T ; FLORIO, G; ROMEO, T; GIORDANO, D; ET GRECO,S., 2005- Observations on distribution and biology of *Galeusmelastomus* (Chondrichthyes, Scyliorhinidae) in the southern Tyrrhenian Sea (central Mediterranean), *Cybiu* 2005, 29(1)
- SCHWARTZ, D., 1983- Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes 3ème *Ed Flammarion*, 7ème tirage : 138p .
- TALEB BENDIAB A.A., 2010- Paramètres d'approche de la reproduction, la croissance et l'exploitation d'un sélacien, la petite roussette *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus, 1758) de la façade maritime oranaise. *Thèse de Magister*, Université Es Sénia, Oran, Algérie, 33,34,36-42p

P12. Total Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Methanolic

Extracts from *Marrubium vulgare* Leaves and Flowers

Imane Namoune¹, Bachra Khettal¹ Lekhmici Arrar²

¹Laboratory of Ethnobotany and Plants Biotechnology, Faculty of Nature and Life Sciences, University of Bejaia, Algeria

²Laboratory of applied Biochemistry, Faculty of Nature and Life Sciences, University Ferhat Abbas, Setif, Algeria

imenaam@gmail.com

Abstract

Polyphenols are secondary plant metabolites that are ubiquitously present in plants and are known for their antioxidant activity as radical scavengers and have possible beneficial roles for human health, such as reducing the risk of cancer, inflammation diseases, and other pathologies. For these reasons, the determination of their amounts in the methanolic extracts of *Marrubium vulgare* leaves and flowers is of great importance. In this study, methanol extracts from *M. vulgare* leaves (MEL) and flowers (MEF) were evaluated for their phenols content using Folin-Ciocalteu reagent, and antioxidant activity using different methods: 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzenothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical scavenging activity and beta carotene bleaching essay. The results showed that MEL contained the highest amount of

polyphenols followed by MEF (64.87 ± 1.03 and 60.02 ± 0.59 mg EAG /g dry extract, respectively). On the other hand, the flavonoids content was 10.09 ± 0.43 and 16.34 ± 1.29 mg EQ /g dry for MEL and MEF respectively. The β -carotene assay revealed that the two extracts have an important antioxidant activity with ($80.48 \pm 3.51\%$) of inhibition for MEL and ($76.38 \pm 0.79\%$), for MEF. High ABTS radical scavenging was observed in MEL (0.032 ± 0.058 mg/ml) followed by MEF (0.059 ± 0.036 mg/ml). The obtained results of the antioxidant activity suggested that these natural extracts could be used as antioxidant compounds.

Keywords: *Marrubium vulgare*, Polyphenols, Antioxidant activity, ABTS, beta carotene.

1. Introduction

Oxygen (O₂) is one of the most important elements required to sustain life. Dysfunctions of its metabolism generate an excess of very reactive chemical species known as « reactive oxygen species» (ROS), this uncontrolled production of ROS induces oxidative stress which is defined as an imbalance between the production of ROS and their elimination by protective antioxidants. Inadequate regulation of stress responses and oxidative stress are implicated in many diseases, and can be observed in Down syndrome, Alzheimer's disease (AD) and autism^{1, 2}. In recent decades, various plants have been of great interest as sources of natural antioxidants. Among these plants, *Marrubium vulgare* which is an aromatic medicinal plant used traditionally to treat bronchitis, coughs, and colds. This study aims to evaluate total phenolics contents and also the antioxidant activity of *Marrubium vulgare* leaves and flowers methanolic extracts.

2. Materials and Methods

2.1. Chemicals

Folin–Ciocalteu, Gallic acid, Aluminium chloride (AlCl₃), Quercetin, beta-carotene (b-carotene), butylated hydroxytoluen (BHT), sodium carbonate (Na₂CO₃), 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzenothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid (Trolox).

2.2. Plant material

The plant was collected in May 2014. It was identified by Prof. Hocine Laouer, and voucher specimens were deposited at the Laboratory of Applied Biochemistry, University Ferhat Abbas Setif 1, Setif, Algeria. The *Marrubium vulgare* leaves and flowers were separately washed, air dried in a shadowy place, then ground to a fine powder and stored at ambient temperature in the dark.

2.3. Preparation of plant extracts

The dried powders of the leaves and/or the flowers of *Marrubium vulgare* were extracted by using a Soxhlet extractor containing methanol under reflux conditions. The extracts were then concentrated under reduced pressure at 45° C using a rotary evaporator (Büchi Rotavapor R-200) to obtain a crude methanolic extract of leaves (MEL) and/or flowers (MEF).

2.4. Determination of total phenolic content

Total phenolic content was measured by the Folin-Ciocalteu method as described by Li *et al.*³. In brief, 200 µL of diluted samples were added to 1 mL of a 1:10 diluted Folin–Ciocalteu reagent. Then, 800 µL of a saturated sodium carbonate solution (75 g/l) was added. After 2 h of incubation at room temperature, the absorbance at 765 nm was measured. Gallic acid was used for the standard calibration curve. The results are expressed as milligram gallic acid equivalent per gram of dried weight (mg GAE/ g DW).

2.5. Determination of total flavonoids content

The total flavonoids content was determined by the aluminum chloride colorimetric method as described by Bajorun *et al.*⁴. Briefly, 1 mL solution of 2% aluminium trichloride (AlCl₃) dissolved in methanol was mixed with the same volume of extracts. The absorbance at 430 nm was recorded after 10 min and quercetin was used for the standard calibration curve. The results are expressed as milligram quercetin equivalent per gram of dried weight (mg QE / g DW).

2.6. β-carotene bleaching assay

In this assay, the antioxidant capacity was determined by measuring the inhibition of the volatile organic compounds and the conjugated diene hydroperoxides arising from linoleic acid oxidation according to the method of Kartal *et al.*⁵. Briefly, 0.5 mg of β-carotene dissolved in 1 mL of chloroform was added to 25 µL linoleic acid and 200 mg Tween 40. The mixture was then evaporated at 40°C for 10 min by means of a rotary evaporator to remove chloroform and was then immediately diluted with 100 mL of distilled water saturated with oxygen which was slowly added to the mixture and agitated to form an emulsion. 2.5 mL of this emulsion solution was placed into different test tubes containing 350 µL of samples prepared at 2 mg/mL in distilled water or methanol. The tubes were then incubated for 48 h in the dark at room temperature. The absorbance was measured at 490 nm at different time intervals of incubation (0, 2, 4, 6, 24 and 48 h). The same procedure was repeated with the synthetic antioxidant (BHT) and the control (containing emulsion solution only). β-carotene bleaching inhibition ratio was estimated using the following equation:

Bleaching inhibition (%) = 100 (β-carotene content after 24 h of assay/ initial β-carotene content)^{6, 7}.

2.7. ABTS radical scavenging assay

The spectrophotometric analysis of ABTS⁺ radical scavenging activity was determined according to the method of Re *et al.*⁸. The working solution was prepared by mixing two stock solutions of 7 mM of ABTS and 2.4 mM potassium persulphate in equal amounts and allowing them to react for 16 h at room temperature in the dark. The working solution was prepared before each assay by diluting the stock solution to 50 % methanol for an initial absorbance of about (0.700 ± 0.02) at 734 nm. The free radical scavenging activity was assessed by mixing 50 µl of various dilutions of each extract or standard antioxidant (Trolox) with 1 mL of ABTS working solution. The reaction mixture was then mixed thoroughly and left in the dark at room temperature for 7 min. The ABTS⁺ radical scavenging ability was calculated by using the following equation:

$$\text{ABTS scavenging effect (\%)} = 100 (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}$$

Where, A_{control} is the absorbance of the blank solution (containing all reagents except the test compound) and A_{sample} is the absorbance of the test compound. The extract concentration providing 50% inhibition (IC_{50}) was calculated from the plot of inhibition percentage against extract concentration.

2.8. Statistical analysis

The results were calculated as the mean ± SD and analyzed by One-way analysis of ANOVA followed by Tukey test. Differences were considered significant at a *P* value of less than 0.05.

3. Results

3.1. Total phenolic and flavonoids contents

The results presented in **Tab. 1** showed that methanolic extract of the leaves (MEL) is the richest in polyphenols followed by methanolic extract of the flowers (64.87 ± 1.03mg EAG /g dry extract and 60.02 ± 0.59mg EAG /g dry extract, respectively) and the inverse in the flavonoids amounts with 10.09 ± 0.43mg EQ /g dry MEL and 16.34 ± 1.29mg EQ /g dry MEF.

Tab. 1: Determination of total polyphenols and flavonoids in *M. vulgare* extracts

Samples	Polyphenols (mg GAE/g DW)	Flavonoids (mg QE/g DW)
Leaves	64.87 ± 1.03	10.09 ± 0.43
Flowers	60.025 ± 0.59	16.34 ± 1.29

Values are expressed as mean ± SD (n=3).

MEL: Methanolic extract of leaves; MEF: Methanolic extract of flowers

3.2. β -carotene bleaching assay

As can be seen in **Fig. 1**, the extracts were able to prevent the bleaching of β -carotene compared to BHT as the positive control. After 24 h and at the same concentration of 2 mg/mL, *M. vulgare* methanolic leaves extract demonstrated the best ability to inhibit the bleaching of β -carotene by scavenging linoleate-derived free radicals ($80.48 \pm 3.51\%$) not far from that of BHT ($95.53 \pm 1.82\%$) which was used as the positive control, followed by that of MEF ($76.38 \pm 0.79\%$).

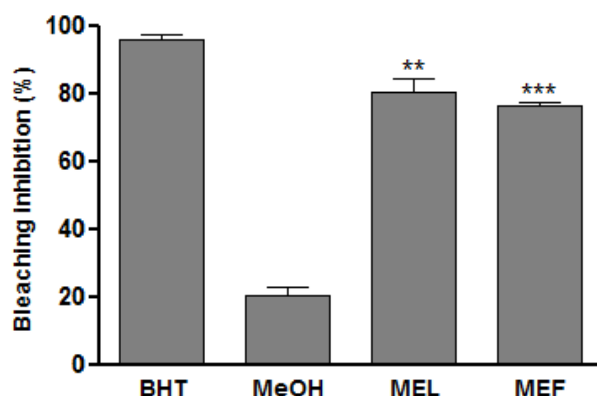


Fig. 1: Bleaching inhibition (%) of β -carotene of methanolic extracts leaves (MEL) and flowers (MEF). Each value represents the mean $\pm$ SD of three tests ($n=3$). **: $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, compared to BHT.

3.3. ABTS radical scavenging assay

The results shown in **Fig. 2** revealed that the best ABTS free radical scavenging activity was exerted by MEL with an IC_{50} of (0.032 ± 0.058 mg/ml) followed by MEF (0.059 ± 0.036 mg/ml). However, compared with the reference standard Trolox ($IC_{50} = 0.0018 \pm 0.0248$ mg/mL), these extracts showed weak scavenger effect.

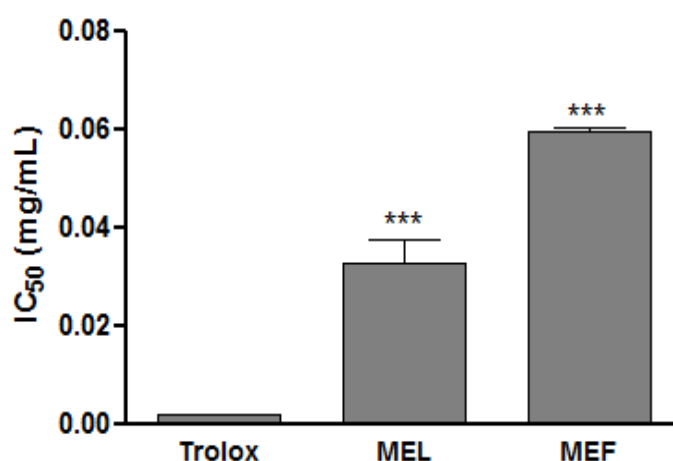


Fig. 2: ABTS radical scavenging activity of methanolic extracts of leaves (MEL) and flowers (MEF). Data are presented as IC_{50} values. Each value represents the mean $\pm$ SD ($n=3$). *** $p < 0.001$ compared to Trolox.

4. Discussion

In the present study, the total polyphenols and flavonoids contents, the β -carotene bleaching inhibition and the ABTS radical scavenging activity of *Marrubium vulgare* leaves and flowers methanolic extracts were investigated.

Polyphenols represent one of the largest groups of plant metabolites. They possess several beneficial health effect and biological activities such as antioxidant, antibacterial, antiviral, immuno-modulatory, anti-inflammatory, anti-allergic, anti-mutagenic, antiviral, antineoplastic, antithrombotic, and vasodilation activities⁹. For these reasons, the determination of their amounts in the *M. vulgare* extracts is of great importance. The results obtained in this study revealed that the level of total polyphenols was considerably higher in the leaves methanolic extract. This variation of the amount of phenolic compounds in *M. vulgare* extracts can be attributed to the distribution of these compounds in the different parts of the plant.

According to several authors, the test of linoleic acid oxidation inhibition coupled with β -carotene, appears very useful as a mimetic model of lipid peroxidation in biological membranes¹⁰. β -carotene bleaching assay is based on the discoloration of β -carotene because of the oxidation of linoleic acid-generated free radicals in an emulsion system. In the presence of antioxidant compounds, this discoloration is decreased at 490 nm. According to the obtained result, leaves methanolic extract exhibited the strongest inhibition capacity of β -carotene bleaching; this is most likely attributed to its total phenolic content.

Free radicals have been implicated in the cause of several diseases such as liver cirrhosis, atherosclerosis, inflammation and diabetes and play an important role in ageing. Oxidative stress can also contribute to the development of neuro-degenerative disorders, such as Alzheimer's and Parkinson's as well as other diseases. ABTS radical scavenging method is common spectrophotometric procedures for determining antioxidant capacities of extracts. It is based on the ability of antioxidants to reduce the stable ABTS radicals to the non-radical form and this is indicated by the degree of discoloration which could be determined by measuring the decrease in the absorbance. According to the results, the highest scavenging effect was exerted by leaves methanolic extract; this can be attributed to the presence of enriched total phenolic compounds. It is known that polyphenols are electron donors and could react with free radicals to convert them to more stable products and terminate the radical chain reaction¹¹. It is also known that the free radical scavenging activity of polyphenolic compounds is believed to be influenced by the number and position of phenolic hydrogen in their molecules¹².

Conclusion

From the present work, we can conclude that among *Marrubium vulgare* leaf and flower methanolic extracts, the largest amount of total phenolics was detected in MEL. This extract showed the best inhibition activity in b-carotene bleaching assay and exhibited the best ABTS scavenging activity.

References

- ¹G.E. Gibson, H.M. Huang, 2005. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging.*, 26(5): 575–578.
- ²A. Ghanizadeh , S. Akhondzadeh , M. Hormozi , A. Makarem, M. Abotorabi-Zarchi, A. Firoozabadi , 2012. Glutathione-related factors and oxidative stress in autism, a review. *Curr Med. Chem.*, 19(23): 4000-4005.
- ³H.B. Li, K.W. Cheng, C.C. Wong, K.W. Fan, F. Chen, Y. Jiang, 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem.*, 102: 771- 776.
- ⁴T. Bahorun, B. Gressier, F. Trotin, C. Brunet, T. Dine, M. Luyckx, J. Vasseur, M. Casin, J.C. Casin, M. Pinkas, 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung.*, 4: 1086-1089.
- ⁵Kartal,N.; Sokmen, M.; Tepe, B.; Daferera, D.; Polissiou, M.; Sokmen, A. *Food Chem* 2007, 100, 584-589.
- ⁶L. Barros, M.-J. Ferreira, B. Queiros, I.C.F.R. Ferreira, P. Baptista, 2007. Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chem.*, 103: 413-419.
- ⁷Y.S. Shyu, J.T. Jau-Tien Lin, Y.T. Chang, C.J. Chiang, D.J. Yang, 2009. Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower. *Food Chem.*, 115: 515-521
- ⁸R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26: 1231-1237.
- ⁹G .S. Celep, and R. Rastmanesh, 2013. Polyphenol Consumption and Metabolic Diseases. *J Nutr Disorders.*, 3: 1-2.
- ¹⁰A. Ferreira, C. Proença, M.L.M. Serralheiro, M.E.M. Araújo, 2006. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J. Ethnopharmacol.*, 108(1): 31-37
- ¹¹T. Hatano, H. Kagawa, T. Yasuhara, T. Okuda, 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root their reative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.*, 36: 2090-2097.
- ¹²C.A. Rice-Evans, N.J. Miller, G. Paganga, 1996. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.*, 20: 933-956.

P13. Extraction et caractérisation de la cellulose obtenue à partir de la plante Alpha (*Stipa Tenacissima* L)

D.E. Kherroub¹, A. Boucherdoud², L. Bouhadjar¹

¹Laboratoire de chimie des polymères de l'université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella, Algérie

Email : djamaledine.kherroub@yahoo.com

Tél : +213795565299

²Laboratoire de Structure, Faculté des Sciences et de la Technologie, Elaboration et Application des matériaux Moléculaires, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie

Résumé :

L'Alpha (*stipa Tenacissima*) est une plante vivace, très résistante à la sécheresse, elle est très répandue en Algérie. La production de cette biomasse est de 400 à 1800 kg/ha selon la région. Elle est riche en cellulose (environ plus de 40 %). La cellulose est l'un des nombreux polymères que l'on trouve dans la nature. Elle est composée de la répétition du monomère glucose, c'est le même glucose que notre corps métabolise pour vivre. Elle représente la matière organique la plus abondante sur la terre. La quantité synthétisée par les végétaux est estimée à 50-100 milliards de tonnes par an. Ce travail se focalise sur l'obtention de la cellulose à partir de la plante Alpha (*Stipa Tenacissima* L), ainsi sa caractérisation par différentes méthodes d'analyse (ATG, RDX, IRTF et MEB). Les conditions opératoires sont optimisées de telle sorte d'atteindre le rendement maximal en obtenant au même temps une cellulose pure.

Mots clés: Alpha, Cellulose, *stipa Tenacissima*, polymère, biomasse.

1. Introduction

Cette étude intitulée : «Extraction et caractérisation de la cellulose obtenue à partir de la plante Alpha (*Stipa Tenacissima* L)» représente les différentes opérations suivies au niveau du laboratoire pour l'obtention de la pâte cellulosique à partir de l'Alpha.

En réalité, il existe plusieurs processus qui se diffèrent légèrement d'une origine à une autre et aussi selon le procédé utilisé, mais l'objectif est toujours le même ; c'est l'élimination le plus possible des composants non-cellulosiques : la lignine, les hémicelluloses et les pectines, et autres impuretés : les cires, les résines et les matières minérales...Etc. Donc, on a essayé constamment de donner les explications nécessaires et citer les raisons du choix du procédé le plus convenable et efficace selon les littératures.

En fin, la clôture de cette étude est une partie de caractérisation des échantillons obtenus en utilisant différentes techniques d'analyse (ATG, RDX, IRTF et MEB), afin de confirmer la structure de la cellulose obtenue, et de montrer la différence existante à l'échelle structurale entre notre cellulose et celle commerciale.

2. Préparation de la cellulose à partir de l'Alpha (*Stipa Tenacissima* L)

Il existe plusieurs procédés pour la préparation de la pâte cellulosique à partir de l'Alpha. Dans ce projet, on va utiliser le procédé qui s'appelle selon les littératures « Le procédé alcalin » qui se base sur l'action de la soude. La raison pour le choix de ce procédé est: la simplicité relative de l'exécution de ce processus et aussi la disponibilité des produits chimiques requis au niveau de laboratoire est un autre facteur qui a motivé notre choix pour ce procédé.

Le procédé alcalin complet d'extraction de cellulose est composé de trois étapes principales : les prétraitements, l'extraction et les post-traitements. Les prétraitements sont le découpage, le dépoussiérage et le lavage ; généralement sont des traitements purement mécaniques, les post-traitements sont le séchage et la séparation des fibres. La partie d'extraction est composée de plusieurs étapes, basées principalement sur un traitement à base de soude. Ce dernier qui s'avère insuffisant est suivi d'un blanchiment appliqué sur les meilleurs échantillons obtenus après traitement à base de soude [1].



Figure 1. Tiges d'Alpha dépoussiérées



Figure 2. Tiges d'Alpha coupées



Figure 3. Extraction Soxhlet de l'Alpha



Figure 4. Traitement par la soude



Figure 5. Blanchiment par NaClO



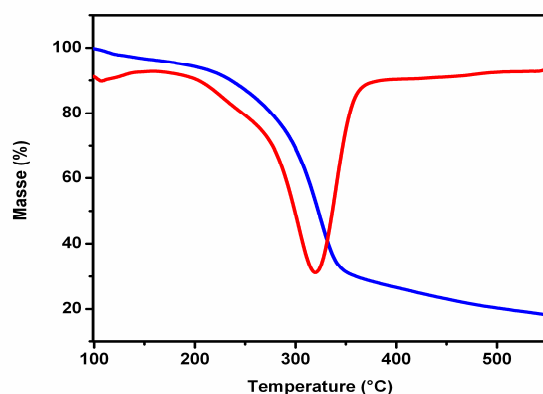
Figure 6. Produit obtenu

3. Caractérisation de la cellulose obtenue

3.1. Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique de la cellulose synthétisée est effectuée à l'aide d'une thermobalance de type Setaram MTB 10⁻⁸. En raison des différences dans la structure chimique entre l'hémicellulose, la cellulose et la lignine, ces dernières se décomposent habituellement aux différentes températures. Beaucoup d'études sont publiées concernant la décomposition des matériaux hétérocellulosiques. Par exemple, Yang a montré en 2007 par l'analyse thermique que la cellulose commence à se décomposer à température $T = 280\text{ °C}$ et persiste jusqu'à $T = 400\text{ °C}$, le taux maximum de la masse perdue est à $T = 265\text{ °C}$. A 500 °C , presque toute la cellulose était pyrolysée. La décomposition de l'hémicellulose commence à $T = 220\text{ °C}$ et continue jusqu'à 315 °C , la perte maximal de l'hémicellulose est atteinte à $T = 268\text{ °C}$.

son
se
°C



Le reste; c'est la lignine, domaine de décomposition prolonge en-dessus de 200 °C jusqu'à 700 °C [2,3].

Figure 7. Thermogramme ATG de décomposition de la cellulose obtenue à partir de l'Alpha

Le Thermogramme ATG de la cellulose obtenue est représenté sur la figure 7. La courbe s'explique par un mécanisme de dégradation impliquant deux réactions : la première, un phénomène de déshydratation correspond à une petite perte de masse (10%) à température de 100 °C à cause de l'évaporation de l'eau et autres composés provenant des procédures d'isolement. La deuxième, c'est l'étape principale de décomposition (49.90 %), qui se produit dans la gamme de 282.2 °C à 341.9 °C, elle est maximale à 323.5 °C. Dans cette zone on assiste à une dépolymérisation de la cellulose ; réduction de degré de polymérisation par coupure des liaisons glycosidiques menant à la formation du CO₂ et H₂O et d'autres dérivés d'hydrocarbures [4].

3.2. Analyse par RDX

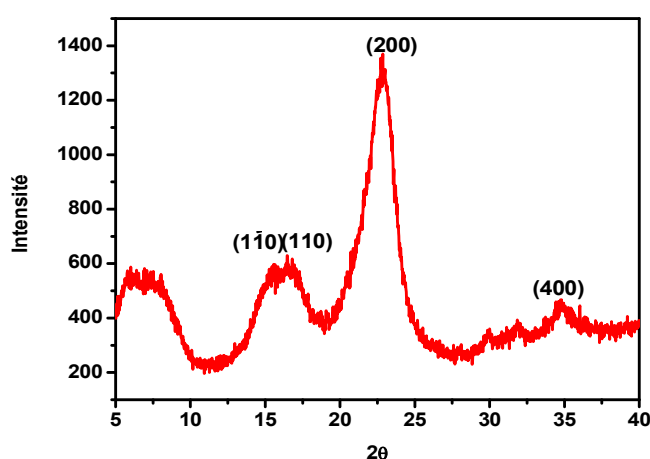
Le diffractomètre RX utilisé est de type PANALYTICAL X'PRO, qui emploie le cuivre comme anticathode. Le spectre de diffraction de la cellulose obtenue est représenté sur la figure suivante (figure 8). La formule de Deby-Scherrer, permet de déterminer le taux de cristallinité (I_c) de l'échantillon de cellulose analysée [5,6].

$$I_c(\%) = \frac{(I_{(200)} - I_{(am)})}{I_{(200)}} \cdot 100$$

Sachant que, I_{200} ($2\theta = 22.9^\circ$) est l'intensité du pic dominant, représente la zone cristalline et I_{am} ($2\theta = 18.48^\circ$) est l'intensité qui correspond à la zone amorphe comme il est indiqué sur la figure.

$$I_c(\%) = \frac{(1375.53 - 568.19)}{1375.53} \cdot 100$$

$$I_c = 59 \%$$

**Figure 8.** Spectrogramme de diffraction des rayons X de la cellulose obtenue à partir d'Alpha

3.3. Analyse par IRTF

L'échantillon de la cellulose obtenue a été caractérisé qualitativement par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, cette analyse a été réalisée sur des pastilles de cellulose dans le KBr, au moyen d'un spectromètre de type Shimadzu® 8400S, pour 100 balayages avec une résolution de 2 cm^{-1} . Le spectre infrarouge de l'échantillon de la cellulose enregistré est représenté sur la figure 9.

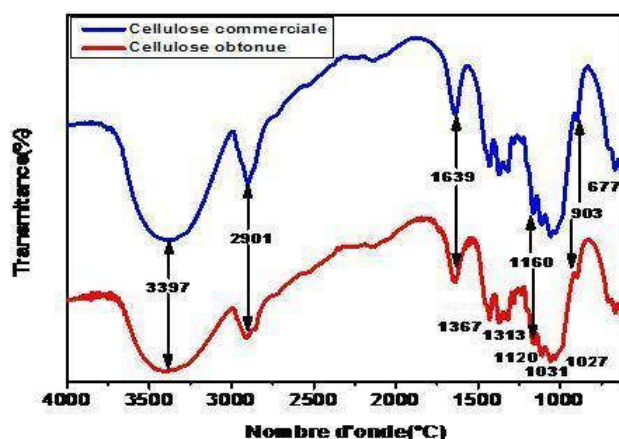


Figure 9. Spectre IRTF de la cellulose obtenue à partir d'Alpha.

Tableau 1 : Attribution des bandes principales de la cellulose obtenue à partir d'Alpha.

Nombre d'onde (cm^{-1})	Mode de vibration et attribution
677	Vibration de déformation hors du plan de (O-H).
903	Vibration de déformation de (C-H).
1027	Vibration de cycle pyranose (C-O-C).
1031	Vibration d'élongation de (C-OR).
1120	Cycle d'anhydroglucose.
1160	Vibration d'élongation asymétrique de pont (C-O-C).
1313	Vibration d'élongation du (CH_2).
1367	Vibration de déformation dans le plan de (C-H).
1639	Vibration d'élongation de (OH) de l'eau absorbée.
2901	Vibration d'élongation des liaisons (C-H) de (CHO).
3397	Vibration d'élongation des liaisons (O-H) liée (liaison hydrogène).

L'analyse IRTF met en évidence des groupements caractéristiques de la molécule de la cellulose synthétisée, et permet de confirmer son identité. En plus, la disponibilité du spectre du composé synthétisé dans les littératures [7-9] permet de confirmer du produit obtenu, tout en faisant une superposition pic par pic qui est un excellent moyen d'identification.

3.4. Caractérisation de la morphologie des fibres par MEB

La caractérisation du produit obtenu et de l'Alpha par le MEB a été effectuée à l'aide du microscope électronique à balayage. La figure 10 montre les images obtenues. L'image (a) montre la structure de la plante Alpha, on peut voir des paquets de fibres cellulose qui possèdent une forme plus au moins cylindrique. Ces fibres sont liées en parallèle entre elles dans une matrice de lignine et hémicellulose, ainsi elles sont protégées par les lipides et résine. Après le traitement chimique, la plupart des composés non cellulose sont éliminés, comme il est illustré dans l'image (b), ce qui confirme les résultats de l'analyse IRTF.

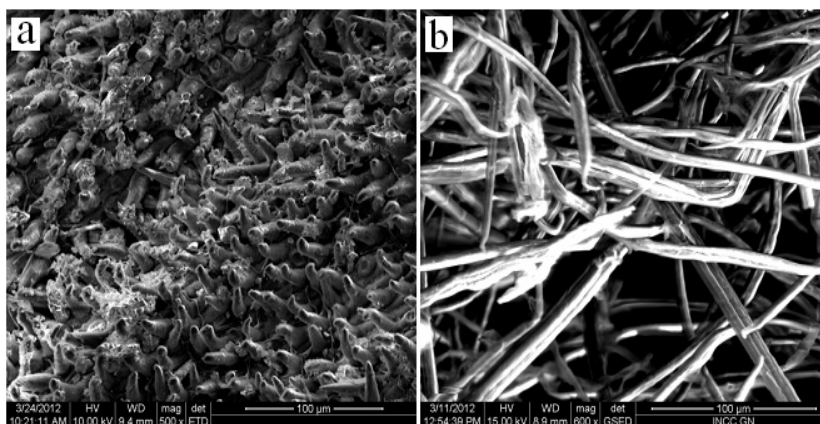


Figure 10. Images MEB (a) : Structure de la planta Alpha, (b) : Fibres de cellulose obtenues par à partir de l'Alpha.

Conclusion

L'extraction de la cellulose à partir de l'alpha est un procédé en plusieurs étapes. La structure de la tige est complexe et diffère d'une origine à l'autre, d'où la nécessité de multiples traitements consécutifs afin d'éliminer tous les composants non-cellulose.

Globalement le cycle d'extraction est composé de trois parties : les prétraitements, l'extraction elle-même et les post-traitements. La recherche lors de ce sujet concernait principalement l'extraction elle-même, avec l'objectif de trouver une cellulose qui présente le maximum de pureté. Après beaucoup d'essais dans le laboratoire, les meilleurs résultats sont obtenus avec un traitement de soude, suivi par un traitement avec l'hypochlorite de sodium.

Des techniques d'analyse performantes et complémentaires ont été mises en œuvre pour caractériser le produit obtenu et identifier sa nature. L'utilisation de l'ATG a permis de déterminer les températures de dégradation de la cellulose obtenue. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de la littérature.

En effet, il apparaît clairement que l'utilisation de l'analyse IRTF, a permis de mettre en évidence la présence des différentes bandes d'absorption caractéristiques de la cellulose

commerciale. Les images obtenues par la microscopie électronique à balayage permettent de donner aussi une idée sur la morphologie de la cellulose synthétisée à partir de l'Alpha.

Références

- [1] H. Nadji , P. N. Diouf , A. Benaboura , Y. Bedard , B. Riedl , T. Stevanovic, Comparative study of lignins isolated from Alfa grass (*Stipa tenacissima* L.), *Bioresource Technology* 100, 3585–3592, 2009.
- [2] M. J. Antal, Jr, G. Varhegyi, E. Jakab, Cellulose Pyrolysis Kinetics: Revisited, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 37, 1267-1275, 1998.
- [3] M. Poletto, V. Pistor, M. Zeni, A. J. Zattera, Crystalline properties and decomposition kinetics of cellulose fibers in wood pulp obtained by two pulping processes, *Polymer Degradation and Stability* xxx, 1-7, 2011.
- [4] G. R. Filho, D. S. Monteiro, C. S. Meireles, R. M. Nascimento de Assunção, D. A. Cerqueira, H. S. Barud, Sidney J.L. Ribeiro, Y Messadeq. Synthesis and characterization of cellulose acetate produced from recycled newspaper. *Carbohydrate Polymers* 73 (74–82), 2008.
- [5] E. M. Teixeira, A. C. Corrêa, A. Manzoli, F .L. Leite, C. R. Oliveira, L. H. C. Mattoso, Cellulose nanofibers from white and naturally colored cotton fibers, *Cellulose*, 17:595–606, 2010.
- [6] B. M. Leyva, F. R. Felix, P.T. Chavez, B. R.Wong, J. L-Cervantes, D. S. Machado, Preparation and Characterization of Durum Wheat (*Triticum durum*) Straw Cellulose Nanofibers by Electrosin, *J. Agric. Food Chem.*, Vol. XXX, 1-6, 2010.
- [7] B. Xiaoa, X.F. Sun, RunCang Sun, Chemical, structural, and thermal characterizations of alkali soluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw, and rice straw, *Polymer Degradation and Stability* 74, 307–319, 2001.
- [8] F. Yan, D. Krishniah, M. Rajin, A. Bono, Cellulose extraction from palm kernel cake using liquid phase oxidation, *Journal of Engineering Science and Technology* Vol. 4, No. 1, 57 – 68, 2009.
- [9] O. Brendel, P. P. M. Iannetta and D. Stewart, A Rapid and Simple Method to Isolate Pure Alpha-Cellulose, *Phytochem. Anal.* 11, 7–10, 2000.

P14. Potentialités des parasitoïdes primaires des pucerons des agrumes dans la région de Mostaganem – Algérie-

Zine Eddine Labdaoui et Yamina Guenaoui

Département d'Agronomie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
Email : zineddine.labdaoui@univ-mosta.dz

Résumé

En Algérie, l'agrumiculture est soumise à plusieurs problèmes phytosanitaires dus au vieillissement des vergers, à la sécheresse, aux mauvaises pratiques culturales et attaques des bio-agresseurs dont les insectes sont les plus nombreux. Parmi ces derniers, les pucerons sont redoutables pour deux raisons : - d'une part à cause de leur action spoliatrice et d'autre part pour leur capacité de transmission des maladies virales comme le virus de la *Tristeza*

responsable du déclin des vergers. Ce travail a été mené durant le printemps 2016 dans deux vergers d'agrumes, l'un situé à Sirat (site A) l'autre à Mazaghran (site B) dans la Wilaya de Mostaganem. Le suivi de la dynamique des populations des espèces de pucerons inféodés aux *Citrus* a permis d'établir un inventaire de la faune auxiliaire (parasitoïdes) associée aux pucerons. Les seules espèces aphidiennes recensées sont : *Aphis spiraecola* Patch, *Aphis gossypii* Glover et *Toxoptera aurantii*. Boyer de Fonscolombe (Hemiptera: Aphididae). *A.spiraecola* est le plus fréquent et le plus dominant durant toute la première poussée de sève.

Le taux de parasitisme n'a pas dépassé 0,76% dans le site A qui subit fréquemment des traitements chimiques tandis que dans le site B sans traitement atteint 2,66%. *Lysiphlebus testaceipes* Cresson, et *Binodoxysangelicae* Haliday (Hymenoptera: Braconidae : Aphidiinae) sont les principales espèces de parasitoïdes primaires trouvées. Malgré l'absence de traitement chimique, le taux de parasitisme est resté très insuffisant pour limiter les pullulations du ravageur. La part du parasitisme attribuée aux parasitoïdes secondaires varie de 20 à 30%.

Ce travail permet d'évaluer la situation des agrumes à travers la région et les potentialités des entomophages autochtones notamment les parasitoïdes. En fonction de chaque mode de culture, une solution adaptée doit être entreprise dans le cadre d'une lutte intégrée.

Mots clés : Agrumes, pucerons, parasitoïdes primaires, parasitoïdes secondaires, lutte intégrée

Introduction

En Algérie, les agrumes occupent une superficie totale de 66017 Ha (MADRP, 2014). Il existe 3 zones de production importantes situées dans le nord du pays, la région ouest couvre 24392 (ha) (MADRP, 2014).

Cette culture est soumise à plusieurs problèmes phytosanitaires dont les insectes sont les plus importants. Parmi les insectes piqueurs-suceurs, les pucerons sont considérés comme les ravageurs les plus redoutables car en plus de la spoliation des jeunes feuilles, ils peuvent être vecteurs de virus dont celui de la *Tristeza* considéré comme le plus dangereux pour les agrumes. Les premiers travaux réalisés sur les pucerons des *Citrus* en Algérie remontent à 1985 (Aroun, 1985), mais les recherches sur l'impact de leurs ennemis naturels et en particulier les parasitoïdes restent très limités (Benoufella-Kitous et al. 2014 ; Chehma et Laamari, 2014; Labdaoui et Guenaoui, 2015 ; Lebbal et Laamari, 2016) et parfois contradictoires.

Plusieurs espèces de pucerons infestent les agrumes. Au moins 20 espèces de pucerons ont été recensées à travers le monde (Szentkiralyi, 2001; Uygun and al. 2012), mais seulement un nombre limité compris entre 4 et 9 espèces selon les pays sont économiquement importantes. Par exemple, Il y a 7 en Turquie (Satar et al., 2014), en Tunisie (Boukhris et al., 1996), au Maroc (Sekkat, 2008), en Espagne (Jacas et al., 2010) et 9 en Grèce (Kavallieratos et Lykouressis, 1999). En Algérie, on a recensé 4 espèces à l'ouest (Labdaoui et Guenaoui,

2015) et au centre (Benoufella-Kitous et *al.* 2014) et 6 à l'est (Lebbal et Laamari, 2016) avec un total de 8 espèces dont *A. spiraecola*, *A. gossypii* et *A. craccivora* sont identifiées dans les 3 régions.

Généralement, ces pucerons colonisent les jeunes feuilles des trois poussées de sève de l'année, mais les dégâts sont plus importants sur la première poussée de sève (Hermoso de Mandoza et *al.* 2001, 2006 ; Gomez Marco, 2015). Pour lutter contre ces ravageurs, la lutte intégrée est la plus préconisée. Elle est utilisée par les agrumiculteurs européens du Bassin méditerranéen avec un intérêt grandissant pour la production biologique (Stary et *al.* 1988; Jacas et Urbaneja, 2010; Gómez-Marco et *al.* 2016). En Algérie les agrumiculteurs utilisent exclusivement la lutte chimique sans tenir compte des ennemis naturels des pucerons à l'instar de plusieurs exploitations à Mostaganem que nous avons visité.

Matériel et méthodes

Sites d'étude : Le travail a été mené au printemps durant la première poussée de 2016 dans deux vergers d'agrumes situés à Mazaghran (35°53' 30.49"N - 0° 5'7.94"E, 1.12 ha) et à Sirat (35°43' 34.8"N 0°12' 25.5"E, 2.10 ha) dans la région de Mostaganem désignés respectivement par site A et B. La méthode d'irrigation gravitaire est utilisée dans les deux vergers.

Méthode d'échantillonnage : Pour chaque site d'étude, cent jeunes feuilles (10 par arbre) ont été récoltées au hasard hebdomadairement. Chaque échantillon a été placé séparément dans une boîte en plastique et rapporté au laboratoire.

Le complexe aphidien

Les pucerons récoltés ont été observés sous loupe binoculaire et identifiés grâce à des clés d'identification (Hullé et *al.* 1998; Leclant, 2000).

Evaluation du parasitisme

Toutes les momies ont été récupérées délicatement et placées individuellement dans des gélules transparentes. Les parasitoïdes primaires et secondaires émergés sont immédiatement placés avec leurs pucerons dans l'éthanol 95% et conservés à 4°C. Le pourcentage du parasitisme a été estimé en calculant le nombre de momies par rapport au nombre de pucerons total. Les parasitoïdes ont été observés et morphologiquement identifiés en utilisant plusieurs clés (Kavallieratos et *al.* 2005; Rakhshani et *al.* 2012, 2015; Tomanović et *al.* 2012; Stary et *al.* 2014; Petrović et *al.* 2015). En cas de doute nous avons fait appel à d'autres spécialistes de France ou Italie pour une confirmation.

Résultats et discussion :

Les seules espèces de pucerons qui ont été observées sont : *A. spiraecola*, *A. gossypii* et *T. aurantii*. Cette dernière espèce n'a été trouvée que dans le site A.

A. spiraecola est le puceron le plus fréquent et le plus dominant depuis le début de l'échantillonnage. Nous avons enregistré une moyenne maximale d'environ 79 pucerons par feuille dans le site A et 145 pucerons par feuille dans le site B (Fig.1 et 2). En attaquant les jeunes feuilles, ce puceron provoque leur enroulement. En Espagne, il est le plus abondant surtout sur clémentiniers (Hermoso de Mendoza et al., 2006 ; Gomez Marco, 2015). Son abondance plus élevée que *A. gossypii* semble être due à la forte concentration en proline dans les jeunes feuilles des clémentiniers (Mostefaoui et al., 2014), mais d'après Verbruggen et Hermans (2008), l'accumulation de la proline est une réponse physiologique chez de nombreuses plantes après avoir subies un stress biotique ou abiotique.

Le parasitisme est très faible comparativement à la densité des pucerons car il n'a pas dépassé 2,66 % durant la 3^{ème} semaine de mai dans le site A et 0,76% pendant la dernière semaine d'avril dans le site B. *A. spiraecola* est l'espèce la plus parasitée vu son abondance (Fig.3 et 4). En 2014 et 2015 dans la région de Mostaganem, 6 parasitoïdes primaires ont été récoltés il s'agit de : *Lysiphlebus fabarum* (Marshall), *Lysiphlebus confusus* (Trembley and Eady), *Lysiphlebus testaceipes* Cresson, *Aphidius colemani* Viereck, *Aphidius matricariae* Haliday an *Binodoxys angelicae* Haliday (Labdaoui et Guenaoui, 2015), mais en 2016, seulement *L. testaceipes* et *B. angelicae* ont été trouvés sur les trois espèces.

C'est probablement le taux d'hyperparasitisme évalué à 18% dans le site A et à 30 % dans le site B (Fig.5 et 6) qui a influé négativement sur les parasitoïdes primaires. Il est bien noté que l'hyperparasitisme perturbe la lutte biologique et peut-être le facteur majeur de la mortalité des parasitoïdes primaires (Sullivan et Völkl, 1999; Rosenheim, 1998). En Espagne, la diversification du complexe hyperparasitaire et sa présence dès la formation des colonies d'*A. spiraecola* est la cause de la faiblesse de *B. angelicae* qui est le parasitoïde primaire le plus dominant (Gomez Marco et al., 2015).

De plus, le rôle des fourmis n'est pas à négliger, car celle-ci, en protégeant les pucerons, contribuent à perturber le comportement de leurs antagonistes (Völkl, 1992 ; Hübner et Völk, 1995).

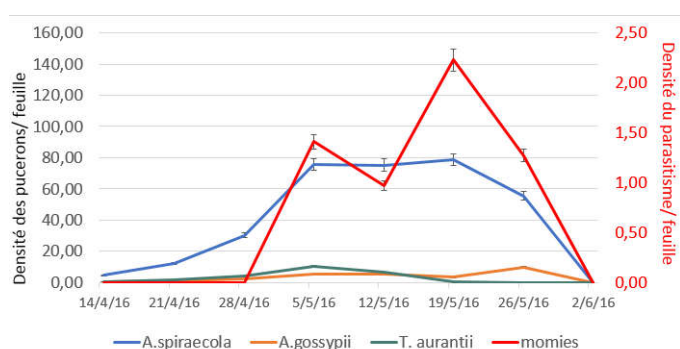


Fig.1 : Densité des pucerons et parasitisme par feuille dans le site A.

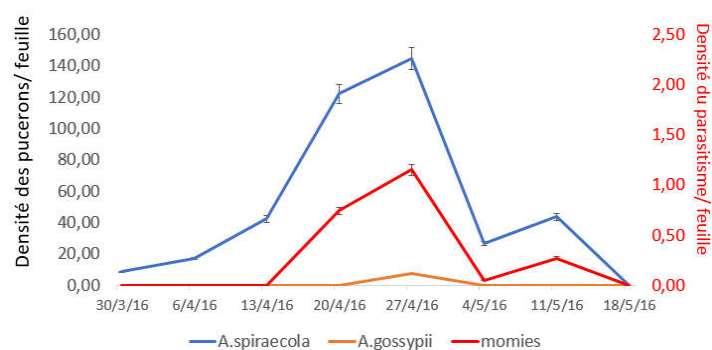


Fig.2 : Densité des pucerons et

parasitisme par feuille dans le site B.

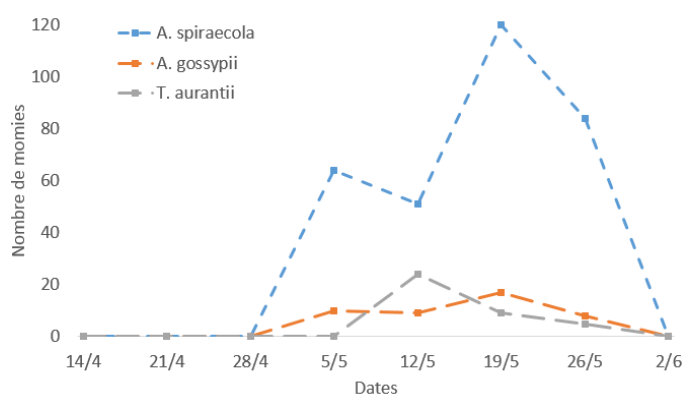


Fig.3 : Nombre de momies par espèce de pucerons à Mazaghran

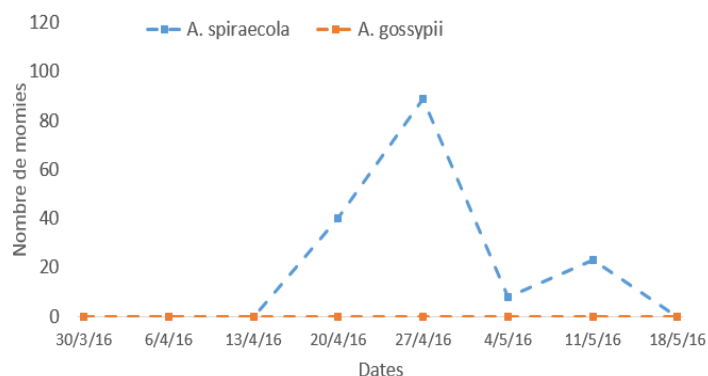


Fig.4 : Nombre de momies par espèce de pucerons à Sirat

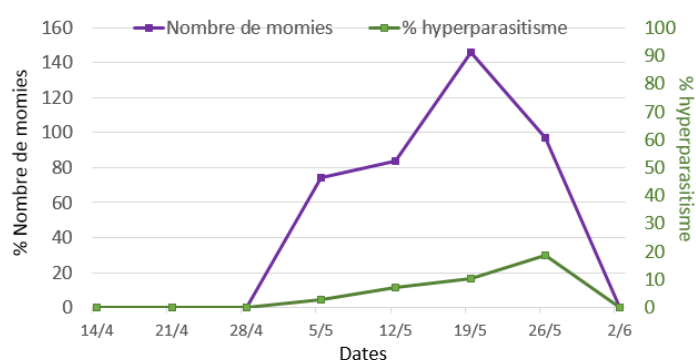


Fig.5: Taux d'hyperparasitisme par rapport au nombre de momies à Mazaghran

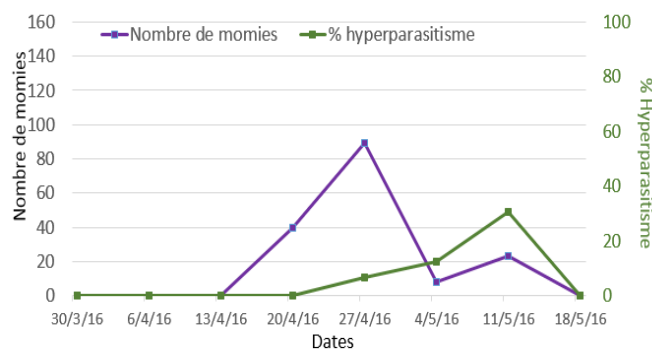


Fig.6 : Taux d'hyperparasitisme par rapport au nombre de momies à Sirat

En conclusion, les pucerons représentent un problème majeur pour l'agrumiculture. A Mostaganem, 3 espèces sont dominantes : *A. spiraecola*, *A. gossypii* et *T. aurantii*. Dans le cadre d'une lutte biologique, deux espèces de parasitoïdes primaires ont été recensées durant la période de la première poussée de sève, il s'agit de : *L. testaceipes* et *B. angelicae*, mais leur efficacité vis-à-vis des pucerons reste insuffisante à cause de l'hyperparasitisme et le rôle des fourmis. D'autres recherches sont nécessaires pour recenser d'autres espèces de

parasitoïdes primaires en absence de traitements chimiques et déterminer les facteurs influant sur la colonisation et l'abondance des pucerons sur agrumes. Nous devons aussi évaluer le rôle de la végétation spontanée dans les vergers sur la biodiversité des ennemis naturels associés aux pucerons.

Références bibliographiques

- 1) Aroun M.E.F, (1985). Les aphides et leurs ennemis naturels en vergers d'agrumes de la Metidja (Algérie). (Thèse de Magister). *Institut National Agronomique d'El Harach, Alger*.
- 2) Benoufella-Kitous K., Doumandji S. et Hance T., 2014. Inventaire des aphides et de leurs ennemis naturels dans un verger d'agrumes. AFPP- *Dixième conférence internationale sur les ravageurs en agriculture* Montpellier- 22 et 23 Octobre 2014. 10p.
- 3) Boukhris, S., Jerraya, A. et Boudhir, H. 1996. Etude préliminaire sur la présence des espèces aphidiennes en verger d'agrumes (Cap bon, Tunisie). *Ann. INRAT* 69 : 55-72.
- 4) Chehma S. et Laamari M., (2014). Etude bioécologique des hyménoptères parasitoïdes des pucerons associés au milieu naturel et cultivé dans la région de Ghardaïa. *Revue des BioRessources*. 62-75.
- 5) Gomez Marco F. (2015). Integrated Pest Management of *Aphis spiraecola* (Hemiptera: Aphididae) in clementines: enhancing its biological control. *Thèse de Doctorat. Université Polytechnique de Valence* (Espagne). 202p
- 6) Gómez-Marco, F., Urbaneja, A., Jaques, J. A., Rugman-Jones, P. F., Stouthamer, R., & Tena, A. (2015). Untangling the aphid-parasitoid food web in citrus: Can hyperparasitoids disrupt biological control?. *Biological Control*, 81, 111-121.
- 7) Gómez-Marco F., Urbaneja, A. et Tena A. (2016). A sown grass cover enriched with wild forb plants improves the biological control of aphids in citrus. *Basic and Applied Ecology*, 17(3), 210-219.
- 8) Hermoso de mendoza A., Belliure B., Carbonell E. A., et Real V. (2001). Economic thresholds for *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) on Citrus clementina. *Journal of economic entomology*, 94(2), 439-444.
- 9) Hermoso De Mendoza A., Arouni R., Belliure B., Carbonell E. A. et Pérez-Panadés J. (2006). Intervention thresholds for *Aphis spiraecola* (Hemiptera: Aphididae) on Citrus clementina. *Journal of economic entomology*, 99(4), 1273-1279.
- 10) Hullé M., Turpeau E., Leclant F., Rahn M.J. (1998). Les pucerons des arbres fruitiers. *Acta Intra France*. 80p.
- 11) Hübner, G., & Völkl, W. (1996). Behavioral strategies of aphid hyperparasitoids to escape aggression by honeydew-collecting ants. *Journal of Insect Behavior*, 9(1), 143-157.
- 12) Jacas J. A. et Urbaneja A. (2010). Biological control in citrus in Spain: from classical to conservation biological control. In *Integrated management of arthropod pests and insect borne diseases* (pp. 61-72). Springer Netherlands.
- 13) Jacas J. A., Karamaouna F., Vercher R. et Zappala L. (2010). Citrus pest management in the northern mediterranean Basin (Spain, Italy and Greece) . In: Ciancio A, Mukerji K.G. (eds.), *Integrated Management of Arthropod Pests and Insect Borne Diseases, Integrated Management of Plant Pests and Diseases* 5, 3-28

- 14) Kavallieratos, N., & Lykouressis, D. (1999). Parasitoids (Hymenoptera Braconidae) emerged from aphids (Homoptera Aphidoidea) on *Citrus* and their frequency in Greece. *Bollettino-laboratorio Di Entomologia Agraria Filippo Silvestri Portici*, 55, 93-104.
- 15) Kavallieratos, N. G., Tomanović, Ž., Athanassiou, C. G., Starý, P., Žikić, V., Sarlis, G. P., & Fasseas, C. (2005). Aphid parasitoids infesting cotton, citrus, tobacco, and cereal crops in southeastern Europe: aphid-plant associations and keys. *The Canadian Entomologist*, 137(05), 516-531.
- 16) Labdaoui et Guenaoui, (2015). The aphids infesting *Citrus* orchards and their natural enemies in the Northwestern Algéria. *Sixth International Scientific Agricultural Symposium „Agrosym 2015“*. 787-792
- 17) Leclant F. (2000). Les pucerons des plantes cultivées. Tome 3 : Cultures fruitières. *Acta Inra*. 128p.
- 18) Lebbal et Laamari (2016). Population dynamics of aphids (Aphididae) on orange (*Citrus sinensis* ‘Thomson Navel’) and mandarin (*Citrus reticulata* ‘Blanco’). *Acta agriculturae Slovenica*.137-147.
- 19) MADRP, (2014). Statistiques du ministère de l’agriculture et du développement durable et de la pêche.
- 20) Mostfaoui H., L. Allal-Benfekih, Z.E Djazouli , D. Petit, G. Saladin (2014). Why the Aphid *Aphis spiraecola* is more abundant on clementine tree than *Aphis gossypii*? *C.R.Biologies* (337), 123-133.
- 21) Petrović, A., Mitrović, M., Ivanović, A., Žikić, V., Kavallieratos, N. G., Starý, P., Bogdanović A.M., Tomanović Ž. et Vorburger, C. (2015). Genetic and morphological variation in sexual and asexual parasitoids of the genus *Lysiphlebus*—an apparent link between wing shape and reproductive mode. *BMC evolutionary biology*, 15(1), 5.
- 22) Rakhshani E., Kazemzadeh S., Starý P., Barahoei H., Kavallieratos N. G., Četković A., Popović A., Bodlah I, et Tomanović, Ž. (2012). Parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) of northeastern Iran: Aphidiine-aphid-plant associations, key and description of a new species. *Journal of Insect Science*, 12(143), 1-26.
- 23) Rakhshani, E., STARÝ, P., TOMANOVIĆ, Ž., & Mifsud, D. (2015). Aphidiinae (Hymenoptera, Braconidae) aphid parasitoids of Malta: review and key to species. *Bulletin of the entomological Society of malta*, 7, 121-137
- 24) Rosenheim, J.A., 1998. Higher-order predators and the regulation of insect herbivorepopulations. *Annu. Rev. Entomol.* 43, 421–447.
- 25) Satar S, Satar G, Karacaoğlu M, Uygun N, Kavallieratos NG, Starý P, Athanassiou CG., (2014). Parasitoids and hyperparasitoids (Hymenoptera) on aphids (Hemiptera) infesting citrus in east Mediterranean region of Turkey. *J Insect Sci* 1;14:178. 1-6
- 26) Sekkat, A. (2008). Les pucerons des agrumes au Maroc. In: *Proceeding du Symposium Mediterranéen sur la Protection Phytosanitaire des Agrumes* (Rabat, Maroc), pp. 131-145.
- 27) Starý, P., Lyon, J. P., & Leclant, F. (1988). Biocontrol of aphids by the introduced *Lysiphlebus testaceipes* (Cress.)(Hym., Aphidiidae) in Mediterranean France. *Journal of Applied Entomology*, 105(1□5), 74-87.
- 28) Starý, P., Kavallieratos, N. G., Petrović, A., Žikić, V., Rakhshani, E., Tomanović, S., Tomanović Ž. et Havelka, J. (2014). Interference of field evidence, morphology, and DNA

- analyses of three related *Lysiphlebus* aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *Journal of Insect Science*, 14(171), 1-6.
- 29) Sullivan, D.J., Völkl, W., 1999. Hyperparasitism: multitrophic ecology and behavior. *Annu. Rev. Entomol.* 44, 27.
- 30) Szentkirályi, F. (2001). *Lacewings in fruit and nut crops* (pp. 172-238). In P. K. McEwen, T. R. New, & A. E. Whittington (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge.
- 31) Tomanović Ž., Starý P., Kavallieratos N. G., Gagić V., Plečas M., Janković M., Rakhshani E., Četković A. et Petrović, A. (2012) .Aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) in wetland habitats in western Palaearctic: key and associated aphid parasitoid guilds. In *Annales de la Societe Entomologique de France* Taylor & Francis Group. 189-198
- 32) Uygun, N., A. Hermoso de Mendoza, and H. Bas_pinar. 2012. Aphididae. In V. Vacante and U. Gerson (eds.), Integrated control of citruspests in the Mediterranean region. *Bentham eBooks, Bussum*. pp. 126–136.
- 33) Verbruggen N. et Hermans C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*. 753-759.
- 34) Völkl, W., 1992. Aphids or their parasitoids, who actually benefits from antattendance? *J. Anim. Ecol.* 61, 273–281.

P15. Etude de l'adaptation et des rendements de quelques variétés locales de céréales dans la wilaya de Tlemcen (Ouest Algérie).

M. BENDI DJELLOUL^{1, 2*}, L. MOSTEFA KARA³, S.M. AMRANI¹, B. GHEZLAOU¹

¹Laboratoire de l'écologie et de la gestion des écosystèmes naturels, Université Abou Bekr Belkaïd, BP119 Tlemcen, Algérie.

²Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la Terre et de l'Univers. Département des sciences de l'agronomie, Université Abou Bekr Belkaïd, BP119 Tlemcen, Algérie

³Coopérative Des Céréales & Légumes Secs, CCLS Tlemcen, Algérie.

*Mounsif BENDI DJELLOUL : e-mail: charaf-gh@hotmail.fr, mobile: 07 96 24 90 78.

Résumé:

Notre travail à un double objectif, le premier porte sur l'étude de l'évolution de la production de semences de céréales dans la wilaya de Tlemcen ; le deuxième est l'étude des variétés de céréales *WAHA*, *VITRON*, *HD 1220*, *SAIDA 183*. D'après l'étude de l'évolution de la production de semences de céréales pendant la période (1988/2014) on a remarqué que Les superficies emblavées du programme ont presque doublé à partir de 2007, la production de semences est en nette augmentation ces dernières années surtout pour le blé dur. Les résultats montrent que c'est la variété *HD1220* de blé tendre qui a la meilleure adaptation surtout pour la région de Filaoucéne avec un rendement de 55 qx/ha. La variété de blé dur *WAHA* implanté à Amieur a donné des rendements très insuffisants ; cette variété ne s'est pas adaptée aux conditions pédoclimatiques de cette région. La variété d'orge *SAIDA 183* présente une adaptation générale. Cette étude nous a permis de conclure que le déficit en semences du programme de multiplication se situe au niveau des générations de reproductions (R1, R2).

Mots clés : Céréales, Semences, Variétés, Rendement, Tlemcen.

Introduction

Produire plus de céréales est devenue une question préoccupante pour l'Algérie, dont les besoins d'une population en pleine croissance sont estimées à plus 111million de quintaux vers 2020 (Hervien *et al* ; 2006), produire plus suppose que le milieu s'y prête et que la technologie suit. Ceci n'est pas toujours le cas de l'Algérie où les grandes zones productrices de céréales se caractérisent par un climat variable et des sols dont la fertilité est décroissante (Lahmar.R et Ruellan.A ; 2007). En Algérie la production de semence céréalière reste en deçà des espérances, son système de production devrait être amélioré. C'est ce qui nous a conduits à nous intéresser à ce problème et d'établir son diagnostic dans la wilaya de Tlemcen. L'objectif de notre travail est l'étude de l'adaptation et des rendements de quelques variétés locales de céréales dans la wilaya de Tlemcen.

I. Matériels et méthodes

I.1. Présentation du matériel végétal

Les variétés utilisées par les multiplicateurs de semences de céréales dans la wilaya de Tlemcen dans les régions suivantes : Amieur, Filaoucène, Sidi abdelli et Remchi sont Waha et Vitron pour le blé dur ; HD1220 pour le blé tendre et Saida 183 pour l'orge.

I.1.1.Variété Waha :

C'est une obtention du C.I.M.M.Y.T (Mexique 1979). C'est une variété précoce de paille courte (inferieur à 100 cm). Elle présente une tolérance à la rouille brune, jaune, noir, oïdium et au piétin verse, mais elle est sensible au piétin-échaudage et les gelées printanières. Sa productivité est élevée en année normale et en cas d'absence de rouille brune (plus de 50Qx/Ha). Elle est recommandée pour les zones céréalières ou la pluviométrie annuelle moyenne est supérieure à 400 mm et aux sols profonds.

Elle est à semer en décembre, et possède une qualité semoulière assez bonne (I.T.G.C ; 2006 et C.N.C.C.S ; 2009).



Photo1. Epi de Waha

I.1.2.Variété Vitron : dénomination local : HOGGAR

C'est une obtention du C.I.M.M.Y.T (Mexique) et introduite en Algérie d'Espagne en 1986 et sélectionnée à la station expérimentale de Dahmouni (Tiaret). C'est une variété semi-précoce à paille courte (moins de 100 cm). L'épi de Vitron est blanc avec des barbes brunes noires selon les conditions de culture. Elle est résistante au froids, à la verse, au piétin verse et l'oïdium mais sensible à la sécheresse, la rouille brune et à l'helminthosporiose. Elle est recommandée pour les zones fertiles où la pluviométrie moyenne annuelle est supérieure à 400 mm. Elle est à semer en décembre, son rendement peu atteint 60 Qx/ha (I.T.G.C ; 2006 et C.N.C.C.S ;2009).



Photo 2. Epi de Vitron

I.1.3.Variété HD1220 : Dénomination local : (HIDDAB)

C'est une obtention du C.I.M.M.Y.T (Mexique 1980). Elle a été introduite en Algérie par l'I.T.G.C et sélectionné en 1984 à la station expérimentale du Khroub (Constantine). C'est une variété semi-précoce à précoce et à paille moyenne. Son épi est long, blanc, Elle est résistante à la verse au froid et la sécheresse, mais très sensible à la rouille jaune, et sensible à la rouille brune et noire et au piétin échaudage.

C'est une variété qui présente de bonnes caractéristiques technologiques pour la Panification. Elle est recommandée pour les zones sud- littoral (nord des hauts Plateaux). Le rendement optimal en graine est élevé, il atteint 60 Qx/ha, ainsi que sa force boulangère est élevé (I.T.G.C ; 2006 et C.N.C.C.S ; 2009)



Photo 3. Epi de HD 1220

I.1.4. Variété Saida 183 :

C'est une sélection dans la population locale, elle est inscrite en 1998. Elle possède un épi de six rangs de forme pyramidale ; ces barbes sont longues par rapport à l'épi.

Cette variété est résistante au froid et à la sécheresse, à l'oïdium sur l'épi et au rouille brune ; sensible aux maladies et à la verse ; elle est semi précoce. C'est une lignée pure, une variété locale produite par l'ITGC (ferme de démonstration et de production de semences de Saida). Le rendement optimal en graine et le poids de mille grains sont élevés. (Aissat. A et Sedira .H ; 2009).

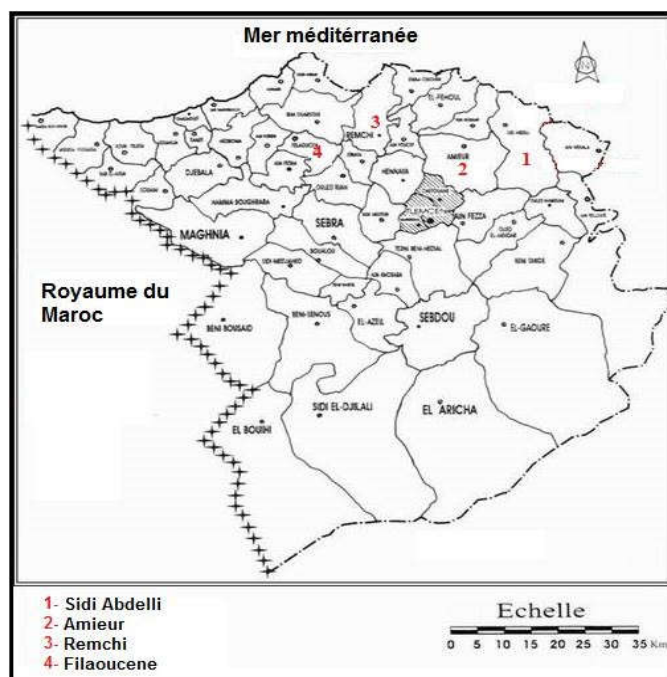
I.2. Présentation des zones d'études :(voir carten°1)

Notre étude a pour but de suivre le programme de multiplication de semences de 4 régions productrices de semences de la wilaya de Tlemcen pendant la campagne 2005-2006, qui sont :

- ✓ Sidi Abdelli au Nord Est.
- ✓ Amieur au Nord Est.
- ✓ Remchi au Nord.
- ✓ Filaoucène à l'Ouest.

Le choix de ces régions a été déterminé en fonction de leur potentialité de production et des multiplicateurs les plus performants.

L'objectif fixé est d'observer le comportement végétatif des espèces de céréales dans ces différentes zones, de suivre l'itinéraire technique utilisé par ces multiplicateurs (méthodes et moyens) et les variétés qu'ils utilisent.



Carte n° 1. Localisation des zones d'études

I.3. Répartition géographique des variétés

D'après la carte variétale, on peut étudier la répartition variétale dans les zones de multiplication de semences, qui se situent sur les plaines allant de Maghnia en Ouest jusqu'à Sidi Abdelli en Nord Est de la wilaya. Pour le blé dur nous constatons qu'il y a deux variétés, la variété Waha est cultivée surtout dans les communes suivantes : Filaoucène, Amieur et Bensekrane. La variété Vitron est localisée dans les communes de Sebra, Bensekrane, Hennaya et surtout Sidi Abdelli.

Pour le blé tendre, la seule variété en multiplication est HD1220, elle est produite dans les régions suivantes : Sebra, Filaoucène, Hennaya, Amieur et surtout Maghnia.

En ce qui concerne l'orge la variété la plus adaptée et utilisée depuis longtemps est Saida 183, sa production se localise dans les communes suivantes : Maghnia, Sebra, Hennaya, Amieur, Sidi Abdelli et Ain nehala. Enfin pour l'avoine, il n'y a pas de programme de multiplication.

I.4. Méthode du « Mètre carré »

Le plan de travail consiste à prélever des échantillons, les examiner, les apprécier, tirer des conclusions et porter les résultats selon la méthode du mètre carré qui consiste à jeter au hasard un carré de 50 cm de côté ($1/4$ de m^2) quatre fois pour chaque parcelle.

II. Résultats et discussions

Nous présentons dans ce qui suit les résultats des analyses obtenues par les prélèvements des échantillons. Les échantillons effectués peuvent apporter les appréciations suivantes sur la hauteur de tige, la hauteur de l'épi, le nombre d'épis/ m^2 , le nombre de grain/épi, le poids de 1000 grains, le poids biologique et le rendement final.

La mesure de ces caractères reflète la relation entre le milieu et la plante, les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau n° 1: Résultats des composantes du rendement des différentes variétés de céréales

Composantes de rendement Variétés	Hauteur de tige (cm)	Hauteur de l'épi (cm)	Nombre d'épi/ m^2	Nombre de grains/épi	Poids de 1000 grains(g)	Poids biologique (g)	Rendements Qx/ha
B T HD1220 Filaoucène	75.15	7.82	376	36.67	40.25	204.00	55
B D Vitron Filaoucène	71.75	5.70	230	35.82	48	183.25	39
B D Vitron Sidi abdelli	64.68	5.71	232	35.75	40.25	179.7	33
Orge Saïda 183 Sidi abdelli	62.85	6.22	142	36.45	45.50	142.25	23
B T HD 1220 Sidi abdelli	67.82	8.10	255	29.72	33.75	172.00	22
B D Waha Amieur	50.10	6.57	140	33.42	33.49	93.50	15

D'après le tableau n°1, on constate que les variétés semées à Filaoucène ont les plus hautes tiges, après viennent les variétés de Sidi abdelli et enfin celle de Amieur.

En ce qui concerne la hauteur de l'épi, les espèces et variétés sont classées en 2 groupes, le premier varie de 7 à 8 cm dont le plus haut épi est de la variété HD1220 de blé tendre à Sidi abdelli, et le deuxième varie entre 5 et 6 cm dont le plus petit épi est celui du blé dur pour la variété Vitron à Filaoucène.

Pour ce qui est du nombre d'épi/m², c'est la variété HD1220 à Filaoucène qui présente le plus nombre d'épi au m² après vient la HD1220 à Sidi abdelli.

La variété Vitron de blé dur à Sidi abdelli et Vitron à Filaoucène ont à peu près le même nombre d'épis au m².

Waha à Amieur et Saida 183 pour l'orge à Sidi abdelli présentent le même nombre d'épi au m² qui est de 35 épis, ce qui est insuffisant pour donner un bon rendement.

Les résultats du nombre de grains/ épi classent les variétés en 2 groupes, toutes les espèces et variétés ont produit un nombre de grain/épi entre (33 à 36 grains) sauf pour la variété de blé tendre HD1220 à Sidi abdelli qui a eu un nombre de grain/épi inférieur à 30.

Le poids de 1000 grains est une composante de rendement essentiel ; il est élevé pour la variété Vitron à Filaoucène et pour l'orge Saida 183 à Sidi abdelli.

Les résultats montrent que le poids de 1000 grains est le même pour blé dur Vitron à Sidi abdelli et HD1220 de blé tendre à Filaoucène (40.25 g).

En ce qui concerne la HD1220 à Sidi abdelli et Waha à Amieur leurs poids de 1000 grains varient autour de 33 g.

Pour l'orge Saida 183, malgré que le poids de 1000 grains soit de 45.50g (en deuxième position après la variété Vitron à Filaoucène) ce paramètre n'est pas suffisant pour donner un bon rendement, car les autres composantes du rendement ont donné de faibles résultats.

Il existe une interaction entre les différentes composantes du rendement. Ce pendant une composante affectée peut pénaliser le rendement final malgré les compensations qui peuvent avoir lieu et pour mieux comprendre on présente la formule du rendement.

$$\text{Rendement} = \frac{\text{nombre d'épis / m}^2 \times \text{nombre de grains / épi} \times \text{poids de 1000 grains}}{(\text{g/m}^2) 1000}$$

$$(q \times /ha) = \underline{\underline{\text{rendement(g/m}^2) 10}}$$

Le poids biologique ou le rendement biologique est le rendement effectif au niveau de la parcelle et qui peut être exprimé en première analyse sous la forme d'une fonction d'adaptation du génotype à son milieu, cette fonction étant caractérisé par des variables liées aux contraintes de l'environnement et des paramètres d'adaptation liés au génotype tels que les paramètres phénologiques d'adaptation et les paramètres morpho-physiologiques d'adaptation (Monneveux.P ; 1991).

La variété qui a le plus grand poids biologique présente le meilleur rendement. En effet, on constate une corrélation entre le poids biologique et le rendement à l'hectare. La variété de blé tendre HD1220 à Filaoucène a le rendement le plus élevé, en suite Vitron à Filaoucène en deuxième position ; enfin viennent les variétés à Sidi abdelli (blé dur Vitron(33qx/ha), orge Saida 183 (23 qx/ha) et HD1220 pour blé tendre 22qx/ha).

La variété Waha à Amieur a le rendement le plus faible (15 qx/ha) de l'ensemble des autres variétés. Il est important de noter que c'est une variété ancienne très recommandé dans notre pays, elle est résistante et possède une bonne qualité semoulière, s'adapte bien dans les zones céréalières où la pluviométrie annuelle moyenne est supérieure à 400 mm et aux sols profonds.

Théoriquement elle peut donner un rendement de 50 qx/ha. Cette variété n'a pas donné les résultats attendus dans notre étude ; certainement elle ne s'est pas adaptée aux conditions bioclimatiques de la région d'Amieur. Le rendement qu'a donné Waha est de 15 qx/ha ce qui reste vraiment insignifiant à cause de la sécheresse constatée pour la campagne 2005/2006. La variété Waha présente une bonne adaptation sur les sols calcaires, ce type de sol est dominant en Algérie, ce qui fait de cette variété une souche vivement recommandée.

En ce qui concerne la deuxième sortie effectuée sur terrain au moment de l'épiaison (19/04/2006), on a constaté que les parcelles étaient envahies de mauvaises herbes telles que la folle avoine, le brome et le coquelicot, en plus des dégâts dus aux attaques de vers blancs et aussi au mélange observé avec du blé tendre (Mahon Demias).

Les faibles rendements de cette variété Waha revient très probablement d'un côté au non respect de l'itinéraire technique par le multiplicateur en plus de l'effet de la sécheresse sur cette culture. D'après les constatations effectuées sur terrain lors de la 2^{ème} sortie, les parcelles visitées présentent 70% de plantes desséchées et 60% de feuilles enroulées.

Il est important à rappeler que Waha est une variété à paille courte, la hauteur de la plante apparait comme un critère de sélection important particulièrement pour l'adaptation et l'amélioration des rendements. Meziani et al (1992) considèrent que la recherche de la tolérance à la sécheresse passe par l'augmentation de la hauteur de la paille.

Les variétés à paille haute ont une meilleur adaptation au déficit hydrique (Benabdallah et Bensalem 1993) car dans ces conditions ils ont l'aptitude à remplir un grain qui est lié chez un génotype donné, aux quantités d'assimilat stockés dans la tige et en particulier au niveau du col de l'épi, et à la capacité de remobiliser ces réserves (Blum, 1988) ; la taille élevée du chaume est souvent associée à un système racinaire profond et donc à une meilleur extraction de l'eau du sol. Il aurait été préférable de tester cette variété au niveau de

plusieurs régions de la wilaya pour avoir une idée sur son potentiel de rendement. La variété de blé dur Vitron a donné des résultats moyens 39 qx/ha et 33 qx/ha respectivement sur Filaoucène et Sidi abdelli. Elle a donné deux fois plus que Waha à Amieur.

Ces deux régions n'étaient pas touchées par une forte sécheresse d'après les constatations faites lors de la deuxième sortie sur terrain au moment de l'épiaison. Cette variété Vitron n'a pas trouvé toutes les conditions favorables pour exprimer son potentiel de production pour atteindre l'objectif fixé de 60 qx/ha ; d'autant plus qu'elle exige des sols fertiles (Belletrech. A ; 2001). D'après les travaux de Belletrech .A, sur d'autres variétés de blé dur : Ouersenis et Shen's qui donnent de bons rendements ; ces variétés sont plus tolérantes au froid et à la sécheresse. Elles ont une bonne qualité semoulière surtout pour Ouersenis.

Cette dernière est la variété la plus productives et la plus adaptée aux régions chaudes concernant les critères de productions. Ces deux variétés Ouersenis et Shen's sont moins répandues par rapport aux variétés étudiées (Waha, Vitron). Les agriculteurs, par habitudes préfèrent Waha et Vitron et ne prennent pas de risques pour les nouvelles variétés. Pour cela, on propose des parcelles d'essais qui testent le comportement de ces nouvelles variétés par rapport aux conditions pédoclimatiques de la région du multiplicateur. En plus les semences de ces variétés ne sont pas disponibles en quantité suffisantes au niveau de la CCLS, car la demande en semences est négligeable, ce qui explique que ces deux variétés sont moins utilisées au niveau de la wilaya de Tlemcen.

En ce qui concerne les variétés de blé tendre, les multiplicateurs ont utilisé la variété HD1220 aussi bien à Filaoucène qu'à Sidi Abdelli, nous avons remarqué que cette variété est la plus emblavée dans la wilaya. HD 1220 a donné de très bons résultats à Filaoucène (55qx/ha) proche des rendements théoriques alors qu'à sidi Abdelli, le rendement est de 22qx/ha. Ceci démontre qu'elle n'a pas exprimé son potentiel de production, certainement les conditions du microclimat dans laquelle se trouve la parcelle ne sont pas assez favorables. L'orge Saida 183 reste encore la seule variété utilisé sur l'ouest du pays, les résultats obtenus à Sidi abdelli sont assez bon au vu des rendements habituellement enregistré dans la wilaya de Tlemcen

La culture de l'orge est sous diverses conditions qui sont, dans la plupart des cas contraignantes et où d'autres cultures ne sont pas adaptées, elle occupe les parcelles où il est difficile de pratiquer la culture des blés, suite à la faible fertilité des sols et à la variation du climat dont notamment une faible pluviométrie sous de telles conditions de production, la tolérance des stress abiotiques aussi bien que biotiques prend tout son sens (Kadi. z ; 2012).

L'étude réalisée a pour but de faire un diagnostic sur la production de semences de céréales de multiplication dans la wilaya de Tlemcen.

L'objectif principal est de mettre à la veille de chaque campagne labours-semailles les quantités de semences suffisantes dites « sélectionnées » à la disposition de tous les agriculteurs de la wilaya. Cela veut dire des semences pures, calibrées, propres et surtout traitées aux fongicides pour éliminer les maladies.

Pour ce faire un programme de multiplication de semences doit être mis en place pour répondre à cet objectif. Il doit être bien étudié et pris en charge correctement par toutes les parties concernées : chercheurs, techniciens, agriculteurs et structures de conditionnement et de stockage.

Ce programme doit être mené avec un suivi rigoureux afin que les différentes tâches de l'itinéraire technique puissent être appliquées scrupuleusement. L'irrigation d'appoint doit être élargie au maximum lorsque les potentialités hydriques existent afin d'éviter les rendements dérisoires en dent de scie qui sont responsables des cassures du programme donc indisponibilité de la semence répondant aux qualités requises.

À travers l'étude que nous avons menée, nous notons avec beaucoup d'optimisme la relance et un meilleur suivi technique de ce programme. Les superficies emblavées du programme ont presque doublé à partir de 2007, la production de semences est en nette augmentation ces dernières années. Les rendements moyens des blés sont passés de 12 à 17 qx/ha.

Le nombre de variétés mis à la disposition des agriculteurs est passé de 3 à 6. Il faudrait que ces variétés soient bien vulgarisées pour que leur adaptation réponde aux différents type de sol, zones micro- climats etc....

Il faudrait qu'on arrive à ce que chaque « terroir » ait des variétés bien adaptées à son milieu et ne plus utiliser deux variétés généralisées à toutes les zones agro-climatiques de la wilaya voir à travers plusieurs régions. La réorientation des programmes par espèce est bien évidente à travers notre étude. Les superficies consacrées aux blés nobles (blé dur et blé tendre) sont beaucoup plus importantes (surtout les blés durs) pour répondre aux besoins de la population toujours croissantes et diminuer sensiblement les recours massifs à l'importation.

Conclusion et perspectives

Notre étude a montré que les résultats obtenus sur le terrain sont encourageants sur le plan de la dynamique (courbe ascendante) mais beaucoup d'efforts doivent être fournis pour que ces résultats atteignent un niveau de production acceptable, des rendements moyens au moins de 25 à 30 qx/ha avec une stabilité d'une année à l'autre.

L'état doit fournir plus d'effort pour aider les agriculteurs et leur offrir une assistance technique pour atteindre ces objectifs

- Crédit de campagne à tous les agriculteurs pour les différents intrants

(engrais, herbicides, motoculteurs, irrigation etc.....).

- Prix à la production attractifs des blés (niveau du cours mondial des blés).
- Primes de sélection pour les multiplicateurs de semences céréalières.
- Mise en place de différentes assurances pour les prémunir des effets de sécheresse et calamités naturelles.

Nous pensons que tout agriculteur céréalière doit bannir de ses réflexes, d'utiliser des semences à partir de sa propre production. Il doit recourir aux semences dans le processus de développement de la céréaliculture.

La qualité de la semence (sélectionnée) est responsable à elle seule de 50% de la production attendue.

L'étude comparative de l'adaptation de quelques variétés semées par les multiplicateurs à leurs zones d'étude (Waha et Vitron pour le blé dur, HD 1220 pour le blé tendre et Saida 183 pour l'orge) nous a permis de tirer les conclusions suivantes :

- La comparaison entre les différentes variétés nous montrent que c'est la variété HD 1220 de blé tendre qui a une meilleure adaptation surtout pour la région de filaloucéne avec un rendement proche de celui de la théorie qui est de 55 qx/ha. Cette dernière est la variété la plus productive et la plus adaptée.
- Pour les blés durs, les variétés utilisées pour les régions d'étude sont Waha et Vitron, ces deux variétés restent très appréciées par les agriculteurs ; malgré que les résultats enregistrés par ces variétés pour cette campagne sont moyens, car les agriculteurs sont toujours réticents à l'introduction de nouvelles variétés.

La variété Waha implantée à Amieur a donné des rendements très insuffisants pour cette campagne alors que cette variété peut donner des rendements satisfaisants d'après plusieurs auteurs. Il aurait été préférable de tester cette variété sur plusieurs régions de la wilaya.

Cette problématique peut faire l'objet d'un autre travail de recherche.

- La variété d'orge Saida 183 présente une adaptation générale selon (Souilah.N ; 2009), Saida 183 valorise les environnements contraignants suite à leur tolérance aux stress.

Les meilleurs sols pour leur développement sont les sols à texture limoneuse, pour les autres types de texture cette variété a donné des rendements relativement faibles. Sur le plan de l'écotype, il est intéressant de souligner qu'un phénotype ne s'exprime que s'il trouve des conditions génétiques et environnementales adéquates. De ce fait des parcelles de comportement réparties au niveau des différentes communes de la wilaya sont à

recommander vivement pour savoir quoi et où semer ; parce que chaque variété a ces propres conditions de développement et de croissance. Les problèmes qui entravent la production de semences sont d'une part, les conditions climatiques surtout pluviométriques qui ne permettent pas de couvrir les besoins en générale et d'autre part, les problèmes techniques et ceux liés au stockage et à la conservation des semences, doivent être pris en compte. Pour cela, il est important de mettre les parcelles de multiplication dans les zones à pluviométrie importante, à sol profond et pouvant conserver l'humidité lors de la jachère. Nous suggérons aux multiplicateurs de traiter contre les mauvaises herbes ; principalement la folle Avoine, car celles-ci utilisent l'eau réservée à la céréale. Le rendement, qu'elle que soit la culture, est dépendant de trois paramètres : Le potentiel génétiques de la plante cultivée, l'environnement de la plante et enfin, l'interaction de ces deux composantes. Une culture telle qu'elle est, exige des sols de bonne structure et texture, des conditions de milieu favorable, des fertilisants, de la matière organique et la protection contre les maladies et les ravageurs de cultures. Tous ces paramètres doivent être réunis pour obtenir des résultats satisfaisants, des rendements de grande quantité et de bonne qualité. Sur le plan technique, l'absence du cycle de formation et de vulgarisation des agriculteurs contribue à l'obtention des faibles rendements. Pour cela on appelle les structures ITGC, CNCC, DSA, CCLS pour la formation et l'appui technique des agriculteurs. Ce paramètre est l'un des facteurs essentiel dans le développement technique et social de l'agriculteur.

La création des fiches descriptives, la connaissance de la phénologie et des caractères de production et d'adaptation sont des outils précieux qui constituent le point de départ de tout programme d'amélioration variétale raisonnée, ils permettent également de s'y référer dans la préservation des ressources phytogénétiques. Enfin, ce travail peut faire l'objet d'une thèse de doctorat en multipliant le nombre de variétés et de régions d'études.

Références

- Hervieu .B., R.Capone, S. Abis;(2006). The challenge posed by the cereals sector in the Mediterranean. *Ciheam analytical note*, N°9 : 14 pages.
- Lahmar. R., A. Ruellan. (2007) : Dégradation des sols et stratégies coopératives en Méditerranée : la pression sur les ressources naturelles et les stratégies de développement durable. *Cahiers Agricultures* 16 :318-323
- I.T.G.C., (2006). Stades et variétés de blé. Et C.N.C.C.S ;(2009). Bulletin des variétés céréales.
- Sedira .H, Aissat .A ; (2009) : Etude de comportement de six variétés d'orge (*Hordum vulgare* L) cultivée dans les conditions de la zone sub humide Mitidja. Faculté des sciences de la nature et de la vie ; Université Saad Dahlab Blida (73 p).
- Monneveux. P., (1991). Quelle stratégie pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver. In CHALABI , DEMARLY Y ; Eds. L'amélioration

des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Tunis : AUPELFUREF, JOHN LIBBEY EUROTTEXT, 1991 : 165-186.

Ben Adballah N. et Ben Salem M., (1993) : Paramètres Morphologiques de sélection pour la résistance à la sécheresse des céréales. Les colloques n° 64, Ed, INRA (paris) : 275-298.

Belletreche. A ; (2011) : Contribution à l'étude pédologique et génétique de quelques variétés de blé dur et blé tendre dans la wilaya de Tlemcen. Mémoire en vue d'obtention de Magister en Agronomie Université de Tlemcen.

Kadi. Z ; (2012) : Sélection de l'orge (*Hordum vulgar L*) pour la tolérance au stress abiotique. Thèse présenté pour l'obtention de doctorat en science .Option : biologie végétale. Université Ferhat Abbas Setif. P 99.

Souilah. N ; (2009) : Diversité de 13 génotypes d'orge (*Hordum vulgar L*) et de 13 génotype de blé tendre (*Triticum aestivum L*) état des caractères de production et d'adaptation.

Mémoire de Magister. Université de Mentouri de Constantine (56-58 p).