PROCEEDINGS

9ÈMES JOURNÉES DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Mostaganem, les 6 et 7 novembre 2019

Agronomie
Biologie
Sciences alimentaires
Hydrobiologie marine et continentale

Design: Dahloum Lahouari

Comité Scientifique

Pr. Soualili Dina L, doyenne de la Faculté, Présidente
Pr. Belhadi Abdelkader (Univ. Saida)
Pr. Homrani Abdelkader (Univ. Mostaganem)
Pr. Halbouche Miloud (Univ. Mostaganem)
Pr. Bekkada Ahmed (C.U. Tissemsilt)
Pr. Belahcen Miloud (C.U. Ain Temouchent)
Pr. Youcef Benkada M. (Univ. Mostaganem)
Pr. Bendahmane B.S. (Univ. Mostaganem)
Pr. Haddad Ahmed (Univ. Mostaganem)
Pr. Benkhelifa Mohamed (Univ. Mostaganem)
Pr. Cheriguene Abderrahim (Univ. Mostaganem)
Pr. Benakriche Ben M'hel (Univ. Mostaganem)
Pr. Reguieg Yssaad H. (Univ. Mostaganem)
Pr. Mezali Karim (Univ. Mostaganem)
Pr. Chougrani Fadela (Univ. Mostaganem)
Pr. Belhocine Mansouria (Univ. Mostaganem)
Pr. Bahri Fouad (Univ. Mostaganem)
Dr. Bachir Bouiadjera B (Univ. Mostaganem)
Dr. Bouzouina Mohamed (Univ. Mostaganem)
Dr. Keddari Soumia (Univ. Mostaganem)
Dr. Benamar Nardjess (Univ. Mostaganem)
Dr. Arabi Abed (Univ. Oum El Bouaghi)
Dr. Mokhtar Meriem (Univ. Mostaganem)
Dr. Tefiani Choukri (Univ.Tlemcen)
Dr. Dahloum Lahouari (Univ. Mostaganem)

Comité d'organisation

Ghaffour Mohamed (Président)
Dahloum Lahouari
Bouzouina Mohamed
Chouari Abdelhamid
Ayadi Riadh
Bellar Brahim
Kharbeche Mohamed
Yekhlef M'hamed
Benahmed Amina
Boussena Fatima

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 de 40 communications (orales et par affiche) qui ont été présentées lors des 9èmes journées scientifiques de la Faculté qui se sont deroulées les 6 et 7 novembre 2019. Les communications reçues dans leur intégralité ont été expertisées et corrigées par le comité scientifique. La conception de ce proceeding a porté essentiellement sur la forme et la présentation des communications acceptées. Ce document a été réailsé par le Pr Ghaffour Mohamed, le Dr.Dahloum Lahouari.

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 accordés pour la réalisation de cette manifestation. Nous remercions également Madame Soualili Lila Dina, doyenne de la Faculté des sciences de la nature et de la vie, 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

Hepato-Protective Effect of *Curcuma longa* against Paracetamol-Induced Chronic Hepatotoxicity in Swiss Mice

Salima Douichene [1], Nessrine Ammari [1], Hadjer Bendiab [1], Wahiba Rached [1], Fatiha Missoun, Ahmed Kebir [2], Noureddine Houbad 3and Noureddine Djebli [1]

(1)Departement of Biology, Laboratory of Pharmacognosy Api Phytotherapy, Faculty of Life and Natural Sciences, University of Mostaganem, Algeria.
(2) Regional veterinary laboratory of Mostaganem.
(3) Laboratory of medical analyses and biologiques explorations, Inessm Oran, Algeria.
✉itadz@yahoo.fr

Abstract

Curcuma longa L. (*Zingiberaceae*), a natural spice, has been usually used in Algeria to treat gastrointestinal and liver disorders. This study aims to evaluate protective and anti-inflammatory properties of aqueous extract of *C.Longa*L.rhizome against hepatic damages induced by Paracetamol.The mice were divided into four groups (n=11), the hepatotoxicity was induced in mice by oral administration of acetaminophenat the last seven weeks. The aqueous extract was also administered daily for 14 weeks with subjected of Paracetamol, the negative control group, and treated group with turmeric extract. Histopathological study of the liver and several serum markers as serum albumin, gamma GT, blood glucose and transaminases (ALT and AST)were analyzed.The results of biochemical parameters revealed an increasing levels in ALT (108.54U/L), AST (256.07U/L),and serum albumin (31.2g/L) in treated intoxicated groupcompared to Paracetamol intoxicated group. Thus, the results demonstrated decreasing in levels of glycemia (0.3 g/L) and gamma GT (134.20 U/L).Moreover, the liver sections revealed macroscopically significant lesions (hepatic necrosis) bloating and hydropic lesions, vacuolization and steatosis in intoxicated mice. On the other hand, these lesions are less important in the treated group with only turmeric. Animals were observed for any symptoms of toxicity after administration of extract to ensure its safety.This results show that the extract of *C. longa* has hepatoprotective potential that could be partly attributed to developed as drugs for the treatment of liver diseases.

Keywords: *Curcuma longa*; Paracetamol;mice; hepatotoxicity; hepato-protective effect.

1. Introduction

Paracetamol, known as acetaminophen or APAP,is one of the most commonly used oralanalgesics and antipyreticsdescribed in the 1960 in the USA (Yoon *et al.*, 2016). It has an excellent safety profile when administered in proper therapeutic doses,but an excessive uses cause Paracetamol poisoning and generate liver damages(Woolley and Woolley, 2017).In the United States and the United Kingdom, Paracetamol is the most common cause of acute liver failure (Ryder and Beckingham, 2001; Ferri, 2016). The toxic dose of paracetamol is highly variable,in general the recommended maximum daily dose for healthy adults is 4 grams(Freifeld*et al.*, 2014; Twycross *et al.*, 2017). In the first 24 hours following overdose, usually 7g per day (Ferri, 2016; Woolley and Woolley, 2017) people have few or nonspecific symptoms, like abdominal pain or nausea, yellowish skin, blood clotting problems, and confusion occurs (Podolsky*et al.*, 2016; Yoon*et al.*, 2016). Additional complication may include pancreatitis, low blood sugar and lactic acidosis paracetamol toxicity can cause death without treatment after two weeks of exposure(Freifeld*et al.*, 2014; Yoon*et al.*, 2016).There are risk factors which can increase this toxicity, like alcoholism, malnutrition and certain other medications (Ferri, 2016).Paracetamol poisoning is the most common cause of acute liver failure that results not from

paracetamol itself, but from one of its metabolites, N acetyl–*p*-benzoquinone imine (NAPQI) (Webb *et al.*,2016) which decreases the liver's glutathione and directly damages hepatocytes(Prout*et al.*, 2014).

Curcuma longa(*Zingiberaceae*)is a rhizomatous perennial herb,the common name of this species is turmeric (Kurkum in Algeria), original from to South Asia especially India and Malaysia(Akram*et al.*, 2010; Amel, 2015). It is commonly known as a spice and pigmentfor preparing culinary dishes (Delaveau, 1987; Ghosh *et al.*, 2011).This plant species is well-known in India for its therapeutic properties; its rhizome juice is used are taken orally for the treatment of many diseases such as liver problems, gastrointestinal disorders, , asthma, bronchitis, gonorrhea and urinary disorders, or as antihelmintic(Perry *et al.*, 2010). In addition; its essential oilsincluding tumerone,atlantone, and zingiberone are used in the treatment of carminative, stomachic and tonic (Yadav *et al.*, 2017). The anticancer, antidiabetic, antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activities of aqueousextracts obtained from of the rhizome of *C. longa* were previously reported (Amel, 2015).The turmeric is used in combination with other plants or spices in the food and medical fields. Hence, a mixture of the juice of this plant with dried root of *Pandanus odoratissimus* Linn. f.and water, taken early in the morning orally for 1-week used to remedy urinary disorders (Mishra *et al.*, 2015).

The bright yellow color of turmeric originates mainly from polyphenolic pigments known as curcumin (diferuloylmethane) (Lim *et al*., 2001). Curcumin, the principal curcuminoid found in the rhizome of turmeric, is generally considered its most active compound.Several published studiesshown that curcuminhas various therapeutic properties, like anticancer effect involving in inhibiting the growth of several different types of cancer, antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, antidiabetic, hepatoprotective and neuroprotective activities (Lim *et al.*, 2001). The curcumin exhibited also the ability to block NF-κB and the mutagenic response in *Helicobacter pylori*-infected epithelial cells (Sarkar *et al.*, 2016).

The present studywas undertaken to assess the hepatoprotective effect of aqueous extract of *C. longa* rhizomesadministrated with paracetamol overdoses induced liver damage in mice, represented by blood transaminases (TGO and TGP), albumin, total protein and sugar levels, confirmed by the histological study of mice's liver. Treatment of mice with only the aqueous extract of *C. Longa*at concentration of 2 mg/kg per dayis examined for the first time.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

All chemicals and reagents were used of analytical grade. Assay kit for serum aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase were taken from Dialab, Austria, and Paracetamol (PCM) from Sigma-Aldrich USA.

2.2. Plant MaterialandPlant Extract Preparation

Turmeric dried rhizomes was purchased from alocal market, Algeria. Species identification was performed by botanical Professors of the University of Mostaganem (Algeria).The rhizomes were cleaned, dried,and homogenized in distilled water at a ratio of 1:10 of plant to water and left macerated for 6 hours at 25°C with occasional shaking and stirring. The mixture was then filtered and concentrated, and the resulting liquid was orally administrated to animals with final concentration as 2mg/kg per day.

2.4.Animals

Forty four healthy adult mice, aged of 30 ± 2 days and weighing from 35−40 g, wereobtained from Pasteur Institute of Algeria. They were maintained at room temperature (25.5°C) with a 12 h light/dark cycle, and have been given a commercial pellet diet 18 g/day/mouse (obtained from Algerian National Food Officeof Cattle) and fresh drinking mineral water.

2.5. Hepatoprotective Assay

The *in vivo* hepatoprotective activity of aqueous extract of turmeric rhizome was determined using the Paracetamol-induced hepatotoxicity test in mice, as previously described by Jarsiah*et al.* (2018) with minor modifications.

The mice were randomly divided into four experimentalgroups, containing eleven mice in each group.The first group received mineral water and serving as negative control group (C). Group II serving as Paracetamol intoxicated group(P) received100mg/kg at the first seven weeks increased to 200mg/kg at the last seven weeks.Group III serving asParacetamol-treated group received paracetamol poisoning dosessame as Paracetamol intoxicated group and treated by turmeric extract (P+T) at a dose of 2 mg/kgwhich showed no signs of toxicity in mice. Finally, Group IV serving astreated turmeric group(T) received 2mg/kg.These doses were administratedorally by force-feeding.

The period of experimentation was 14 weeks under standards laboratory conditions. The animals received the corresponding dose of the respective test solution daily for 14 consecutive weeks. 72 h after the end of experimentation, mice were scarified by decapitation (chloral 3%).

The blood was collected in sterilized centrifuged tubes which was then centrifuged to get serum for biochemical studies. The animals were then sacrificed by cervical dislocation and the liver was removed and dissected out for histopathological studies.

2.6. Determination of Liver Function and Biochemical Parameters

The collected serum was tested according to the standards liver enzymes determination assays comprising glucose,albumin, gamma GT, alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) levels were measured using automat COBAS 6000 analyzer.

2.7. Histopathology

The liver tissue was dissected out and fixed in the 10% neutral buffered formaldehyde for 24 hours, dehydrated in gradual ethanol (50–100%), cleared in xylene, and surroundedby paraffin wax. The sections, which were 4-5µm thick, were then prepared using rotary a Leica microtome thickness (Leica RM 2125 RTS, Singapore)and stained with hematoxylin and eosin dye 1% for 40 seconds for microscopic observation of histopathological changes in the liver. Next, the liver sections were scored and evaluated according to the severity of the hepatic injury including fatty changes, cell necrosis, lymphocytes, hyaline and ballooning degeneration as described by Jarsiah*et al.* (2018) with slight modifications.

2.8. Statistical Analysis

Statistical analysis data obtained are presented as mean ± standard error of mean (SEM). The data were performed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by LSD test with $\alpha = 0.05$. This treatment was carried out using the SPSS v. 23.0 program (IBM Corp., Armonk, New York, USA).

3. Results and Discussion

3.1. Determination of liver function and biochemical parameters

Oral administration of paracetamol (100 and 200 mg/kg) for 2 weeksindicated anelevation in serum liver enzymes such as alanine transaminase[Fig. 1-a],aspartate transaminase[Fig.1-b], gamma GT[Fig. 1-c], blood

glucose level[Fig. 1.d], and albumin [Fig. 1.e] compared with the control group. All of these results were ameliorated by coadministration of turmeric aqueous extract.Therefore, These findings may be in concord with many other studies, thus the obtained results were similar with that acquired by of Jarsiah*et al.* (2017) after intraperitoneal injection of 70.150 and 300 mg/kg of APAP to albino Wistar rats, the overuse of acetoaminophen in mice and rats can caused severe and extensive necrosis cells (liver damages), and increased serum ALT/AST levels in rats.The ameliorative effect of curcumin and its derivates against liver injury induced by several drugs, such as paracetamol(Girish *et al*., 2009) has been reported. The results attained by Somchit*et al.*(2005), suggested that ethanolic extract of *C. longa* (100 mg kg^{-1}) has a potent hepatoprotective effect against paracetamol-induced liver damages in rats at 600 mg kg^{-1}expressed by lowered serum liver enzyme activities. Also, Salama *et al.*(2013) reported the hepatoprotective effect of ethanolic extract of this species at 2 and 5 g/kg on thioacetamide induced livercirrhosis in rats with low levels of liver biochemistry.

The most frequently used preclinical species for drugs hepatotoxicity are rats and mice. The severity of the overall liver injury is very similar between mice and humans (McGill *et al.*, 2012). However the injury process progresses much faster in mice than in humans, with peak transaminases (ALT and AST) values, as indicator of liver cell death, between 12 - 24 h in the mouse (McGill *etal.*, 2013) and 36-48 h in humans after overdose (Lee, 2013). The mouse model of APAP hepatotoxicity is superior to other animal's model and most closely resembles the human pathophysiology in terms of liver injury and recovery. In the present study, the results showedan increased serum ALT/AST and GT levels in mice, which are proved byRay *et al.* (1996). An elevation of glucose level in serum of intoxicated group was observed compared tocontrol mousethat may be caused by oxidative stress and NAPQ effect. The administration of phytosome curcumin effectively suppressed paracetamol-induced liver injury evidenced by a reduction of lipid peroxidation level, and elevated of enzymatic antioxidant activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase in mice liver tissue (Tung *et al.*, 2017).

The Results showed that curcumin exerts remarkable protective, anti-inflammatory and therapeutic effects of oxidative associated liver diseasesagainst hepatotoxicity induced by paracetamol (Watkins and Seeff, 2006).The ameliorative effect of curcumin and its derivatives against liver injury induced by several drugs, such as paracetamol has been reported(Nabavi*et al.*, 2014)

In the presentstudy, theresults were confirmed by other research, which conclude that the antioxidant ability of curcumin and its derivatives is shown to be the main protective mechanism against drug induced liver damages (Negi *et al.*, 2008). Oetari*et al.* (1996) demonstrated that curcumin is a strong inhibitor of cytochrome P450, it can also normalize antioxidant enzymes and amelioratedacetoaminophen induced liver damage.

3.2. Histopathology

The histological observations of control mice did not show any histological alterations in the hepatocytes.The liver sections showed normal structure with no damage in the central vein and no change in sinusoids and hepatocytes architecture [Fig.2,3,and 4]. In toxic control group, the liver sections showed hepatocytes necrosis with strict damage associated with central vein due to paracetamol [Fig.2]. In group treated with turmeric aqueous extract, the liver sections showed minor to moderate diffuse granular degeneration and necrosis in liver cells, reduced damage and regeneration of hepatocytes, bile duct, branch of hepatic portal vein and minimal necrosis caused by paracetamol intoxication [Fig.3and 4].

Histopathology of the liver in control group and treated mice by *C.longa*at a dose of 2g/kg, mice showed no specific pathological changes.Effects of acetoaminophen began to appear from doses of 100mg/kg and 200mg/kg: presence of steatose and different lesions appear mild hyperemia oedema of the portal area and mild infiltration of inflammatory cells and apoptosis were observed, similar results with others studies

(Jarsiah*et al.*, 2017), less important in treated group by curcumin.Our histopathological study of APAP toxicity shows obvious difference between the treated poisoned group and the poisoned one. Histopathology and liver biochemistry were significantly lower in the *C. longa* treated groups with a dose of 2mg/kg compared with controls. Similar results were obtained with ethanolic extract of *C.longa* rhizome by Salama *et al.* (2013). Many reports indicated that curcumin induced apoptosis and inhibited hepatocytes proliferation (Wang *et al*.,2012). The progression of liver damages caused by acetaminophen or paracetamol could be inhibited by the antioxidant activities of curcumin and the normal status of the liver could be preserved (Salama *et al.*, 2013). The model of cell death during paracetamol hepatotoxicity is controversial. Animal studies have concluded that the injury is caused by necrosis, an increasing number of reports suggest that apoptotic cell death plays a significant role.

4. Conclusion

Overall,these outcomes suggest that the protective role of aqueous extract of *C. longa*with a weak concentrationin the prevention of paracetamol-induced hepatic toxicity in micecause hepatotoxicity by forming reactive metabolites, which wereaccompanying with a decrease of chemical parameters in hepatic tissues. Changes in serum liver levels might contribute the molecular mechanisms of the tested plant associated with oxidative modifications in liver tissue.Consequently, the protective effect of *C. longa* against liver damage induced by Paracetamol could be explained by its antioxidant properties. However, clinical studies are necessitated to examine such an effect in humans.

Acknowledgements

The authors are grateful to the MESRS of Algeria for the financial support.

References

Akram M, Shahab-Uddin AA, UsmanghaniK, Hannan A, MohiuddinE and Asif M. 2010. *Curcuma longa* and curcumin: a review article. *Rom J Biol Plant Biol.*, **55 (2)**: 65-70.

Amel B. 2015. Microscopic control of Rhizoma*Curcumae longae* using multivariate analysis. *Planta Med.*, **81 (16)**: 186.

DelaveauP. 1987. Les épices:histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Albin Michel, Paris, pp. 130-136.

Ferri FF. (2016). Ferri's Clinical Advisor 20175 Books in 1.First ed., Elsevier Health Sciences. Rhode Island, **(10)**: 125-129.

FreifeldCC, Brownstein JS, Menone CM, Bao W, Filice R, Kass-Hout T, and Dasgupta N. 2014. Digital drug safety surveillance: monitoring pharmaceutical products in twitter. *Drug saf.*, **37 (5)**: 343-350.

Ghosh N, Ghosh R, Mandal V, Mandal SC. 2011. Recent advances in herbal medicine for treatment of liver diseases. *Pharm Biol.*, **49 (9)**: 970-988.

Girish C, Koner BC, Jayanthi S, Ramachandra Rao K, Rajesh B and Pradhan SC. (2009). Hepatoprotective activity of picroliv, curcumin and ellagic acid compared to silymarin on paracetamol induced liver toxicity in mice. *FundamClinPharmacol.*, **23 (6)**: 735-745.

Jarsiah P, Karami M, Nosrati A, Alizadeh A and Hashemi-Soteh MB. 2018. Circulating miR-122 and miR-192 as specific and sensitive biomarkers for drug-induced liver injury with acetaminophen in Rats.*Jundishapur J Nat Pharm Prod*.

Jarsiah P, Nosrati A, Alizadeh A and Hashemi-Soteh SMB. 2017. Hepatotoxicity and ALT/AST enzymes activities change in therapeutic and toxic doses consumption of acetaminophen in rats. *IntBiol BiomedJ.*, **3 (3)**: 119-124.

LeeWM. 2013. Drug-induced acute liver failure. *Clin Liver Dis.*, **17 (4)**: 575-586.

Lim GP, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy SAandCole GM. 2001. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse.*J Neurosci.*,**21**: 8370-8377.

McGill MR, Lebofsky M, Norris HRK, Slawson MH, Bajt ML, Xie Y, WilliamsCD, WilkinsDG, RollinsDE and Jaeschke H. 2013. Plasma and liver acetaminophen-protein adduct levels in mice after acetaminophen treatment: dose–response, mechanisms, and clinical implications. *ToxicolApplPharmacol.*, **269 (3)**: 240-249.

McGill MR, Sharpe MR, Williams CD, Taha M, Curry SC and Jaeschke H. 2012. The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation. *J Clin Invest.*, **122 (4)**: 1574-1583.

Mishra G, Khosa RL, Singh P and Jha KK. 2015. Hepatoprotective potential of ethanolic extract of *Pandanus odoratissimus* root against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *J Pharm Bioallied Sci.*, **7, (1)**: 45.

Nabavi SF, Daglia M, Moghaddam AH, Habtemariam S and Nabavi SM. 2014. Curcumin and liver disease: from chemistry to medicine. Comprehensive *Compr Rev Food Sci Food Saf.*, **13 (1)**: 62-77.

Negi AS, Kumar JK, Luqman S, Shanker K, Gupta MM and Khanuja SPS. 2008. Recent advances in plant hepatoprotectives: a chemical and biological profile of some important leads. *Med ResRev.*, **28 (5)**: 746-772.

Oetari S, Sudibyo M, Commandeur JN, Samhoedi R. and Vermeulen NP. 1996. Effects of curcumin on cytochrome P450 and glutathione S-transferase activities in rat liver. *BiochemPharmacol.*, **51, (1)**: 39-45.

Perry MC, Demeule M, Regina A, Moumdjian R and Beliveau R. 2010. Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in *glioblastoma xenografts. MolNutr Food Res.*, **54 (8)**: 1192-1201.

PodolskyDK, Camilleri M, FitzJG, KallooAN, ShanahanF and WangTC. 2016.Yamada's Textbook of Gastroenterology. 6th ed. John Wiley and Sons, Texas, pp. 1537-3070.

Prout J, Jones T and Martin D. (2014). Advanced Training in Anaesthesia. OUP Oxford. pp. 166.

Ray SD, Mumaw VR, Raje RR and FarissMW. 1996. Protection of acetaminophen-induced hepatocellular apoptosis and necrosis by cholesteryl hemisuccinate pretreatment. *J PharmacolExpTher.*, **279, (3)**: 1470-1483.

RyderSD andBeckinghamIJ. 2001. Other causes of parenchymal liver disease. *Bmj*, **322 (7281)**: 290-292.

Salama SM, Abdulla MA, AlRashdi AS, Ismail S, Alkiyumi SS and Golbabapour S. 2013. Hepatoprotective effect of ethanolic extract of *Curcuma longa* on thioacetamide induced liver cirrhosis in rats. *BMC Complement Altern Med.*, **13 (1)**: 56.

Sarkar A, De R and Mukhopadhyay AK. 2016. Curcumin as a potential therapeutic candidate for *Helicobacter pylori* associated diseases. *World J Gastroenterol.*, **22 (9)**: 2736.

Somchit MN,ZurainiA, Ahmad BustamamA, Somchit N., Sulaiman MR and Noratunlina R., 2005. Protective Activity of Turmeric (*Curcuma longa*) in Paracetamol-induced Hepatotoxicity in Rats. *Int J Pharmacol.*, **1**: 252-256.

Tung BT, Hai NT and Son PK. 2017. Hepatoprotective effect of phytosomecurcumin against paracetamol-induced liver toxicity in mice. *Braz J Pharm Sci.*, **53 (1)**.

Twycross AM, Parker R, McKeever S and Wiseman T. 2017. An integrative review of interventions to support parents when managing their child's pain at home. *Pain ManagNurs.*,**19 (2)**: 139-156.

Wang ME, Chen YC, Chen IS, HsiehSC, Chen SS and Chiu CH. 2012. Curcuminprotects against thioacetamide-induced hepatic fibrosis by attenuatingthe inflammatoryresponse and inducing apoptosis of damagedhepatocytes. *J NutrBiochem*.

Watkins PB andSeeff LB. 2006. Drug-induced liver injury: summary of a single topic clinical research conference. *Hepatol.*, **43 (3)**: 618-631.

Webb A and Gatinoni L. 2016. Oxford Textbook of critical care.oxford university press.p.1518.

Woolley D and Woolley A. 2017. Practical toxicology: evaluation, prediction and risk, third ed., CRC press, pp.330.

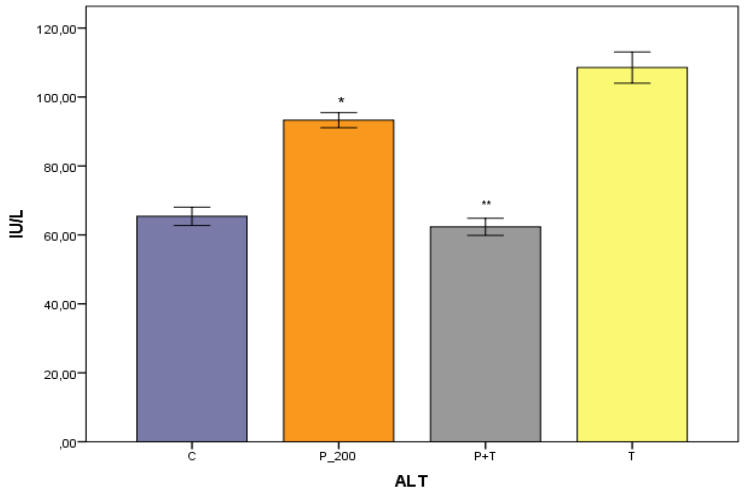
Yadav MK, Yadav KS and Patil S. 2017. Characterization of anti-diabetic herbs &potential therapeutic agents in Indian species: A Review. *IOSR J Appl Dent Med Sci.,* **16 (2)**: 70-78.

Yoon E, Babar A, Choudhary M,Kutner M,Pyrsopoulos N. 2016.Acetaminophen induced hepatotoxicity : a comprehensive update. *J Clin Gastroenterol Hepatol.*,**4 (2)**: 131-142.

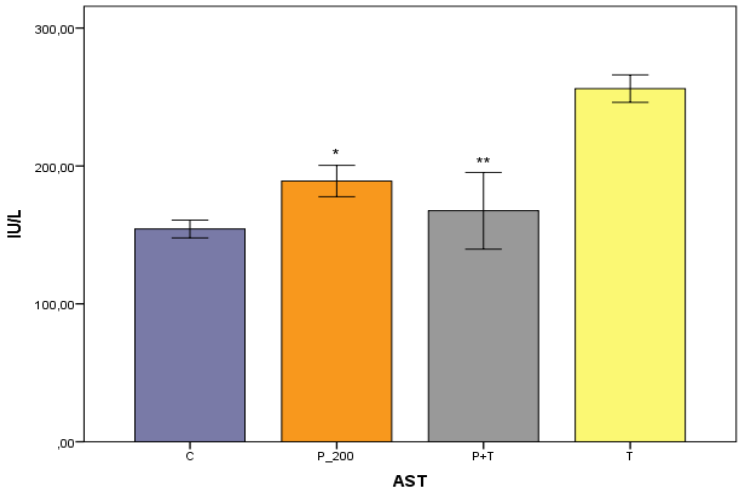
Table 1. Effect of *Curcuma longa* aqueous extract on liver function and biochemical parameters under different experimental conditions

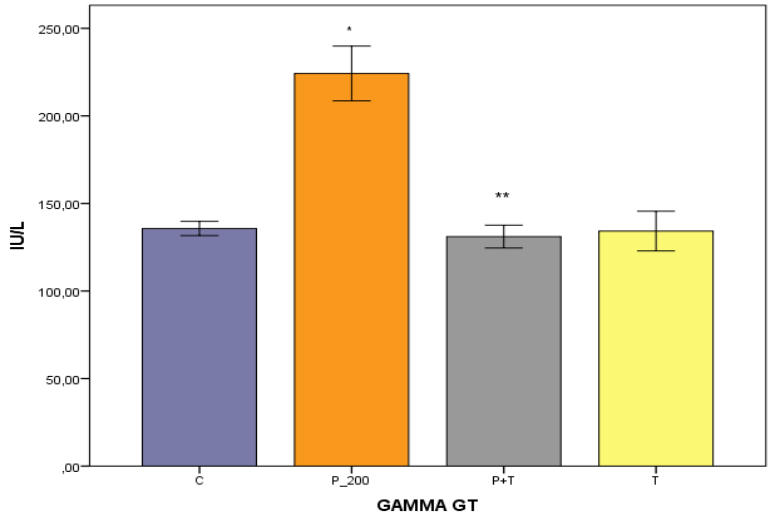
Parameters	**C**	**P**	**P+T**	**T**
ALT (IU/L)	65.4± 1.07	93.28± 0.9*	62.35± 1.01**	108.54± 1.8
AST (IU/L)	154.3± 2.6	189.07± 4.6*	167.50± 11.2**	256.07± 4.01
Gamma GT (IU/L)	135.7± 1.6	224.2± 6.3*	131.06± 2.6**	134.2± 4.6
Glucose (g/L)	0.36± 0.01	0.3± 0.05*	0.38± 0.02**	0.08± 0.02
Serumalbumin (g/L)	31.7± 0.2	30.32± 5.04	31.3± 8.5	31.2± 5.3

Values expressed as mean value ± SEM. Means don't having star are not significantly different from each other, $p < 0.05$.*$P < 0.05$: Student's t-test, significant levels shown for difference between control and Paracetamol intoxicated group. **$P < 0.05$: Student's t-test, significant levels shown for difference betweenParacetamol intoxicated group and Paracetamol-poisoned rats treated with the aqueous extract of *C. longa*

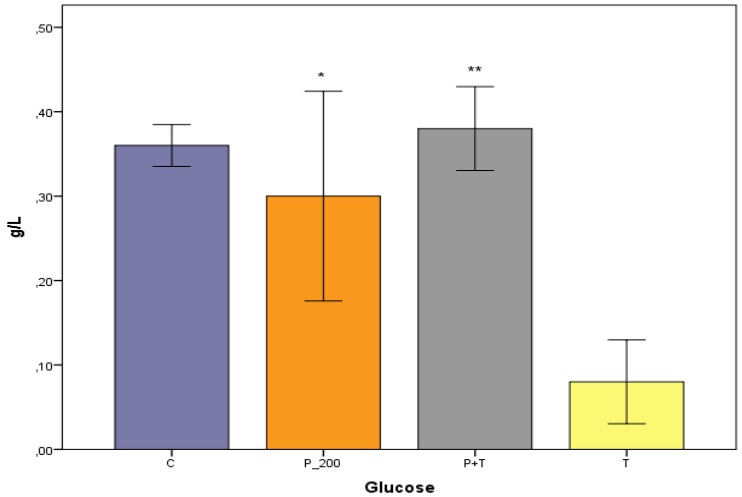

120,00
100,00
80,00
60,00
40,00
20,00
,00
IU/L
*
**
C
P_200
P+T
T
ALT

a

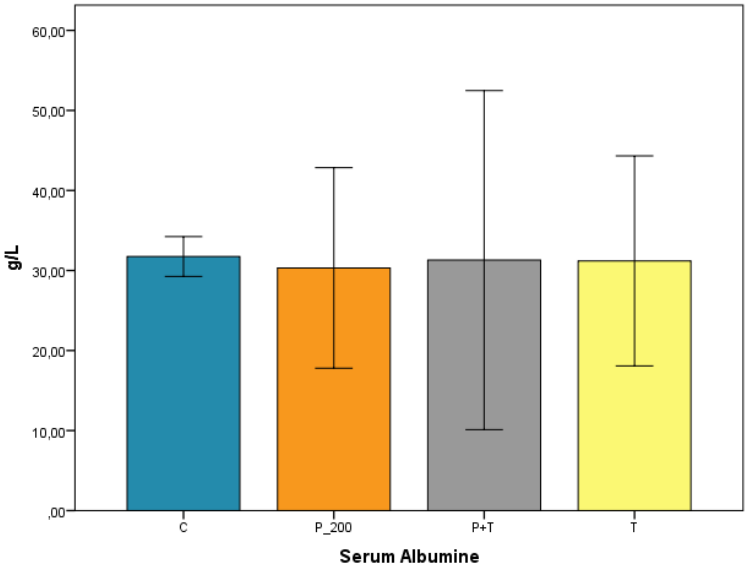

300,00
200,00
100,00
,00
IU/L
*
**
C
P_200
P+T
T
AST


250,00
200,00
150,00
100,00
50,00
,00
IU/L
*
**
C
P_200
P+T
T
GAMMA GT

c


,50
,40
,30
,20
,10
,00
g/L
*
**
C
P_200
P+T
T
Glucose

d



e

Figure1.biochemical parameters levels; (a) ALT, (b) AST, (c) Gamma GT, (d) Glucose, and (e) albumin in serum miceof different experimental groups tested for 14 weeks.

Histological study

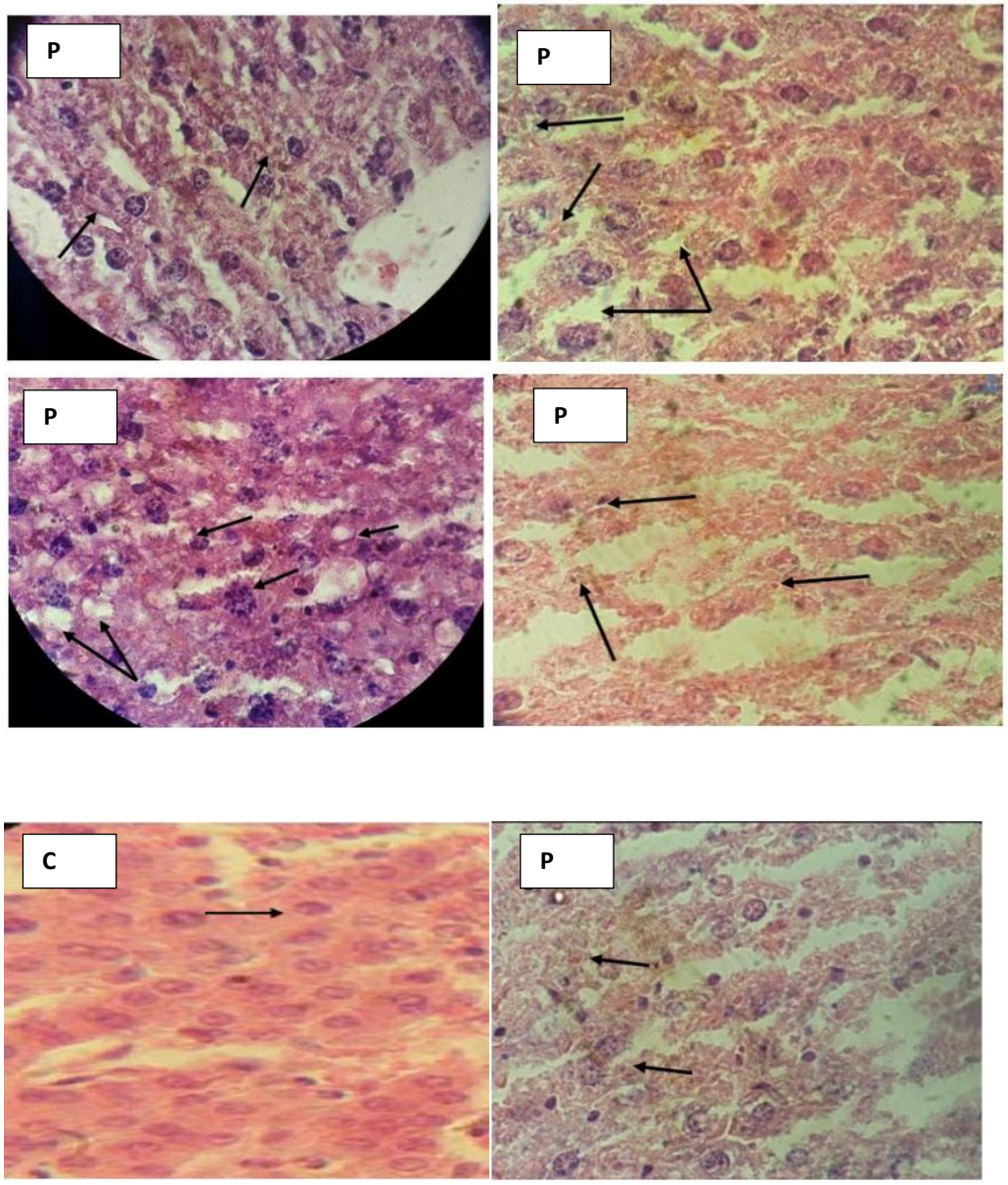


Figure 2. Microscopic study of liver tissue performed by staining (H&E) in mice, (P) intoxicated group with two doses of paracetamol (100mg/kg, 200mg/kg) compared with control group(C) (G×100).The black arrows indicate hepatocytes necrosis and strict and several damage in intoxicated mice tissue, normal structure with no damage in control mice tissue.

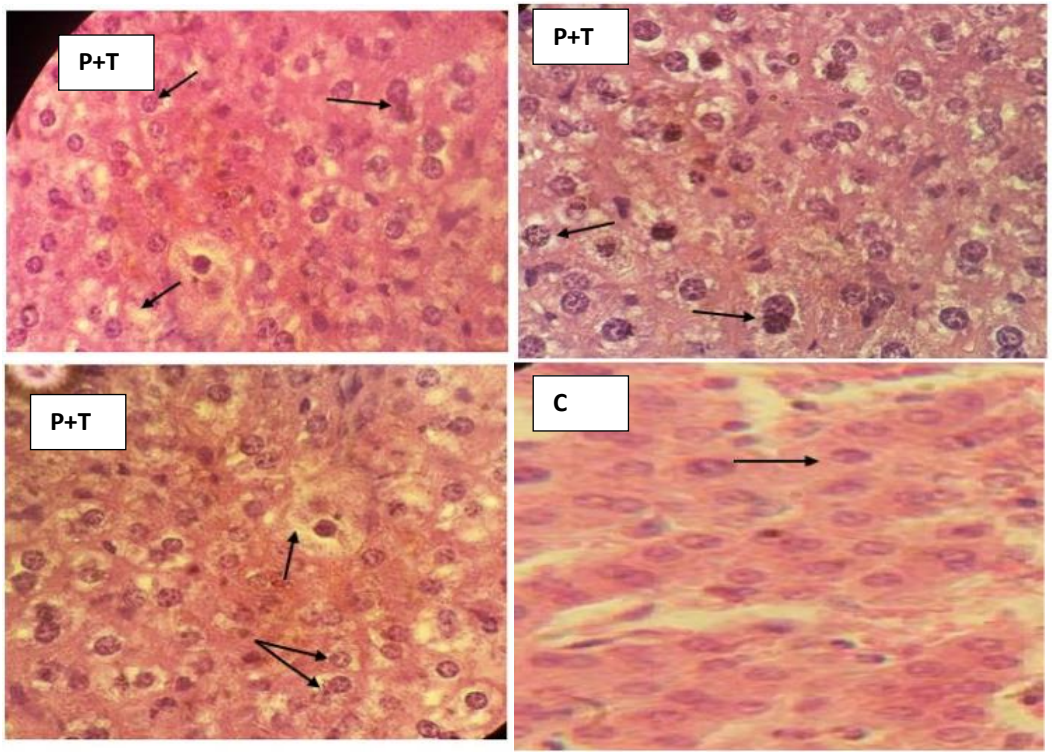


Figure 3. Microscopic study of liver tissue performed by staining (H&E) in mice, (P) intoxicated group with two doses of paracetamol (100mg/kg, 200mg/kg) and treated by curcumin (2g/kg) (P+T) compared with control group(C) (G×100).No specific alterations damages in liver tissue. The black arrows indicate a best regeneration of liver tissue (cell's mitosis).

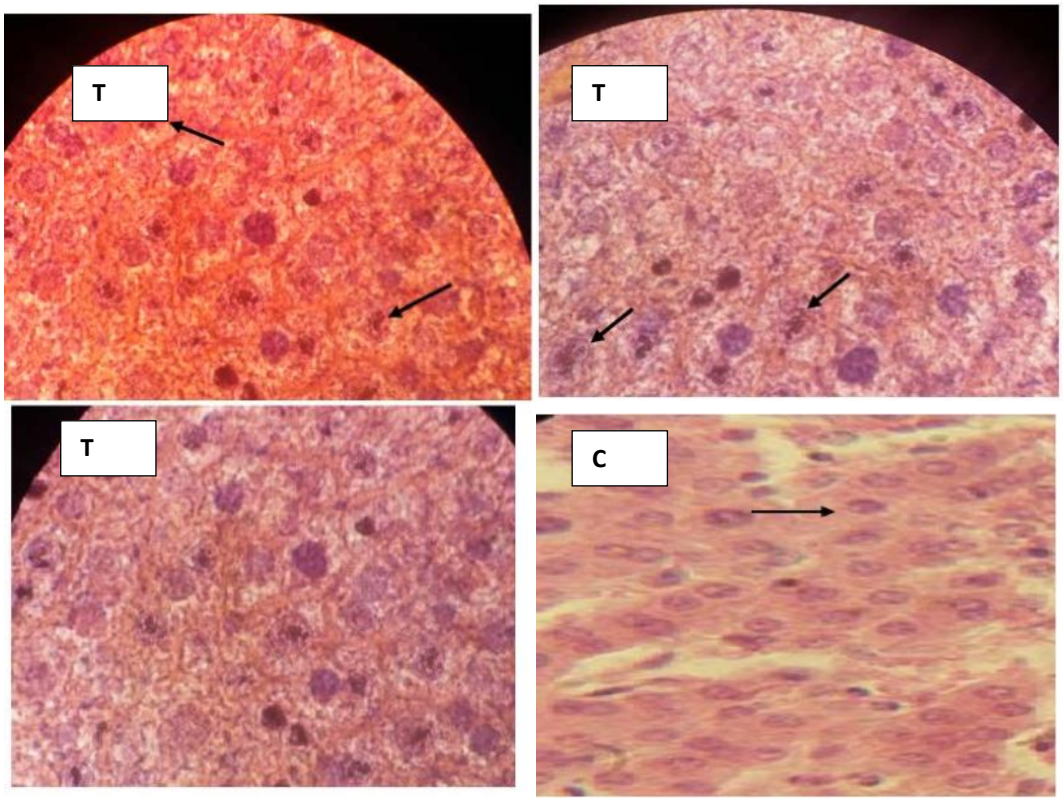


Figure 4. Microscopic study of liver tissue performed by staining (H&E) in mice, (T) treated control group with curcumin (2g/kg) compared with control group(C) (G×100).The black arrows indicate normal structure of liver tissue compared with control.

Communautés caractéristiques de *Conger conger* (Linnaeus, 1758) dans le bassin algérien.

DAOUDI Mohamed[1], BACHIR BOUIADJRA Benabdellah[1], GARCIA CHARTON José Antonio[2]BEHMENE Ibrahim Elkhalil[1], HEMIDA Farid [3]

[1] Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem,[2] Université de Murcia Espagne, [3] École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral (ENSSMAL) BP 19, Dely Ibrahim, Alger.

✉daoudimohamed89@gmail.com

Résumé

La détermination de la faune caractéristique associée à *C.conger* dans le bassin algérien a été effectuée à partir de l'analyse des données recueillies lors de la campagne océanographique Thalassa / Ichthys-Joamy (ISTPM, 1982). L'étude nécessite l'utilisation de certains indices écologiques, et qui sont : la fréquence relative (Fr), la densité (Dn) et la biomasse (Dw).L'ensemble de ces indices a été soumis à deux types d'analyse multidimensionnelle dans chaque région : l'ACP et la CAH, afin de mettre en évidence les espèces les plus associées à *C. conger*.

Suivant l'analyse des résultats obtenus, nous avons élaboré une liste des espèces caractéristiques du peuplement associé à *C. conger* dans le bassin algérien. La liste met en évidence une forte association de *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) et de *Centrophorusgranulosus* (Bloch & Schneider, 1801) à l'espèce cible, suivies de *Micromesistius poutassou* (Risso, 1826) et de *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758).Cette association semble montrer une proie préférentielle commune entre le congre et le requin chagrin et qui est la crevette rose.

Mots clés : Communautés caractéristiques, *Congerconger*, bassin algérien, faune associée, ACP, CAH.

Introduction

Le congre européen *Conger conger* (Linnaeus, 1758) est présent dans l'Atlantique Nord-Est, depuis l'Islande et la Norvège jusqu'au Sénégal, mais aussi en mer Méditerranée et à l'Ouest de la mer noire (FROESE et PAULY, 2015).

Cette espèce présente une valeur sûre dans le marché algérien, dont elle est régulièrement présente dans les débarquements et elle est exploitée aussi bien par la pêche commerciale que par la pêche récréative, et capturée par plusieurs engins de pêche, principalement par les chaluts de fond, les hameçons et les palangres (FIGUEIREDO*et al.*, 1996). Ainsi, l'espèce représente l'une des espèces les plus capturées par la pêche récréative en Algérie (SAHI et BOUAICHA, 2003), cela semble montrer une tendance à la sur exploitation du stock. Cependant, l'espèce ne fait toujours pas l'objet de travaux de synthèse.

C'est dans ce cadre que nous nous sommes intéressés à l'étude de cette espèce par la détermination de son comportement en définissant sa faune caractéristique associée dans le bassin algérien.

Matériel et Méthodes

- **Présentation de l'espèce étudiée**

Le congre européen a un corps subcylindrique allongé (fig. 1), comprimé en arrière de l'anus. Le profil de la tête est déprimé au-dessus de l'œil, et le museau est légèrement proéminent. La nageoire dorsale commence au-dessus de l'extrémité des nageoires pectorales (FISCHER *et al.*, 1987).

Le congre européen est une espèce benthique marine, etelle est capturée sur des fonds rocheux et sableux avec une très large répartition bathymétrique, allant de 40 m jusqu'à 800 m de profondeur (DIEUZEIDE*et al*., 1959 ;FISCHER *et al*., 1987 ;QUERO et VAYNE, 1997 ;WOOD, 2011).

Figure 1.*Congerconger*(Linnaeus, 1758)

Il reste près de la côte quand il est jeune et il se déplace vers des eaux plus profondes à l'âge adulte.

Le congre européen atteint sa maturité sexuelle à l'âge de 5-15 ans (FISCHER *et al*., 1987), et il va se reproduire en pleine eau au-dessus des grands fonds où chaque individu pond plusieurs milliers d'œufs (QUERO et PORCHE, 2005 ; CORREIA *et al*., 2011 ; WOOD, 2011). Les jeunes mettent 2-3 ans avant de revenir vers l'habitat côtier.

C.conger est une espèce carnassière très vorace. Elle se nourrit principalement la nuit, et son régime alimentaire se compose principalement de poissons vivant dans les fonds, des crustacés et des céphalopodes (FISCHER *et al*., 1987).

Le congre européen est pêché par les sennes de plage, les chaluts, les filets maillants, les palangres de fond, les pièges et les lignes à main. L'espèce est régulièrement présente sur les marchés de Méditerranée (FISCHER *et al*., 1987).

- **Origine des données**

Les données proviennent des informations recueillies lors de la campagne de prospection des fonds marins algériens, effectuée par le navire océanographique Thalassa et les chalutiers Ichthys et Joamy de l'Institut Supérieur des Techniques de Pêches Maritimes (ISTPM, 1982).

- **Méthodes d'étude**

La détermination des espèces fortement associées à l'espèce cible nécessite l'utilisation de certains indices qui sont : la fréquence relative (Fr), la densité (Dn) et la biomasse (Dw).

Ces indices sont calculés à partir des listes faunistiques globales établies pour chaque région.

Afin de mettre en évidence les espèces les plus caractéristiques, l'ensemble de ces indices a été soumis à deux types d'analyse multidimensionnelle : l'analyse en composantes principales (ACP) et la classification ascendante hiérarchique (CAH).

Résultats et discussion

À partir de l'analyse en composantes principales appliquée sur les matrices initiales dans les trois régions, la projection des variables initiales sur les composantes principales montre une forte corrélation positive entre chaque variable initiale et un axe synthétique pour les trois régions (tab.1 ;fig. 2).

Pour la CAH, L'approche de la norme 2 montre que la méthode du lien moyen fournie la matrice ultramétrique U la plus fidèle à la matrice initiale D avec la plus faible valeur de la norme 2 (fig. 3), ce qui nous permet de considérer le lien moyen pour la classification ascendante hiérarchique dans les trois régions.

Tableau 1. Contribution des variables à la formation des axes synthétiques I, II et III

	Facteur								
Variables initiales	Ouest			Centre			Est		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Fr	0.07	**0.97**	0.23	0,12	**0,98**	0,17	0,25	0,25	**0,93**
Dn	0,30	0,26	**0,92**	**0,97**	0,12	0,23	0,19	**0,95**	0,24
Dw	**0,96**	0,07	0,27	0,24	0,18	**0,96**	**0,95**	0,19	0,24

Figure 2. Projection des variables sur les axes retenus

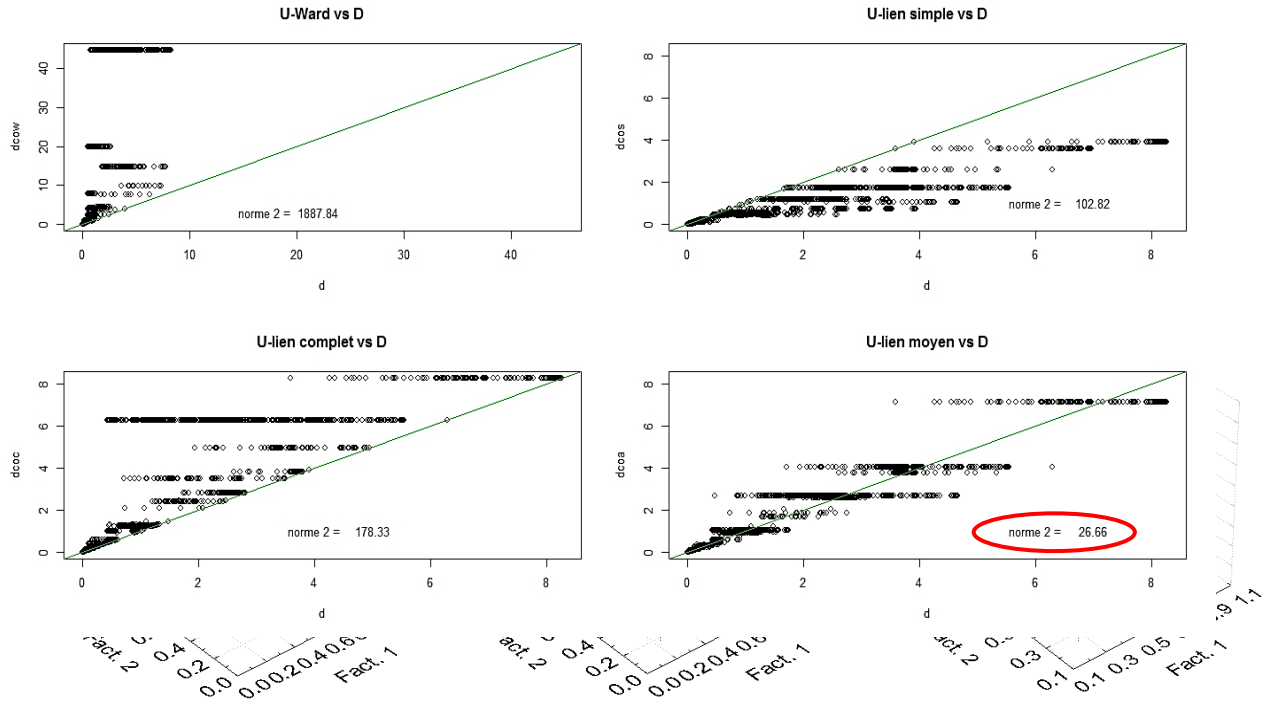


Figure 3. Matrix plots et valeurs de la norme2 calculées sur les différentes matrices ultramétriques

- **Région Ouest**

À partir de la projection des espèces sur les composantes principales (fig. 4), les espèces les plus associées à *C. conger* dans la région Ouest sont : le merlan bleu (*Micromesistius poutassou)*, le Chien espagnol (*Galeus melastomus*) et la crevette rose (*Parapenaeus longirostris*). Le deux première espèces sont présentes dans les aires de vie de *C. conger* avec des densités et des biomasses importantes, alors que la crevette rose est très fréquente avec une densité élevée.

On note également l'association de Phycis de fond (*Phycis blennoides)*, la crevette flèche (*Plesionika heterocarpus)*, le grenadier (*Nezumia aequalis)*, le Squale-chagrin(*Centrophorus granulosus)* et le Pageot commun (*Pagellus erythrinus)*.

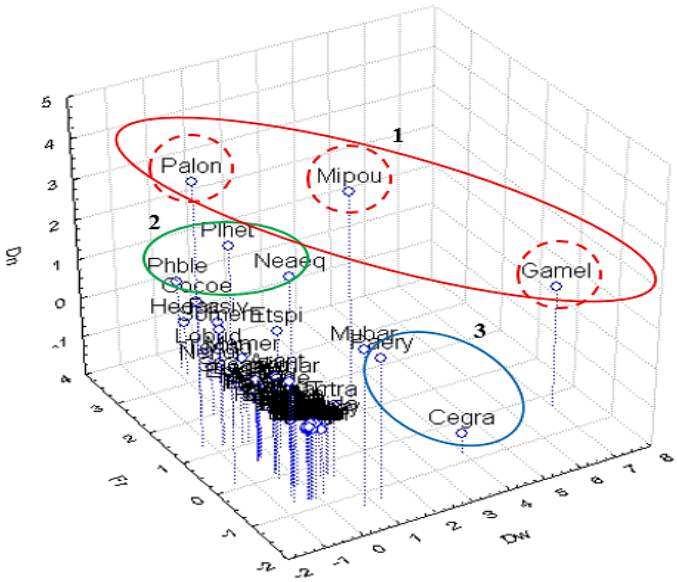


Figure 4. Projection des individus sur les axes retenus

Pour la CAH, le dendrogramme retenu (Lien moyen) est représenté par la figure5. On distingue trois groupes d'espèces. Le premier, composé de *Galeusmelastomus* et de *Micromesistius poutassou*, qui est le plus dissimilaire des autres groupes et représente la distance la plus élevée par rapport aux autres groupes. Il regroupe donc les espèces les plus associées à *C. conger* dans la région Ouest. En effet, *Micromesistius poutassou* est très fréquente et très abondante avec une biomasse importante, tandis que *Galeus melastomus* est très abondante avec un poids important.

Centrophorusgranulosus, *Nezumia aequalis*, *Parapenaeus longirostris* et *Plesionika heterocarpus* forment le deuxième groupe. Elles sont très abondantes avec un poids important : on les considérera comme caractéristiques de ce peuplement. Le dernier groupe est formé des espèces moins caractéristiques de ce peuplement qui sont moins fréquentes avec des densités et des biomasses faibles.

Dans la région Ouest, le congre (*C. conger*) est fortement associé à *Galeus melastomus* et à *Micromesistius poutassou*.On notera également une association de *Centrophorus granulosus*, *Nezumia aequalis, Parapenaeus longirostris* et de *Plesionika heterocarpus*.

Les mêmes analyses ont été effectuées sur les matrices du Centre et de l'Est du bassin algérien afin de déterminer les espèces caractéristiques du peuplement de chaque région.

À partir des deux méthodes d'analyse multidimensionnelles (l'analyse en composantes principales et la classification ascendante hiérarchique) appliquées sur la faune benthique associée à *C. conger* dans les trois régions du bassin algérien, nous avons élaboré le tableau 2, dont le signe + montre l'association d'une espèce donnée à l'espèce cible selon la méthode et la région.

Les deux méthodes mettent en évidence une forte associationdu Squale chagrin (*Centrophorus granulosus*) et de la crevette rose (*Parapenaeuslongirostris*) à l'espèce cible dans les trois régions, suivies du merlu commun (*Merluccius merluccius*)et du merlan bleu (*Micromesistius poutassou*). Cette association semble montrer une proie préférentielle commune entre le congre et le requin chagrin et qui est la crevette rose.

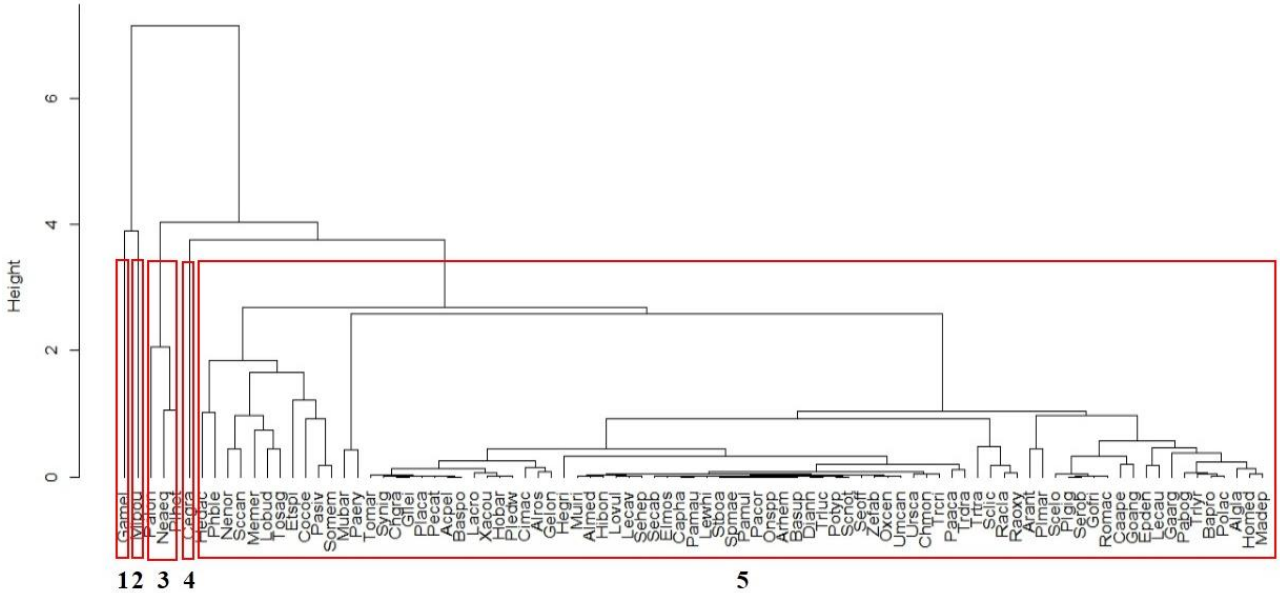


Figure 5. Dendrogramme de la faune associée à *C.conger* dans la région Ouest (lien moyen)

Tableau 2.Espèces associées à *Congerconger* dans le bassin algérien (Thalassa, 1982)

			Ouest		Centre		Est		Bassin algérien
Genre	Espèce	Code	ACP	CAH	ACP	CAH	ACP	CAH	
Galeus	*melastomus*	Gamel	+	+	+				+++
Dentex	*macrophthlmus*	Demac					+	+	++
Merluccius	*merluccius*	Memer			+	+	+	+	++++
Micromesistius	*poutassou*	Mipou	+	+	+	+			++++
Mullus	*barbatus*	Mubar			+		+	+	+++
Pagellus	*acarne*	Paaca			+	+		+	+++
Pagellus	*erythrinus*	Paery	+				+	+	+++

Parapenaeus	*longirostris*	Palon	+	+	+		+	+	+++++
Nezumia	*aequalis*	Neaeq	+	+	+				+++
Plesionika	*heterocarpus*	Plhet	+	+					++
Aristeus	*antennatus*	Arant			+	+	+		+++
Centrophorus	*granulosus*	Cegra	+	+	+	+	+	+	++++++
Galeorhinus	*galeus*	Gagal			+	+			++
Zeus	*faber*	Zefab					+	+	++
Phycis	*blennoides*	Phble	+				+		++
Plesionika	*martia*	Plmar			+				+
Plesionika	*edwardsi*	Pledw					+		+

Conclusion

Nous signalons que les deux analyses multidimensionnelles (ACP et CAH) se sont révélées très utiles pour l'étude des espèces accompagnatrices, car elles tiennent compte simultanément de la densité, de la biomasse et de la fréquence. Ces méthodes mettent en évidence une forte association de *Parapenaeus longirostris* et de *Centrophorus granulosus* à *Conger conger* dans le bassin algérien, suivies de *Merluccius merluccius* et de *Micromesistius poutassou*.

Cependant, Il convient de remarquer que les données récoltées pendant la campagne Thalassa sont ponctuelles ; et pour pouvoir comparer les résultats obtenus il serait judicieux d'étaler la prospection sur des cycles réguliers de plusieurs années, et la prospection doit toucher tous les étages bathymétriques ainsi que tous les types de fonds.

Nous recommandons ainsi d'effectuer de nouvelles campagnes océanographiques afin de les comparer avec Thalassa et Ichthys Joamy (ISTPM, 1982).

Références bibliographiques

CORREIA, A.-T., BARROS, F., SIAL, A.-N., 2011. Stock discrimination of European Conger eel (*Conger conger* L.) using otolith stable isotope ratios. Fisheries Research 108: 88-94.

DIEUZEIDE, R., NOVELLA, M., ROLLAND, J., 1959. Catalogue des poissons des côtes algériennes. Tome II: Osteopterygiens. Bull. trav. Stat. Aquic. Pêche Castiglione 1959 : 299p.

FIGUEIREDO, M.J., FIGUEIREDO, I., CORREIA, J., 1996. Caracterizaçaogeral dos recursos de profundidade em estudo no IPIMAR. RelatorioCientificoTecnico Instituto InvestigaçaoMaritima 21.

FISCHER, W., BAUCHOT, M. L., SCHNEIDER, M., 1987. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche (révision 1). Méditerranée et Mer Noire. Zone de pêche 37. FAO (ed), Vol I : invertébrés : 1-760 et Vol II : Vertébrés : 760-1530

FROESE, R., PAULY, D., 2015. FishBase. World Wide Web electronic puplication. Editors. www. Fishbase.org, version 2015.

ISTPM, 1982. Rapport de mission sur l'évaluation des ressources halieutiques de la marge continentale algérienne. Stocks pélagiques et stocks démersaux exploitables au chalut. Campagne Thalassa, Ichthys, Joamy: 101 p.

QUERO, J.-C., PORCHE, P., 2005. Les poissons de mer. Jean Paul Gisserot (ed), France : 32p.

QUERO, J.-C., VAYNE, J.-J., 1997. Les poissons de mer des pêches françaises. Encyclopédies. Delachaux et Niestlé (ed), Paris : 304p.

SAHI, M. A., BOUAICHA, M., 2003. La pêche artisanale en Algérie. Doc. FAO Copemed : 19p.

WOOD, L., 2011. Faune et Flore Sous-marines de la Méditerranée : Identifier facilement 289 espèces. Delachaux et Niestlé,

Paris : 128p.

Estimation des paramètres de croissance et utilisation d'*Holothuria (Roweothuria) poli* (Delle Chiaje, 1824) comme un bioindicateur de l'enrichissement de milieu en matière organique

Toufik MANSOUR et Karim MEZALI

Laboratoire de protection, Valorisation des Ressources Marines et Littorales et 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, Mostaganem, 27000, Boite postale 300, Algérie

✉ toufik.mansouri@univ-mosta.dz

Résumé

La présente étude porte sur l'étude des caractères biométriques chez l'holothurie aspidochirote *Holothuria (R.) poli* d'une part et d'autre part à évaluer la capacité d'utiliser cette espèce comme un bioindicateur de l'enrichissement de milieu en matière organique. Les individus d'*Holothuria (R.) poli* ont été prélevés au niveau de trois sites de la côte algérienne (Tamentefoust, Sidi-Fredj et Stidia) avec une moyenne de 50 individus par station. Des mensurations ont été réalisées sur chaque individu [La longueur contractée du corps (LC), Poids humide du corps (PHC) et Poids sec du corps (PSC)]. Ces variables ont été utilisées afin de déduire les relations allométriques et pour la différentiation entre les populations de chaque site d'étude. Les résultats des comparaisons de moyennes des caractères biométriques ont montré une forte corrélation positive. De même, Nous avons enregistré une croissance allométrique significativement minorante au sein des trois populations d'*Holothuria (Roweothuria) poli* ($b_0 < 3$; t de Student à $p < 0.05$). Les résultats des analyses multivariées [l'Analyse en Composante Principale (ACP) et l'analyse factorielle discriminante (AFD] confirment l'hétérogénéité des trois groupes. Ces différences sont probablement liées à la richesse du milieu en matière organique et/ou au comportement alimentaire de « deposit feeder » étudié. Les résultats obtenus ont montré aussi que l'espèce *Holothuria (R.) poli* est un bon indicateur de l'enrichissement du milieu en matière organique.

Mots clés : caractères biométriques, *Holothuria (R.) poli*, matière organique, côte algérienne, bioindicateur.

Introduction

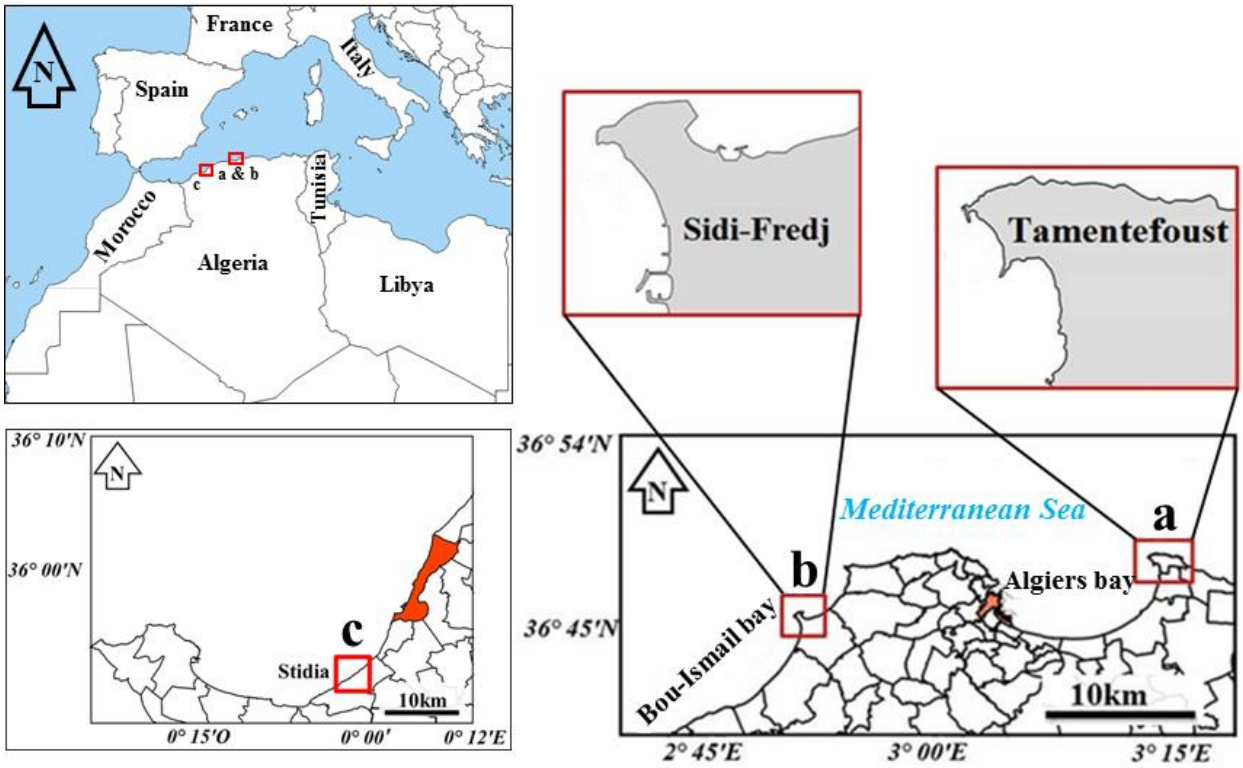
Les holothuries aspidochirotes communément appelées "concombres de mer", sont des invertébrés marins du groupe des échinodermes. On dénombre plus de 1400 espèces qui s'observent dans tous les mers et océans, de la zone littorale aux profondeurs les plus extrêmes(Kerr and Kim 2001). Les holothuries font partie des principaux bioturbateurs du sédiment marin(Uthicke 1999). Elles jouent un rôle clé dans le maintien de l'équilibre des écosystèmes marins par un recyclage continu des nutriments, la stimulation de la croissance des algues, et elles contribuent à la régulation de la teneur en carbone et le pH de l'eau de mer(Purcell et al. 2016). De nos jours, on a constaté un intérêt accru pour cette ressource benthique et une expansion des pêcheries d'holothuries dans le monde (González-Wangüemert et al. 2016). En effet, en réponse à la forte demande du marché chinois, quelques pays de l'Est de l'Atlantique et de la mer Méditerranée (Portugal, Espagne, Turquie, Italie et la Grèce)ont développé cette activité(Marquet et al. 2017). Dans les pays du Maghreb l'exploitation des holothuries est inexistante sauf pour la Tunisie où nous avons enregistré des propositions afin de commercialisés ces espèces.En effet (Ben Mustapha and Hattour 2016) ont proposé en première approche une limite commerciale de 50 concombres de mer par jour, pendant seulement trois mois de l'année. Selon ces deux auteurs Tunisienscette proposition conservatrice, pourrait être revue une fois qu'ils disposeront de plus d'informations sur l'impact écologique des prélèvements.D'un autre coté ces espèces n'ont pas encore été exploitées en Algérie, malgré la longue bande côtièreque dispose notre pays. Cela est dû d'une part à l'absence des lois et des arrêtés ministériels

régulant l'exploitation des holothuries et d'autres part,ces espèces ne figurent pas parmi les produitsexposés dans le marché Algérien. Cependant, Il est à noter que des pêches illicites et destructives des holothuries ont été signalé lors de la réalisation de ce travail.

Dans la présente étude, nous avons étudié les caractéristiques biométriques de trois populations d'*Holothuria (Roweothuria) poli* vivant dans trois sites contrastés de la côte algérienne. Nous avons aussi évalué la capaciter de l'utilisation de cette espèce comme un bioindicateur de l'enrichissement desmilieux en matière organique.

Matériel et méthodes

Les individus d'*Holothuria (R.) poli* ont été prélevés dans trois stations de la côte algérienne [Tamentefoust, Sidi Fredj et Stidia (Fig.1)]. L'échantillonnage a été réalisé en apnée sur une profondeur qui varie entre -0.5 et 4 m de fond. Unensemble de 50 individus a été récolté au niveau de chaque site. Au laboratoirela longueur contractée du corps (LC) de chaque individu a été mesuréeà l'aide d'une règle d'une précision de 0.5 cm. Après mesure, les individus récoltés ont été disséqués et vidés de leur tube digestif, rincés et lavés, puis pesés afin de déterminer le poids humide du corps (PHC) à l'aide d'une balance d'une précision de 0.1mg. Ensuitele poids sec a été obtenu après un séchage dans une étuve à 105°C pendant 24 heures. Le tractus digestif n'a pas été pris en considération lors des pesés. Il est rempli de sable ce qui va fausser nos résultats. Dans le cas des holothuries la paroi du corps représente la majorité du poids de l'individu parce que la paroi de l'intestin est fine et les viscères ont un poids insignifiant(Mezali 2001).



Tamentefoust; **b** : Sidi-Fredj ; **c** : Stidia.

Caractères biométriques et analyse statistique

Les relations taille-poids ont été déduites pour chaque population selon la formule $PHC = a\,LC^b$(Keys 1928), où « a » est une constante et « b » est la pente de la régression ou le coefficient d'allométrie. Après une transformation logarithmique, l'équation de la loi d'allométrie s'écrit :

$$Ln\,PHC = Ln\,a + b\,Ln\,LC$$

Les relations allométriques ont été utilisés pour déterminer si la croissance d'*Holothuria (R.) poli* était isométrique ou allométrique(Ricker 1973). La signification de la régression a été évaluée par la statistique F. Afin de déterminer la nature d'allométrie, nous avons comparé la valeur observée de la pente (b_0) à la valeur théorique [b =3](Sokal 1995).Dans ce cas-là, trois situations peuvent se présenter. Quand $b_0 = 3$, la croissance est isométrique, Si $b_0 < 3$: la croissance est minorante et Si $b_0 > 3$, la croissance est majorante. Dans le cas d'isométrie, les proportions du corps croissent de la même façon. Cependant, dans les deux derniers cas, la croissance d'un paramètre est proportionnellement inférieure ou supérieure à la croissance du caractère de référence.Nous avons réalisé uneanalyse de variance multivariée (MANOVA).Le lambda de Wilks est l'indicateur privilégié pour l'évaluation statistique du modèle. Il varie entre 0 et 1 : vers 0, le modèle sera bon parce que les nuages sont bien distincts ; vers 1, les nuages sont confondus. Cette statistique a été calculée par l'approximation du Rao(Rao 1951). Cependant avant de lancer une MANOVA nous avons tester la normalité multidimensionnelle et l'égalité des matrices de covariance. Pour cela un test d'Anderson–Darling(Anderson and Darling 1952) et le M de Box ont été employés. Concernant l'analyse exploratoire multivariée les trois paramètres (PHC, PSC, LC) ont été utilisés pour réaliser une analyse en composante principale (ACP) suivi d'une analyse factorielle discriminante (AFD). Toutes les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel R version 3.5.1.

Résultats

Tableau 1 : Relations biométriques et test d'allométrie établis à partir des paramètres mesurés pour l'espèce *Holothuria (R.) poli*au niveau des stations étudiées

Espèces	Stations	LC	PHC	a	b_0	r	t	F	p
H. (R.) poli	Tamentefoust	132.10	96.68	11.39	0.44	0.56	4.73	22.39	0.00002
	Sidi-Fredj	93.78	32.84	0.0057	1.89	0.63	5.63	31.67	0.0000009
	Stidia	130.42	67.44	2.40	0.68	0.48	3.80	14.44	0.0004
Equation	**Tamentefoust** PHC=11.39 $LC^{0.44}$			**Sidi Fredj** PHC=0.0057 $LC^{1.89}$				**Stidia** PHC=2.4 $LC^{0.68}$	

Test d'allométrie

Station	B	Estimation (b_0)	t	ddl	p	type de croissance
Tamentefoust	3	0.44	-27.71	48	0.000000	Allométrie minorante
Sidi-Fredj	3	1.89	-3.26	48	0.002	Allométrie minorante
Stidia	3	0.68	-12.90	48	0.000000	Allométrie minorante

Tableau 2 : Test du MANOVA

Statistique	Valeur	p
Lambda de Wilk	0.0609	-
Rao--F (6 ; 290)	147.39	0.00000000

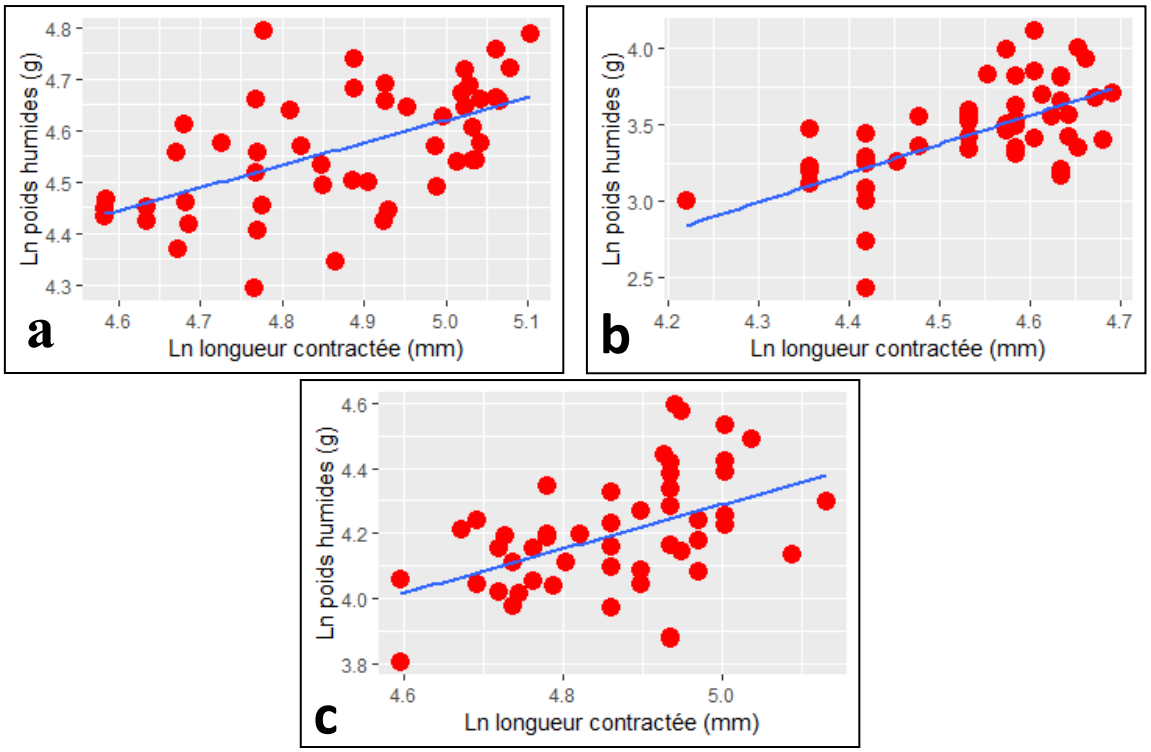


Figure 2 : Relation taille-poids chez l'espèce *Holothuria (R.) poli*. **a** : station de Tamentefoust; **b** : station de Sidi-Fredj ; **c** : station de Stidia.**Figure 1 :** Les stations d'échantillonnage. **a** :

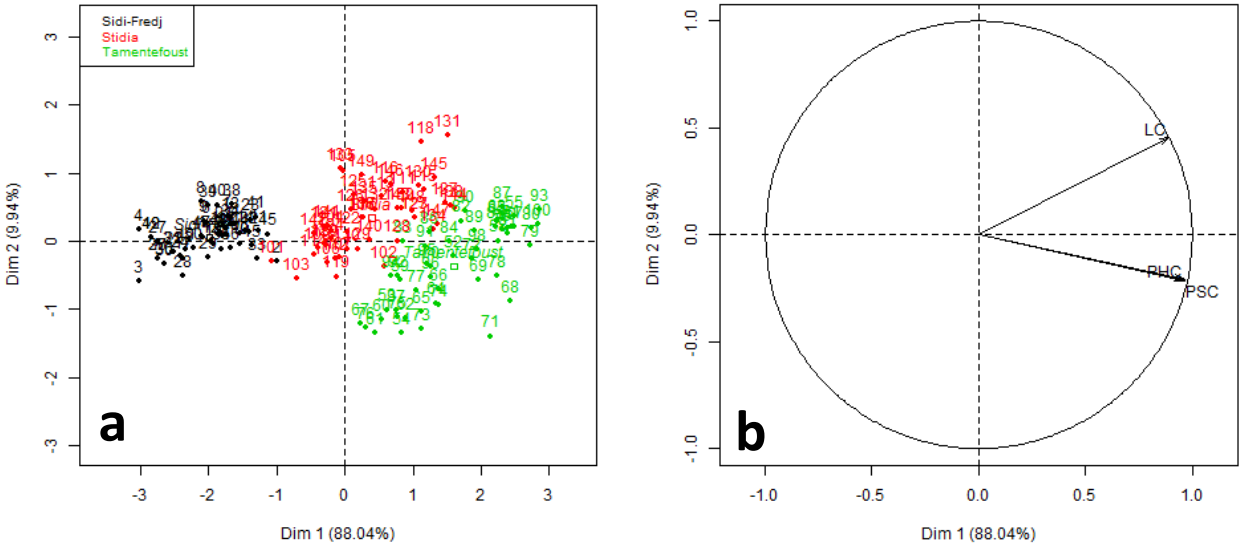


Figure 3 : Analyse en composante principale (ACP). **a** : graphe des individus ; **b** : graphe des

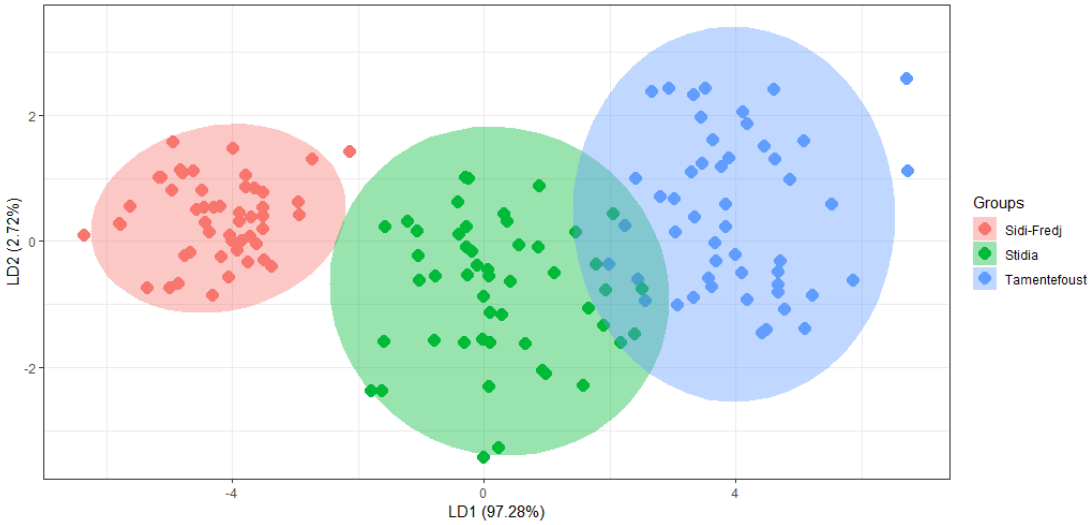


Figure 4 : Analyse factorielle discriminante (AFD).

Tableau 3 : Matrice de confusion pour l'échantillon d'estimation.

Groupe	Pourcentage de reclassement correct	Tamentefoust	Sidi-Fredj	Stidia
Tamentefoust	98%	49	0	1
Sidi-Fredj	100%	0	50	0
Stidia	96%	2	0	48
Total	98%	51	50	49

Discussion

Au niveau des trois stations (Tamentefoust, Sidi Fredj, Stidia) nous avons constaté une allométrie significativement minorante (Fig. 2, Tab.1). Le poids du corps croit moins vite que sa taille. La pente b_0 dans les trois sites est significativement inférieure au coefficient d'isométrie b=3 [t de Student à p< 0.05, Tab.1]. L'étude biométrique a aussi révélé une bonne corrélation entre les deux variables LC et PHC au niveau des trois stations [(r= 0.56 ; r =0.63 et r=0.48 à p< 0.05) ; Tab.1)].

D'ailleurs, Des relations d'allométries minorantes ont été aussi signalés dans des études ultérieures chez la même espèce(Francour 1990; Mezali 2001; Mezali et al. 2006)et chez d'autres espèces d'holothuries(Bulteel et al. 1992; Conand 1993; Herrero-Pérezrul et al. 1999; Kazanidis et al. 2014; Poot-Salazar et al. 2014; Marquet et al. 2017). Où cette allométrie négative a été expliqué par la forme cylindrique du corps des holothuries(Conand 1989).

Le premier axe de l'ACP explique 88.04% de l'inertie totale, le deuxième axe 9.94, donc le premier plan explique 97.98 de l'inertie totale (Fig.3). On remarque que le premier axe sépare les nuages de points (Fig.3). On constate que les trois variables (PHC, PSC et LC) sont très corrélées positivement à l'axe 1 (R^2 =0.94 ; 0.96 et 0.89 à p<0.00 pour les trois variables respectivement).

Les résultats obtenus ont montré qu'il existe une différence hautement significative entre les stations étudiées en prenant en compte les trois variables (PHC, PSC et LC) [MANOVA à p<0.0000 (Tab.2 ; Fig. 4)]. La normalité a été vérifié par le test d'Anderson–Darling à p>0.05. Alors que l'homoscédasticité des matrices de covariance des groupes a été vérifiée par le test de M de Box à p<0.05.Le lambda de Wilk est très petit (Λ= 0.0609). Cette valeur indique que le modèle discriminant est très bon (Tab. 2 ; Fig. 4).

Cette variation entre stations est probablement due à la proportion d'eau contenue dans la paroi du corps des individus, à la particularité de chaque site ou à la propriété du concombre de mer étudié. En effet, Tamentefoust est située dans la baie d'Alger (Fig. 1). Elle est considérée comme une zone fortement polluée(Bachari 2009).Cette zone est principalement contaminée par différentes sources de pollution et soumise à plusieurs types de rejets urbains et industriels (Bachari 2009). En effet, Il a été démontré dans les travaux de (Mezali 2004; Mezali and Soualili 2013) que le site pollué de Tamentefoust est très riche en matière organique. Selon ces deux derniers auteurs le taux de la matière organique (MO) trouvée dans le tractus digestif *d'Holothuria (R.) poli* était de 6.67% Contre 2.49% au niveau de Sidi-Fredj. En addition *Holothuria (R.) poli*, a tendance à sélectionner de manière préférentielle les fractions de sable fin et très fin du fait de leurs richesses en matières organiques(Belbachir et al. 2014).Tout cela est en accord avec la théorie de l'"Optimal Foraging" des déposivores ; le sédiment est sélectionné bien avant d'être ingéré, avec comme critère de sélection la taille des particules sédimentaires(Belbachir et al. 2014). C'est pour cette raison que les individus échantillonnés au niveau de la station de Tamentefoust ont un poids (PHC et PSC) plus important par rapports les individus collectés au niveau de la station de Sidi Fredj (Fig. 1). La disponibilité de la Matière organique au niveau de Tamentefoust stimule l'espèce *Holothuria (R.) poli* à avoir un poids important. L'AFD support ce résultat, le nuage des points des individus de Sidi-Fredj est bien séparé de deux autres nuages (Tab.2 ; Fig. 4). La matrice de confusion confirme ce résultat avec un taux de reclassement correcte de 100% (Tab.3). La station de Stidia semble avoir une place intermédiaire (Fig. 4). Elle est aussi caractérisée par des individus qui ont des poids humides et sec importants. Le nuage du point des individus de cette station converge vers ce de Tamentefoust (Fig. 4). Le taux de reclassement correct est de 96% où deux individus de ce site ont été reclasser comme des individus du site de Tamentefoust (Tab. 3). Même remarque pour le site de Tamentefoust où un individu a été mal classé (98% ; Tab.3).

Malgré que le site de Stidia soit exposé à l'hydrodynamisme mais il est riche en MO. Ce résultat corrobore avec ceux obtenus par (Belbachir et al. 2014). Où le taux de MO contenu dans le tractus digestif d'*Holothuria (R.) poli* était de 7.45%. Ce résultat explique la dominance d'*H. (R.) poli* au niveau de la station de Stidia. Par conséquent on peut considérer l'espèce *Holothuria (R.) poli* comme un indicateur de l'enrichissement du milieu en matière organique.

Conclusion

Cette étude nous adonnée des indications générales sur les relations biométriques qui existent chez l'espèce *Holothuria (R.) poli* au niveau de trois stations contrastées de la côte algérienne (Tamentefoust, Sidi Fredj et Stidia).Nous avons enregistré des allométries minorantes et une bonne corrélation entre les paramètres mesurés (longueur contractée et poids humide des individus).Nos résultats des relations allométriques corroborent avec ceux des études antérieures réalisées sur la même espèce et sur d'autres espèces d'holothuries.

Les résultats de l'analyse statistique multidimensionnelles (ACP et AFD) ont montré des différences significatives entre les stations. Ces différences sont probablement liées à la richesse du milieu en matière organique et/ou au comportement alimentaire de « deposit feeder » étudié. Il s'est avéréque l'espèce *Holothuria (R.) poli* est un bon indicateur de l'enrichissement du milieu en matière organique.

Références Bibliographiques

Anderson T.W. & Darling D.A. (1952) Asymptotic Theory of Certain "Goodness of Fit" Criteria Based on Stochastic Processes. *Ann. Math. Statist.***23**, 193-212.

Bachari H. (2009) Modélisation et cartographie de la pollution marine et de la bathymétrie à partir de l'imagerie satellitaire. Université Paris-Est.

Belbachir N.-E., Mezali K. & Soualili D.L. (2014) Selective feeding behaviour in some aspidochirotid holothurians (Echinodermata: Holothuroidea) at Stidia, Mostaganem Province, Algeria.

Ben Mustapha K. & Hattour A. (2016) DENSITE ET DIVERSITE DES HOLOTHURIES DE LA ZONE LAGUNAIRE DU SUD DU PORT DE SIDI DAOUD (TUNISIE). *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô***43**.

Bulteel P., Jangoux M. & Coulon P. (1992) Biometry, Bathymetric Distribution, and Reproductive Cycle of the Holothuroid *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) from Mediterranean Sea grass Beds. *Marine Ecology***13**, 53-62.

Conand C. (1989) Les holothuries aspidochirotes du lagon de Nouvelle-Calédonie :biologie, écologie et exploitation. In: *Université de Bretagne Occidentale : Brest*, p. 393. ORSTOM, Paris.

Conand C. (1993) Ecology and Reproductive Biology of *Stichopus Variegatus* an Indo-Pacific Coral Reef Sea Cucumber (Echinodermata: Holothuroidea). *Bulletin of Marine Science***52**, 970-81.

Francour P. (1990) Dynamique de l'écosystème à *Posidonia oceanica* dans le parc national de Port-Cros : analyse des compartiments matte, litière, faune vagile, échinodermes et poissons. p. 373 f.

González-Wangüemert M., Valente S., Henriques F., Domínguez-Godino J.A. & Serrão E.A. (2016) Setting preliminary biometric baselines for new target sea cucumbers species of the NE Atlantic and Mediterranean fisheries. *Fisheries Research***179**, 57-66.

Herrero-Pérezrul M., Reyes Bonilla H., García-Domínguez F., Cintra-Buenostro & C.E (1999) Reproduction and growth of *Isostichopus fuscus* (Echinodermata Holothuroidea) in the southern Gulf of California, México. *Marine Biology***135**, 521-32.

Kazanidis G., Lolas A. & Vafidis D. (2014) Reproductive cycle of the traditionally exploited sea cucumber *Holothuria tubulosa* (Holothuroidea: Aspidochirotida) in Pagasitikos Gulf, western Aegean Sea, Greece. *Turkish Journal of Zoology***38**, 306-15.

Kerr A. & Kim J. (2001) Phylogeny of Holothuroidea (Echinodermata) inferred from morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society***133**, 63-81.

Keys A.B. (1928) The Weight-Length Relation in Fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America***14**, 922-5.

Marquet N., Conand C., Power D.M., Canário A.V.M. & González-Wangüemert M. (2017) Sea cucumbers, *Holothuria arguinensis* and *H. mammata*, from the southern Iberian Peninsula: Variation in reproductive activity between populations from different habitats. *Fisheries Research***191**, 120-30.

Mezali K. (2001) Biométrie des holothuries aspidochirotes (HOLOTHUROIDEA : ECHINODERMATA) de la presque île de Sidi-Fredj Algérie. The Mediterranean Science Commission, Monaco-France.

Mezali K. (2004) Feeding behaviour of Holothuria tubulosa and Holothuria polii of Tamentefoust area–Algeria. p. 535. Rapport et PV de la Commission international pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée, Barcelona (Spain)

Mezali K. & Soualili D.L. (2013) The ability of holothurians to select sediment particles and organic matter.

Mezali K., Zupo V. & Francour P. (2006) Population dynamics of *Holothuria (Holothuria) tubulosa* and *Holothuria (Lessonothuria) polii* of an algerian *Posidonia oceanica* meadow. *Biologia Marina Mediterranea***13**, 158–61.

Poot-Salazar A., Hernández-Flores Á. & Ardisson P.-L. (2014) Use of the SLW index to calculate growth function in the sea cucumber *Isostichopus badionotus*. *Scientific Reports***4**, 5151.

Purcell S., Conand C., Uthicke S. & Byrne M. (2016) Ecological roles of exploited sea cucumbers. *Oceanography and Marine Biology : An Annual Review***54**, 367-86.

Rao C.R. (1951) An asymptotic expansion of the distribution of Wilks' criterion. *Bulletin of the International Statistical Institute***33**, 177-80.

Ricker W. (1973) Linear regressions in fishery research. *Journal of the fisheries board of Canada***30**, 409-34.

Sokal R.R. (1995) Biometry : the principles and practice of statistics. *Biological Research*.

Uthicke S. (1999) Sediment bioturbation and impact of feeding activity of *Holothuria (Halodeima) atra* and *Stichopus chloronotus*, two sediment feeding holothurians, at Lizard Island, Great Barrier Reef. *Bulletin of Marine Science***64**, 129-41(13).

Incidence du microbisme sur la productivite aviaire dans la filiere chair

SAIDANE Zohra[1, 3], BAHRI Fouad[2]

1- Laboratoire de physiologie animale appliquee -lpaa- departement des sciences agronomiques
2- Laboratoire de microbiologie et biologie vegetale. Universite de Mostaganem
3- Laboratoire de recherches des sciences et techniques de production animale de l'université de Mostaganem

Résumé
Cette étude a été inspirée des problèmes rencontrés dans l'industrie avicole et illustre l'importance des connaissances techniques, hygiénique et sanitaires vis-à-vis des germes nuisibles en vue d'améliorer la santé des animaux et par conséquent la rentabilité de l'élevage. Ce travail vise à mieux décrire les nuisances des germes recherchés dans l'air et les surfaces à savoir les salmonelles, les entérobactéries les staphylocoques et pseudomonas sur la viabilité du cheptel, le taux de ponte et l'eclosabilité des OAC au couvoir.

Cent quatre vingt quatre prélèvements ont été isolés sur les différents niveaux de la chaîne de la filière chair (centre d'élevage, de reproduction et le couvoir),et il en ressort de cette étude que, La chute de production de poussins est le fait d'une baisse de production d'OAC cumulée, à une baisse de fertilité des œufs et à des mortalités embryonnaires suite à une circulation des germes pathogènes ayant une influence sur la viabilité des poussins.

Mots clès : l'industrie avicole, le microbisme, le taux de ponte et le taux d'éclosion des OAC.

I-Introduction

L'industrie avicole est l'une des solutions intéressantes pour répondre aux besoins en protéines animales, toutefois, il reste qu'elle connaît souvent des pertes (mortalités en poulets) et des contre performances trop importantes parfois calamiteuses; compromettent la rentabilité et la qualité des productions. Les maladies infectieuses, virales ou bactériennes, entraînent chez les reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus* des altérations des caractéristiques de l'œuf. Simultanément, la fertilité des coqs peut également diminuer de même que l'éclosabitité, et l'incubation peut être accompagnée par une mortalité embryonnaire élevée. La transmission des virus ou des bactéries a lieu au niveau de l'ovule ou par la contamination de la surface de l'œuf. En effet, durant la production, les couvoirs passent à travers un cycle de contamination qui peut se produire très tôt dès l'arrivée des OAC des fermes ou lorsqu'ils sont placés dans les incubateurs. Lors du transfert, l'environnement devient contaminé aussitôt que les œufs sont retournés, à l'éclosion et lorsque les poussins sont manipulés (vaccinations - mise en carton - livraison) (Itavi, 2003).

L'environnement des centres d'élevage, de reproduction et des couvoirs sont directement concernés par une large population de microorganismes, représentée par des virus, des champignons et surtout des bactéries. C'est dans ce contexte que cette étude a été conçue et l'objectif est de chercher les bactéries pathogènes à travers l'isolement, la purification et l'identification dans l'air et les surfaces au niveau des centres de production et de mesurer leur impact sur la productivité et sur les taux moyens d'œufs éclos.

II-Matériel et méthodes

L'approche de notre travail s'est faite sur 02 volets :

- Le premier concerne le montage du protocole qui nous conduit à avoir suffisamment d'informations relatives à l'ambiance des élevages des reproducteurs, des œufs à couver et à leur mode d'incubations et d'éclosion au couvoir.

- Le second est purement bactériologique, c'est-à-dire utilisation d'un protocole de laboratoire pour déterminer le niveau de contamination bactérienne de l'air ambiant et des surfaces afin d'évaluer leurs impact sur la productivité et le taux d'éclosabilité des OAC au niveau du couvoir.

Les germes recherchés dans cette étude sont :

- Les Entérobactéries (Avec identification des E.coli) ;
- Les Staphylocoques (Avec recherche et identification *de Staphylococcus aureus*) ;
- Les Salmonelles ;
- Les Pseudomonas (Avec identification des pyocyanine et pyoverdine).

La période d'expérimentation s'est étalée du mois d'avril au mois de juin 2018, réalisée sur les exploitations avicoles du secteur public filière chair situées à la périphérie de la commune de Mostaganem et se répartissant comme suit :

A-Centre d'élevage des reproducteurs l'URC:

Abritant la bande n°35, l'effectif global à cet âge de 19 semaines est de 33946 sujets, repartis sur 06 bâtiments. L'élevage est une phase de préparation des poulettes à la production, elle s'étale du premier jour jusqu'à les 20-22 semaines d'âge suivant la souche étudiée (Turdu, 1981).

B- C**entre de reproduction**:

Logeant deux lots de poulets de chair

Premier lot : Agé de 46 semaines, l'effectif est de l'ordre 17335repartis sur 3 bâtiments ;

Deuxième lot : Agé de 44 semaines, le nombre est de 16557 repartis sur 3 bâtiments.

Cette phase de reproduction s'étale de la maturité sexuelle jusqu'à la réforme, sa durée varie en fonction de la date d'entrée en ponte.

C-Couvoir poussins type chair: Doté d'une salle de réception d'OAC, une salle servant de préchauffage et de stockage ,de 18 incubateurs, de 3 éclosoirs dont la capacité maximum est de 50400 œufs , et d' une salle servant à la fois de tri de Poussins, de vaccination et d'expédition).

Un questionnaire est établi pour chaque type d'exploitation où sont relevées les informations qui nous permettent d'établir des appréciations des qualités du nettoyage et de la désinfection mais aussi des mesures de sécurité sanitaire prises.

Echantillonnage :

Pour l'air ambiant**,** la technique consiste à ouvrir (exposer à l'air libre) des boites de Pétri contenant des milieux de culture sélectifs pour chaque bactérie recherchée pendant 10 minutes (Tber et *al*., 1994). Les milieux utilisées sont gélose de Chapman, gélose Hektoen, milieu SS, gélose King A et gélose King B, gélose VRBG pour Staphylocoques, Salmonelles, Pseudomonas et Entérobactéries respectivement. Les boites sont identifiées à l'aide d'un marqueur indélébile, cinq boites par bâtiment contenant chacune un des milieux sus cités.

Pour les surfaces, les prélèvements ont été faits selon la technique du frottis par écouvillon en coton frotté contre la surface à contrôler. L'écouvillon est alors récupéré dans un tube à essai contenant 5 ml de bouillon nutritif pour tous

les prélèvements réalisés dans les trois centres. Les tubes à essai sont identifiés à l'aide d'un marqueur indélébile pour chaque surface prélevée. (Maris, 1988 ; AFSCA, 2002).

Les boites de Pétri ayant été utilisées pour le contrôle bactériologique de l'air seront mises par piles (propres à chaque compartiment) dans des sachets stériles. Les tubes à essai contenant les écouvillons sont mis dans un portoir. Le tout est transporté le plus tôt possible dans une glacière munie de plaques eutectiques (au total 06 plaques). Toutes les exploitations se trouvent dans un rayon allant de 20 à 30 Km du lieu des analyses.

Au laboratoire, Les boites de Pétri ayant servi au contrôle bactériologique de l'air sont dores et déjà mises à l'étuve (incubation à 37°C pendant 24 heures).Les écouvillons sont également traités le jour même du prélèvement (AFSCA, 2002).

Chaque écouvillon est soumis à une agitation mécanique vigoureuse type Vortex pendant un temps précis de 30 secondes puis ensemencé sur un milieu sélectif pour chaque germe recherché, quant aux salmonelles, leurs ensemencement a été fait après un enrichissement sur un milieu sélectif liquide (Humbert et Morvan, 1996), le tout est incubés à 37°C pendant 24h.

Après l'incubation, les colonies isolées font objet d'un examen macroscopique (dimension, forme….). On procède par la suite à une purification par la méthode de stries en cas de contamination.

Après coup, un examen microscopique, biochimique (galeries biochimiques classiques) sont accomplis.

Les souches de salmonelles suspectées sont soumises aux épreuves d'agglutination rapide sur lames à l'aide des sérums appropriés. Nous avons utilisé les tests aux sérums mélanges anti-O, les tests au sérum monovalent anti-O_9 et les tests au sérum anti-H (gm) (composition des sérums poly et monovalents).

III-Résultats et discussion :

III.1-Unité d'élevage l'URC:

III.1.1-Analyse physique:

D'après les renseignements assignés et fournis par le chef de centre, le cheptel de poussins a été, dés sa réception, correctement pris en charge, Conformément au guide technique de la souche, avec une prophylaxie hygiénique et sanitaire bien appliquée.

Selon (**figure 1)** le centre d'élevage enregistre un taux de mortalité cumulé élevé durant la 1ere et la 2eme semaine qui est de 1,25% et 1,29% respectivement. L'hypothèse probable s'explique par un tas de stress qu'a pu subir le cheptel de poussins depuis les éclosoirs, jusqu'à la MEP. Evidement ces interventions affectent sur la qualité physique des poussins sans négliger le risque d'une éventuelle contamination microbienne au couvoir.

A la naissance, les poussins possèdent un système immunitaire immature qui les prédispose pendant les premiers jours de leur vie à une colonisation rapide de 6-12 heures, complète à 15 jours et permanente durant toute la vie de

l'oiseau par divers micro-organismes, commensaux ou pathogènes (Humbert et *al*., 1986). Puis un rétablissement normatif règne sur le centre. C'est à partir de la 15éme semaine qu'on observe de nouveau une hausse calamiteuse en mortalité avec un pic à la 17 eme semaine. Le bâtiment 6 enregistre rien qu'à son niveau un taux de mortalité de 2,43%.

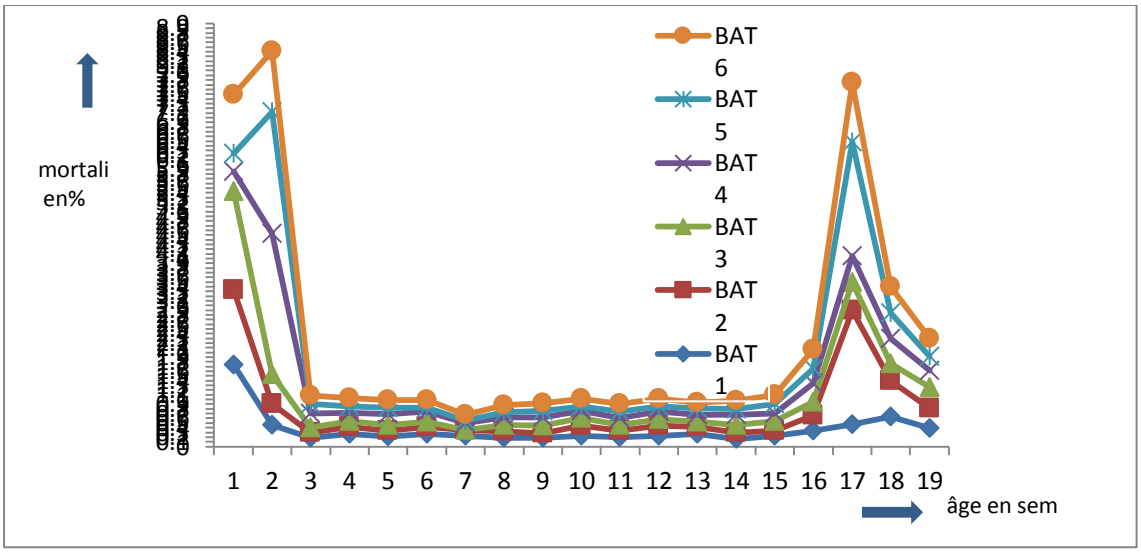


Figure 1 Taux de mortalité au niveau du centre d'élevage depuis la MEP.

*Lors de notre passage au centre à la 19 sem d'âge on a soulevé un tx de mortalité cumulé de 7,1%. (**Tableau 1**). On a remarqué aussi une dégradation de la litière qui présente un milieu favorable au développement de micro-organismes et d'insectes (Ernst et *al*, 1998) qui peuvent assurer le transport passif de nombreux germes (virus, bactéries, parasites) voire être des hôtes intermédiaires pour des parasites (cestodes) ce explique le tx élevé des cas de coccidiose observés sur place. On a noté aussi un taux d'ammoniac très accentué (surtout les bâtiments 3-6), des cas de torticolis, boiteries et des paralysies des pattes, les sujets atteints restent cloués au sol et ébouriffés au centre de reproduction (soupçon d'un passage viral (Newcastle)).

Tableau 1 : le taux de mortalité cumulé au niveau de centre d'élevage **:**

Bâtiments	NOMBRE D'EFFECTIF MEP	NOMBRE DE MORTALITE CUMULE	TAUX DE MORTALITE CUMULE %
BAT 1	5929	408	6,88
BAT 2	5817	387	6,65
BAT 3	5921	447	7,55
BAT 4	5870	359	6,12
BAT 5	4864	476	7,32
BAT 6	6542	521	7,96
TOTAL	36580	2598	7,10

L'enlèvement des mortalités se fait par semaine, leurs présences sur la litière et au contact des sujets sains est une source potentielle de contamination.

Les Chiens et chats présents dans les parages excrètent le Paramyxovirus pendant 3 jours après l'ingestion de carcasses de volailles contaminées (Villate, 1998c) (le risque de la Newcastle est probant).

Selon l'étude de Rachidi-Sidhoum et Brugere-Picoux, 1992, les *staphylocoques aureus* provoquent des arthrites et des synovites fréquentes chez le poulet entre 7 et 12 semaines.

Les rats et les souris rongent et consomment tout. Ils souillent ce qu'ils ne mangent pas, le rendant ainsi impropre à la consommation (Aubry-Roces et *al.*, 2001). Ils sont des vecteurs excréteurs de bactéries notamment Salmonella spp (Davies et Breslin, 2003) Campylobacter (Pearson, 1996), E. coli (Ordeur et Mainil, 2002).

Face à ce constat clinique, nous nous sommes incités à réaliser des analyses bactériologiques pour mettre en évidence les germes pathogènes tels que les entérobactéries, les salmonelles et les staphylocoques responsables entre autres de cette mortalité.

III.1.2-Analyses bactériologiques

Soixante cinq prélèvements d'air et des surfaces, ont été analysés au sein du centre d'élevage de la SPA. Les résultats obtenus des examens macroscopiques, microscopiques et les tests biochimiques des échantillons prélevés de l'air, montrent une contamination aérienne par les germes recherchés sauf les salmonelles qu'on n'a pas pu l'isoler. Cette contamination est en relation directe avec le niveau d'empoussièrement très élevé à l'intérieur des bâtiments qui est en relation avec la densité des animaux. Ces poussières issues en grande partie de l'agitation de la litière par l'activité des animaux. Les poussières peuvent être des vecteurs d'agents pathogènes (Poss, 1998).

Les résultats, obtenus des examens macroscopiques, microscopiques et les tests biochimiques des échantillons prélevés des surfaces, révèlent que la contamination était plus importante pour la litière suivie des parois des bâtiments (pleins de poussières ce qui explique la charge microbienne), puis les mangeoires et en fin les abreuvoirs. Nos résultats vont dans le même sens que les résultats obtenus par Sauter et *al.,* (1981).

La concentration microbienne était en relation directe avec le niveau d'empoussièrement et la concentration en ammoniac. Ces résultats ont été rapporté par Wathes et *al.,* 1991).

III.2-Centre de reproduction :

III.2.1-Analyse physique :

Les courbes de ponte collectées ont été comparées à une courbe de ponte théorique proposée par le fournisseur de la souche HUBBARD F15

En matière de flux physique, il a été noté au niveau du lot1 (**figure 2**), l'entrée des reproductrices en ponte est peu timide au début puis se décroche visiblement au dessus de la courbe théorique, ceci est dû selon le constat assigné par le chef de module à une maturité sexuelle précoce des mâles. On soulève également un taux de mortalité cumulé à cet âge 46 semaines de 0,68% chez les mâles et de 0,31% chez les femelles ce qui est normatif conformément à l'âge actuel, il est bon de signalé que ce lot connait une fluctuation en mortalité des mâles depuis le transfert au centre.

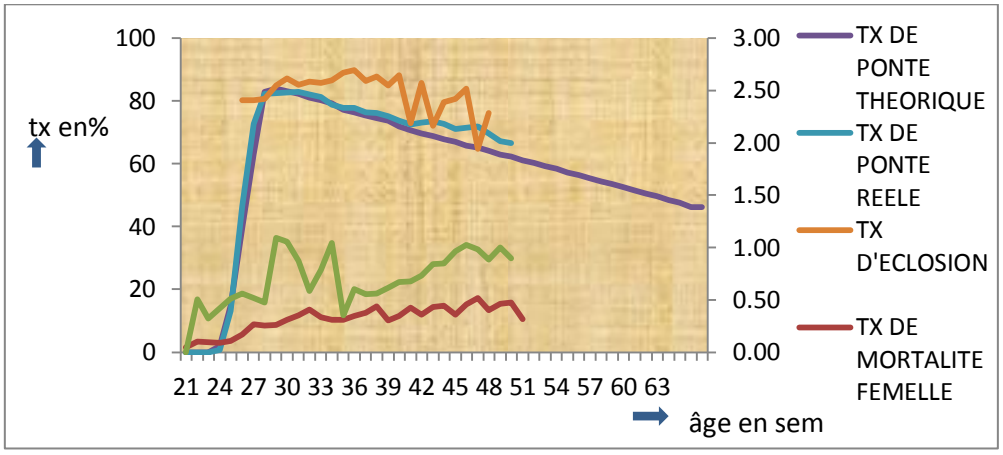


Figure 2. Les performances globales des poulettes reproductrices du lot 1.

Quant au lot 2 dont la courbe de ponte entre peu avant puis s'éloigne de la courbe théorique sans quelle puisse atteindre le pic, reste une majeure partie de la saison de ponte en dessous de la courbe théorique (**figure 3**).

Il a été noté que :

- la quantité d'œufs à couver produite par les reproductrices du lot 2 et subissant un taux de mortalité hebdomadaire en moyenne de 0,11%, a été comparée à celle théoriquement produite, suivant une courbe de ponte, est considérée comme une perte en OAC, engendrée par :

- des épisodes de chute de ponte, en somme 5chutes, observées sur des périodes différentes depuis l'entrée en ponte (24 S) jusqu'à 48S :

la première chute a été relevée à 28 S, suivie d'autres à (32-33S), (35-36S), (38-40S) et (43-48S) avec un écart d'une moyenne de 4,6% de la ponte théorique.

-Les chutes récidives sont compatibles avec une hypothèse infectieuse de part leurs apparition récurrente. Après notre passage sur les lieux pour les prélèvements, une chute conséquente en ponte, a été enregistrée, la production globale en OAC affiche des taux en deçà en moyenne de 7,01% comparé à celle théoriquement produite ce qui suggèrerait à penser dans ce cas une circulation d'un agent pathogène par vagues. Mais le fait que ces reproducteurs étant tous vaccinés contre de nombreux pathogènes au cours de leur période d'élevage plus les traitements misent en place ont le plus souvent été suivi d'une baisse de la proportion de sujets atteints, une atténuation des signes cliniques qu'aurait engendré l'infection par un pathogène spécifique ne peut être exclue.

-L'hypothèse d'une cause technique grave (coupure d'éclairage, d'alimentation, d'eau, stress intense) peut être prise aussi au sérieux dans ce type de chutes de ponte car elle provoquerait des pertes sévères, d'apparition brutale et peu durable, ce qui explique dores et déjà le redressement de la courbe.

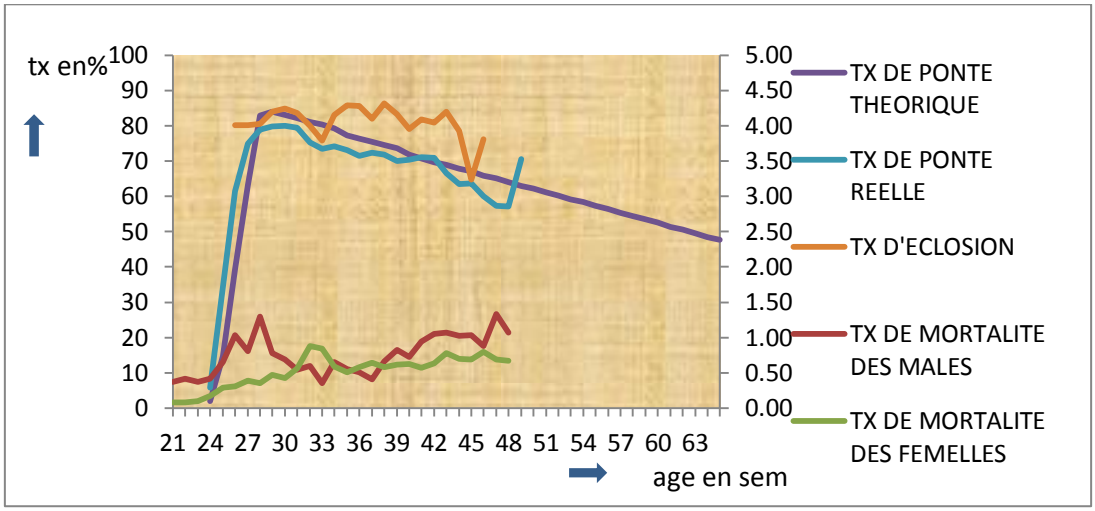


Figure 4 la production globale et le taux d'éclosion du lot 2.

III.2.2-Analyses bactériologiques

Les résultats des soixante dix prélèvements d'air et de surfaces isolés de l'URC de reproduction, des deux lots et de la chambre de stockage (**Tableau 2**) ont fait l'objet d'un examen macroscopique et microscopique puis une identification biochimique classique pour pouvoir identifier les germes recherchés.

Tableau 2 : Présence ou non des germes recherchés dans les lieux concernés :

Milieux ⇨ / compartiments ⇩	S.S		VRBG		KING A		KING B		CHAPMAN	
	Air	surf	Air	surf	Air	surf	Air	surf	Air	Surf
Cham stock	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
LOT 1	+	+	+	++	+++	++	++	+	+++	++
LOT 2	+	+	++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++

- : absence; + : présence

Les résultats d'analyses bactériologiques et biochimiques de l'air ont montré un taux de contamination assez élevé affirmé par le grand nombre de staphylocoques et des entérobactéries. Cette charge microbienne constitue une source de contamination potentielle pour les œufs en incubateurs et les poussins en éclosions, qui peut être expliquée par la qualité de la litière (Angen et *al*., 1996) : présence des ampoules usées , des rongeurs, des ténébrions et des mouches, représentant aussi un apport supplémentaire de germes, le niveau d'empoussièrement vient s'ajouter à la liste des polluants d'air à l'intérieur des bâtiments qui est en relation avec l'agitation de la litière par l'activité des animaux, présence des habitats dispersés et des exploitations agricoles dans les parages utilisant les fientes des anciennes bandes comme engrais pour fertiliser les sols ne font que charger l'air en germes nuisibles.

Les risques de contamination de l'environnement par les sources agricoles sont augmentés par temps de pluie en raison des ruissellements au niveau des sièges des exploitations et dans les champs sur lesquels les effluents sont épandus (Blaustein et *al*., 2016).Les oiseaux sauvages, les chats et chiens errants présents sur le voisinage sont également des sources de contamination potentielle en E. coli fécale (Araújo et *al*., 2014, Withman et *al*., 2014).

La contamination des surfaces était plus importante sur les éleveuses, les parois du bâtiment, puis les mangeoires et en fin les abreuvoirs.

La présence d'un nombre important d'entérobactéries sur les surfaces augmente le risque de contamination du prochain lot par les salmonelles (malgré les résultats négatifs des recherches de salmonelles sur les surfaces échantillonnées qui sont très réduites par rapport à la surface totale). Un animal réceptif non sensible est un porteur et excréteur d'agents infectieux alors qu'il ne présente pas le moindre signe clinique lahellec ,1987 ; lahellec et *al,* 1986 ;Toma et *al.*, 2001.

III.3-Le couvoir

En somme 49 prélèvements ont été isolés dans différents endroits au couvoir. Les colonies ont subi par la suite des examens afin d'identifier les germes recherchés.

Après avoir identifié biochimiquement les salmonelles, les souches suspectées sont soumises aux épreuves d'agglutination rapide sur lames à l'aide des sérums appropriés.

Rappelons que le couvoir se trouve à proximité d'habitations, exploitations agricoles, des élevages de rente et d'un axe routier d'une importante circulation de véhicules transportant des animaux dont des volailles, ce qui augmente le risque de transmission des germes par plusieurs modalités, y compris par voie aérienne. Les abords non dégagés (présence d'arbres et d'herbes à proximité) favorisent la rétention des poussières contaminantes et servent de refuges pour les insectes et des oiseaux on note également une présence considérable de chats vecteurs de germes (Workman, et *al.*,2005 ;Newell et Fearnly, 2003 ;Bornert, 2000 b ; Alogninouwa, 1992).

Les OAC issus des élevages de reproduction font l'objet d'une désinfection superficielle par nébulisation vu qu'ils sont empilés dans les alvéoles dans la salle de stockage, le produit par conséquence n'atteint pas forcement l'ensemble des œufs et les germes se trouvant sur les coquilles (issus généralement de la litière, des nids souillée par les fientes, d'ailleurs on a constaté un taux élevé de ponte au sol avec un seul ramassage par jour)et pourtant il est recommandé d'après la charte de qualité sanitaire dans les couvoirs de désinfecter les œufs le plus rapidement possible après le ramassage afin d'éviter l'entrée des germes par les pores de la coquille les premières heures par aspiration suite au refroidissement après la ponte au risque de contaminer le matériel et l'air à l'intérieur des machines et des salles.

Même si l'ambiance au couvoir est pulvérisée par TH5 ou BESTOP ou encore une fumigation par le sterifum cela ne réduit pas le taux de leurs contaminations surtout interne, vu que la désinfection au niveau des élevages de reproducteurs est incorrecte.

Le mirage au couvoir ne se fait pas et pourtant c'est une étape importante pour éliminer les œufs clairs et micro-fêlés, source de pollution bactériologique selon la charte de qualité sanitaire dans les couvoirs.

Il a été remarqué aussi que la marche en avant n'est strictement pas respecter ceci ne fait qu'assurer la pérennité de la contamination.

Les résultats du contrôle bactériologique de l'ambiance et des surfaces aux couvoirs font ressortir les points suivants :

- Le niveau de contamination de l'air de la salle d'incubation est proche de celui de la salle de l'éclosion. Ceci est lié directement au retour de l'air chargé de germes issus de l'éclosoir à travers le couloir de transfert, vers la salle d'incubation du fait de la non maîtrise de la circulation de l'air et du Le niveau de contamination de l'air de La Salle de tri et d'expédition est le même que celui de des éclosoirs.

- Les éclosoirs 1et 2 montrent le niveau de contamination le plus haut malgré la désinfection faite avant la MEP (selon le chef du module avec le Bestop).

-Les germes contaminants l'air ambiant vont se déposés sur les surfaces du matériel, des œufs en incubation et par conséquence sur les poussins.

-Une concentration élevée en *E. coli* dans tous nos prélèvements à savoir la salle de réception d'œufs, l'incubateur 1, les éclosoirs 1-2 et la salle de tri et d'expédition.

Des études ont montré que *E. coli* est le plus associé aux infections du sac vitellin et aux omphalites (Cortes et *al.,* 2004) et essentiellement celui de mortalité en coquille. Selon (Lecoanet, 1992), 15 à 20 % de mortalité embryonnaires, 3 à 5 %de mortalité en coquille et 10 à 20 % de mortinatalité sont dus à la contamination des œufs à couver par ce germe.

Dans une autre étude réalisée sur des œufs d'autruche par (Dzoma et Dorestein, 2001), le taux de mortalité en coquille en relation avec la contamination des œufs à couver par *E. coli* était évalué à 42 % et le reste était dû à leur contamination par d'autres germes : *Pseudomonas mesophilia, Klebsiella pneumoniae, Serratia liquifaciens, Alcaligenes xylosopsid, Aeromonas hydrophilia* et *Entérobacter cloacae.*

-On a pu isoler aussi une concentration conséquente en *Staphylocoques aureus* dans tous les sites cités en amont. C'est un germe ubiquiste très associé au cas d'omphalites et d'infection de la vésicule vitelline (Rachidi-Sidhoum et Brugere-Picoux, 1992) et du foie des poussins morts pendant la première semaine (White et *al,* 2003).

-Pseudomonas aeruginosa:

A été décrit comme étant un pathogène opportuniste capable d'envahir les OAC et coloniser ainsi les embryons en entraînant leur mort et celle des poussins nouvellement éclos.

Son pouvoir de colonisation des OAC est relaté à sa capacité de dégradation des protéines du vitellus rendant le milieu favorable à la pollution et l'installation des autres germes pathogènes (Cortes et *al*, 2004).

-L'explosion des OAC infectés par ce germe peut engendrer une infection par voie aérienne des poussins éclos (Rachidi-Sidhoum et Brugere-Picoux, 1992) cette théorie a été prouvée durant la période de notre étude au couvoir on a constaté un taux élevé d'explosion des œufs au niveau des éclosoirs et les résultats de nos prélèvements le confirme aussi.

-Les salmonelles ont été aussi isolées au niveau de l'éclosoir 1, 2 et la salle d'opération de tri de poussins et d'expédition, ce qui explique la chute vertigineuse du taux d'éclosion de 13,70% et selon l'anamnèse établie le couvoir a déjà connu une vague de salmonellose (spp.dublin) au mois de février passé.

Les poussins échappant à cette issue au niveau des couvoirs, peuvent mourir en élevage au 4eme-5eme j jusqu'à 15eme jours avec des pics de mortalité. On peut alors constater une très forte hétérogénéité suite à la diminution du gain de poids avec des taux de mortalité et élimination variant de 10 à 20%. (Lecoanet, 1992, Chen et *al.*, 2002) Les poussins déjà contaminés dès leur arrivée dans l'élevage sont un facteur de risque important. Ils contribuent à l'augmentation du niveau de contamination des bâtiments d'élevage par l'intermédiaire de leurs déjections (Colin, 1992). Ce constat confirme les études de Rose et *al.,* (1999) et de Christensen et *al.,* (1997).

-La chute du taux d'éclosion est accompagnée d'une baisse de fécondité des œufs ce qui explique la présence d'un nombre élevé d'œufs putréfies.

*La chute de production de poussins est donc le fait d'une baisse de production d'œufs à couver cumulée à une baisse de fertilité des œufs et des mortinatalités suite à la contamination microbienne des œufs à couver.

VI-Conclusion

Les résultats présentés dans cette étude permettent à tout le moins de fournir un ordre d'idée plus clair sur la contamination microbienne de l'air et des surfaces tout au long de la filière. Nos prélèvements et nos observations indiquent pleinement la présence des germes zoonotiques (***Salmonelles***) au couvoir et des germes pathogènes et/ou opportunistes de l'espèce aviaire (***Escherichia coli, Staphylococcus aureus- Pseudomonas aerogenosa*** aux différents stades des exploitations étudiées depuis l'élevage jusqu'au couvoir.
La charge microbienne était importante selon Les résultats, obtenus des examens macroscopiques, microscopiques et les tests biochimiques des échantillons prélevés des surfaces, pour la litière (présence de tous les germes recherchés) suivie des éleveuses, des parois des bâtiments (pleins de poussières), puis les mangeoires et en fin les abreuvoirs.

L'air a montré un taux de contamination assez élevé attesté par le grand nombre de staphylocoques et des entérobactéries isolées au niveau des différents maillons de la filière.

Cette concentration microbienne était en relation directe avec le niveau d'empoussièrement et la concentration en ammoniac.

Les germes contaminant l'air ambiant et les surfaces vont se déposés sur les œufs au centre de production, en incubation, en éclosions et par conséquence sur les poussins.

L'enquête rétrospective menée sur les différents axes de la filière chair nous prouve qu'il existe une grande variabilité dans les conséquences des épisodes cliniques sur les performances des reproducteurs.

En effet ; l'étude de l'ensemble des courbes de pontes révèle donc une grande variabilité autour de la chute de ponte. Cette variabilité clinique est à mettre en parallèle avec les sites de l'implantation géographique des élevages reproducteurs, autour des exploitations agricoles, les plans hygiéniques et sanitaires d'élevage mis en place, la gestion des mortalités, la présence des animaux sauvages dans les parages, le non respect de la marche en avant ect...

Les deux problématiques majeures liées à cette variabilité sont d'une part, la difficulté à évaluer les conséquences économiques des chutes de ponte et d'autre part, la difficulté à dégager les étiologies probables et crédibles à ces chutes.

En effet, notre étude expérimentale nous a dévoilées, en conséquence, l'incidence des germes recherchés dans l'air et les surfaces sur :

- les performances du lot fortement immunisé et le lot faiblement immunisé et les dégâts engendrés sur la productivité d'OAC.
- les taux d'éclosion au couvoir car la production du poussin de bonne qualité nécessite un travail d'équipe et une bonne gestion sanitaire, hygiénique et technique à chaque stade d'élevage et de production, avec une prise en charge correcte des OAC depuis les nids jusqu'à l'incubateur pour maintenir un niveau acceptable de l'environnement et réduire l'exposition à la contamination.

V-Les perspectives

Les salmonelloses sont des infections universellement répandues. Elles déciment fréquemment les populations animales lorsque les conditions d'hygiènes ne sont pas respectées, l'homme peut en être également victime ; c'est le cas des toxi-infections alimentaires ou gastroentérites observées à la suite de la consommation de viande et ovo-produits contaminés.

Le contrôle de ces salmonelloses repose essentiellement sur une antibiothérapie. Cependant, certaines souches de salmonelles se montrent résistantes à plusieurs classes d'antibiotiques par l'acquisition de plasmides codant pour des résistances multiples (spp *enterica).*

Les multi propriétés d'Artemisia herba-alba qui est une plante médicinale poussant communément dans les steppes sèches nous incite ; grâce à son pouvoir et son activité antimicrobienne ;à lancer des recherches pour étudier leurs effets sur le taux de ponte et sur la qualité des œufs au cours d'une salmonellose expérimentale chez les reproducteurs.

Références

1- ROZIER J. ,CARLIER V., BORNOT F. 1985. Bases microbiologiques de 1 'hygiène des aliments Paris: SEPAIC, 1985.-230p.

2- Blesbois E., 2005. Introduction à la reproduction des oiseaux domestiques. In : Reproduction des animaux domestiques.Couailler J. (Ed). Educagri éditions, Dijon,

France, 334-340.

3- Blesbois E., Brillard J.P., 2005. L'Anatomie et la physiologie de l'appareil reproducteur mâle des oiseaux. In : Reproduction des animaux domestiques. Couailler J. (Ed).

4- Educagri éditions (Ed), Dijon, France, 358-367.

5- Blesbois gamètes et fécondation des oiseaux. INRA prod .anim ,24 ,259 ,272.

6- BEDECARRATS GY *et al*. Gonadotropin-inhibitory hormone receptor signaling and its

impact on reproduction in chickens. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2009.

7- E. Blesbois. *INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France Courriel : Elisabeth.Blesbois@tours.inra.fr.*

8- Anatomie et physiologie de l'appareil génital femelle des oiseaux. In : Couailler J.

(Ed). Educagri éditions, Dijon, France, 14, 342-355.

9- Nys Y., Nau F., 2010. Composition de l'oeuf. In:Science et technologie de l'oeuf. Vol. 2. De l'œuf aux ovoproduits. Nau F., Guérin-Dubiard C.,Baron F., Thapon J.L. (Coord.) Tec et Doc., Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires,Paris, France, chap 1, 1-176.

10- Elis S., 2007. Approche transcriptomique de la competence ovocytaire chez la poule. Thèse Université François Rabelais, Tours, France.

11- Goudet G., Mugnier S., Callebaut, I.,Monget P., 2008. Phylogenetic analysis and identification of pseudogenes reveal a progressive loss of zona pellucida genes during evolution of vertebrates. Biol. Reprod., 78, 796-806.

12- Cahier des charges Aviculture – Version 2002 – FÉDÉRATION NATURE & ROGRES Site web: www.natureetprogres.org

13- AHOMLANTO A. D., 1991 Indice de l'avifaune en aviculture Essai de synthèse.

Th. : Méd. Vét. : Dakar; 49.

14- LEGRAND D., 1988 Situation actuelle de l'aviculture Sénégalaise: type et méthodes d'élevage des poulets de chair et des pondeuses . Th. Méd. V ét. : Dakar ; 3.

15- DAYON J.F. et ARBELOT B. , 1997 Guide d'élevage des volailles au Sénégal.

Dakar: DIREL; LNERV.

16-http://www.maxisciences.com/poule/decouvrez-comment-un-embryon-de-poule-se-developpe-a-l-interieur-de-son-oeuf_art31870.html Copyright © Gentside Découverte

https://www.novogen-layer.com/media/csmanagementguidenovogenbrownclassicfr074899200_1639_29062017.pdf

17- BRAUN L. Physiologie et maîtrise de la reproduction chez les Reptiles et les Oiseaux. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2004, 200p.

18- Jp Brillard. Maîtrise de la reproduction chez les volailles. Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences, 1992, 41 (3-4), pp.297-303.

19- Rokicki E., Kolbuszewski T., 1996. Animal Hygiene, Warsaw Agricultural University, (SGGW edit.) Poland.

20- BRADBURY J.M. & MCCARTHEY J . D . (1983). — Pathogenicity of *Mycoplasma iowae* for chick embryos. *Avian,Pathology,* 12, 483-496.

21- Stephan Yauschew-Raguenes. Qualité de l'air dans les couvoirs https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01030823

22- NOVOGEN S.A.S - MAUGUERAND - LE FOEIL contact@novogen-layers.com www.novogen-layers.com

23- Halbouche M., Mouats A., Homrani A., Madani Karima, Benalioua N., Sahel M.L., Benhassine M.E.A. et Achache S. « Contamination et infection des élevages avicoles industriels par *Salmonella* (cas de la Wilaya de Mostaganem, résultats d'enquêtes) », P 02.

24- Le contrôle des reproducteurs volailles en France E. GOATER-P2.

25- Etude de l'activité antimicrobienne des souches- *Ecole Nationale Supérieure Agronomique. EL Harrach. Algérie.p15.*

26- Dahl C, Permin A, Christensen JP, et al: The effect of concurrent infections with Pasteurella multocida and Ascaridia galli on free range chickens. Vet Microbiol 86:313-324, 2002.

27- Ecole nationale vétérinaire de Toulouse année 2010 these2010.

28- Les Escherichia coli potentiellement pathogènes dans l'environnement : cas des STEC et des EPEC. Microbiologie et Parasitologie. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2016. Français.p79-80.

29- ADLER (H.E.) (1965). - Salmonella in eggs. An appraisal. Food Techno/., 19, 623-624.

-COLIN (P.), LAHELLEC (C.) et BENNEJEAN (G.) (1980). - Etude de l'évolution de la contamination par Salmonelles aux différents stades de la production du poulet de chair. Bull. ln/., Sta. Exp. Avic., 20, 3-7.

30- Colin P. 1992. Salmonella et qualité des produits avicoles. In: Brugere-Picoux J, Silim A, eds. Manuel de pathologie aviaire. Édition Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour. Alfort: École nationale vétérinaire d'Alfort, 371–373.

31- K. OUATTARA1, A. COULIBALY1, J. D. N'GUESSAN1, F. GUEDE-GUINA1 et A. J. DJAMAN1-2.

1-Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique -UFR Biosciences-Université de Cocody Abidjan.

2-Laboratoire de Microbiologie - Institut National de Santé Publique (INSP) d'Abidjan.

04 BP 2343 Abidjan 04 Côte d'Ivoire. E-mail : djamanj@yahoo.fr

32- Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles Division Bioénergie et Environnement. Centre de Développement des Energies Renouvelables.B.P.62, route de l'observatoire. Bouzareah – Algérie.*Ecole Nationale Supérieure Agronomique. EL Harrach. Algérie.

Identification phénotypique et génotypique d'un *Lactocccus lactis* isolé d'un fromage du terroir type J'ben

DAHOU Abdelkader El Amine[1], RECHIDI SIDHOUM Nadra[1] ,TAHLAITI Hafida[1] BEKADA Ahmed[2], HOMRANI Abdelkader[1], SAIDANE Zohra[1]

1 : Laboratoire des sciences et techniques de production animale, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Algérie

2 : Centre Universitaire de Tissemssilet, Algérie

amine2369@gmail.com

Résumé

Le but de cette étude était d'évaluer la diversité des lactocoques d'un fromage du terroir type J'ben fabriqué à partir de lait de brebis de race Rembi produit d'une exploitation des régions steppiques algériennes de NAAMA .Les espèces bactériennes ont été isolées des échantillons de fromage récupérés de l'exploitation et analysées à l'aide de méthodes phénotypiques et génotypiques .Sur toutes les espèces isolées ; 10 isolats ont été retenues après caractérisation phénotypique par les techniques classiques de microbiologie basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques , physiologiques et biochimiques. Les isolats purifiés ont été conservés dans un mélange M17 et glycérol en vue d'une caractérisation moléculaire basée sur l'amplification puis séquençage de l'ADN bactérien. L'isolement de l'ADN bactérien à partir des cultures purifiées de *Lactococcus* a été établi par une amplification de l'ADN ribosomal 16S par des amorces universelles spécifiques des procaryotes avec une souche de référence *Lactococcus lactis* ATTC 49032 utilisée comme témoin positif. Le séquençage de l'ADN 16S de tous les isolats a été réalisé et l'identification génotypique a confirmé la prédominance de *Lactococcus lactis*.

Mots clés: Identification, *Lactococcus lactis*, Fromage de type J'ben

Summary

The purpose of this study was to evaluate the diversity of lactococci of a local cheese J'ben type made from sheep's milk breed Rembi product of exploitation of the Algerian steppe regions of NAAMA. The bacterial species were isolated from samples of cheese recovered exploitation and analyzed using phenotypic and genotypic methods. On all species isolated, 10 isolates were selected after phenotypic characterization by classic microbiology techniques based on research of a number of morphological, physiological and biochemical characters. Purified isolates have been preserved in a mixture of M17 and glycerol to a molecular characterization based on the amplification and sequencing of bacterial DNA. The isolation of bacterial DNA from purified from Lactococcus cultures has been established by an amplification of ribosomal DNA 16s by specific universal primers of prokaryotes with a reference strain *Lactococcus lactis* ATTC 49032 used as a positive control. The sequencing of the 16s DNA of all isolates was conducted and genotypic identification confirmed the predominance of *Lactococcus lactis*.

Key words: Identification, *Lactococcus lactis,* J'ben cheese

Introduction

La flore microbienne des fromages est très diversifiée ; selon son intérêt et ses conséquences en fromagerie, 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, staphylocoques 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, en particulier sur le plan gustatif. Elle permet de préserver la typicité et une certaine diversité sensorielle des fromages.**(5)**

En Algérie, la production de fromages est toujours faite d'une manière traditionnelle à l'échelle familiale .Le J'ben est un fromage traditionnel le plus populaire et sa méthode de fabrication est encore en usage à nos jours, avec une augmentation de leur consommation dans les zones steppiques en raison de leurs agréables propriétés organoleptiques et nutritionnelles engendrés par une microflore indigène qu'il est important de connaître.**(3)**

Cette diversité de la microflore lactique sera spécifiée par la caractérisation phénotypique et génotypique des lactocoques isolés de ce fromage du terroir type J'ben.

Matériel et méthodes

Prélèvement des échantillons de J'ben

Des échantillons de fromage ont été prélevés aseptiquement dans des récipients stériles de l'exploitation de Fortassa de la wilaya de Naama et conservés à basses températures jusqu'à la mise en route des analyses expérimentales au laboratoire.

Analyses microbiologiques

Des prélèvements de masse suffisante de J'ben sont effectués de façon aseptique, 2.5g de l'échantillon est placé dans un tube stérile contenant 2.1 ml d'eauphysiologique stérile et incubé à 37°C jusqu'à fusion. La séparation des deux phases est ensuiteréalisée par centrifugation pendant 10 minutes à 3500 rpm.

A l'aide d'une pipette stérile 1ml de la phase aqueuse constituant la dilution mère est prélevé et introduit dans un tube à essaicontenant 9ml d'eau physiologique stérile, ainsi s'obtient la dilution 10-2. Les dilutions 10-3 jusqu'à10-6 sont obtenues de la même manière **(4)**.

Dénombrement des bactéries lactiques

Les milieux utilisés pour la culture des lactocoques sont respectivement les suivants :

– le milieu M17 : Tryptone 2,5 g, Peptone pepsique de viande: 2,5g, Peptone papaïnique de soja: 5g, Extrait autolytique de levure: 2,5g, Extrait de viande : 5 g,Lactose: 5g,Glycérophosphate de sodium : 19 g,Sulfate de magnésium: 0,25g,Acide ascorbique : 0,5 g,Agar bactériologique : 15 get 1000 ml d'eau distillée. pH= 6,5, stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 20 mn. Ce milieu très riche, permet un développement rapide de toutes les espèces de lactocoques.

– le milieu PCA lait : Lactose : 5g, lait écrémé : 5 g, Peptone de viande : 3g, Extrait de viande: 3g, extrait de levure : 3g, Agar : 1g, Carbonate de calcium précipité : 15g, Solution aqueuse derouge neutre : 5ml et 100 ml d'eau distillée, de pH = 6.8, stérilisé à l'autoclave à 100°Cpendant 20 mn. Ce milieu caractérise leur présence ; permet une meilleure reconnaissance descolonies rondes blanches et lenticulaires de ces bactéries.

L'ensemencement des boîtes de Pétri des lactocoques se fait dans la masse et sont incubées dans une étuve à 30°C pendant 48 heures. Le dénombrement des divers groupes bactériens est effectué à l'aide d'un compteur de colonies microbiennes (New Brunswick scientific CO Model C-100 6327). Les résultats sont exprimés en nombres de cellules par ml.

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 isolées, en coques en diplocoqueset en chaînettes, gram-positive, catalase négative; ne produisant pas dedégagement d'oxygène lorsqu'elles sont dissociées sur une goutte d'eau oxygénée, sont retenues comme étant des bactéries lactiques. Après culture de souches isolées de lactocoques sur les bouillons de leurs milieux précités, des ensemencements en stries sur leurs milieux gélosés sont réalisés et mis en incubation à 30°C pendant 48 heures. Parmi les colonies bien isolées et purifiées qui apparaissent sur boites de Pétri, une colonie bien caractéristique est prélevée de chaque boîte et conservée à 4°Csur tubes à eppendorf avec du M17-15%glycérol en vue de son identification**(8) et (10)**.

Caractérisation phénotypique des lactocoques

L'identification des souches de lactocoques est faite selon les critères biochimiques préconisés par **(5)** et selon la « classification de Bergey's manual of determinative bactériology » **(2)**.

Caractérisation génotypique des lactocoques

L'identification des lactocoques par les méthodes phénotypiques ne permet pas d'identifier de façon fiable les isolats purifiés **(1)**.Nous avons développé, au niveau du laboratoire ; un outil basé sur la biologie moléculaire par une 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 le témoin positif de Lactococcus lactis ATTC 49032 .Ces résultats concordent avec ceux de **(9)**.

Résultats et discussions

Analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques sont représentés comme suit :

Dénombrement des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été dénombrées dans tous les échantillons de fromage étudié à base de lait de brebis .Leur nombre varie de 3 10^6 ufc /g à 2 10^8 ufc/g.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 avec une prédominance à 80% en lactocoques. 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 **(7) et (8)**

Isolement et purification

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés uniquement aux bactéries lactiques qui présentent un intérêt appliqué. La dominance des bactéries lactiques pour le fromage J'ben de brebis a été comme suit : 80% lactocoques (10 isolats), 15% leuconostocs (03 isolats) et 5% pédiocoques (01 isolat). Les 10 isolats purifiés de lactocoques ont été retenues pour une caractérisation phénotypique.

Les tests physiologiques et biochimiques ont montré que tous les isolats se sont avérés à gram positif et catalasenégative ce qui est caractéristique des bactéries lactiques.

Caractérisation phénotypique des lactocoques

Les 10 souches de lactocoquesont été purifiées sur milieu M17 ; sur gélose, les cellules bactériennes sont apparues de petite taille, de forme ronde, à pourtour régulier et de couleurblanchâtre. Sur bouillon, les souches présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe desbactéries lactiques. L'observation microscopique a révélé une forme de cellules qui est laforme en coques. Ces cellules bactériennes ont une micromorphologie de coques soit en diplocoques isolés ou en chaînettes. La macromorphologie des lactocoques est en petites colonies blanches rondes ou lenticulaires. Cela a été rapporté par de nombreuses études dans ce sens dont **(4) et (11)**

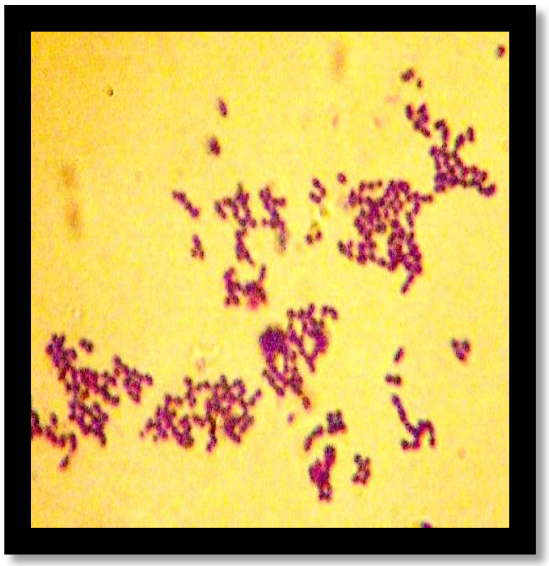


Figure 1 : Genre présumé à *Lactococcuss*

Cellules en coques, en diplocoques isolés ou en chaînettes

Caractérisation génotypique des lactocoques

L'étude génotypique réalisée parune 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 dendogramme comparatif avec des degrés de similitude à un témoin caractéristique de Lactococcus lactis.

En effet à 570 pb de masse moléculaire, la bande d'ADN caractéristique pour les 10 souches purifiées de lactocoques a été amplifiée et visualisée positivement après électrophorèse sur gel d'agarose 2% en photo 2.

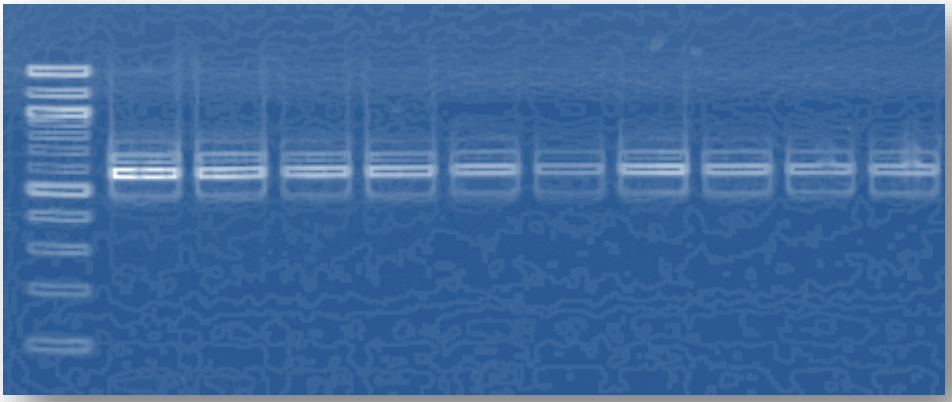


Figure 2: Gel d'electrophorèse des produits de la PCR des isolats de *Lactococcus lactis* visualisés par GBOX à 570PB

10 isolats ont été identifiés par PCR en appliquant la technique de l'ARNr16s. Les profils obtenus ont été traités par le logiciel Gel Compar II et comparés aux profils des souches de références utilisées

Conclusion

Notre étude réalisée a apporté une approche confirmative sur la composition de l'écosystème microbien lactique du J'ben issu des zones steppiques de l'Algérie et plus précisément de la wilaya de Naâma. Ces produits dérivés du terroir d'une transformation traditionnelle des laits crus de brebis d'un cheptel de race localeRembi montrent cette grande diversité d'espèces qui dépend des régions et des exploitations d'élevage.

La comparaison des résultats avec ceux cités dans la bibliographie sur des produits similaires **(3), (7) et (11)** permet de conclure que notre pays dispose d'un écosystème microbien lactique riche et que nos produits laitiers traditionnels peuvent être une source non négligeable d'espèces microbiennes soit en flore lactique ou en flore d'affinage avec des propriétés technologiques très intéressantes.

Des espèces tel que les Lactocoques devenues rares dans les pays industrialisés sont fréquentes dans nos fromages traditionnels ce qui contribue à l'enrichissement du créneau et à la connaissance de leur écologie.

Références bibliographiques

(1)Badis, A., Aouabdia-Sellami,L. Guetarni, D. , Kihal, M., Ouzrout,R.2005. Caractérisation phenotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ».Sciences et Technologie C N23 :30-37

(2) BERGEY'S MANUAL, 1986-1989. – Manual of determinative bacteriology,. William and

Wilkin, Baltimore,.

(3)Hadef.S., 2012 Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Thèse de magister université Kasdi Merbah de Ouargla .option microbiologie appliquée. Soutenu le 18/04/2012 .87p

(4)Idoui .T. et Karam. N.E., 2008 . Lactic acid bacteria from Jijel's butter : isolation, identification and major technological traits. Gr.Y.Aceites.59(4) : 361-367.

(5)Luquet .F.M. et Corrieu.G., 2005. Bactéries lactiques et probiotiques.Tec .et Doc,Lavoisier Paris 3-37

(6)Mozzi .F., Torino M.I.et Valdez.G.F.,2001.Identification of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria .Methods in biotechnology , vol 14 : Food Microbiol.Protocols.Humana press.Totowa. 183-190

(7)Ouadghiri ,M., Vancanneyt, M., Vandamme , P., Naser, S., Gevers, G., Lefebvre,K. and Swings,J. 2009 .Identification of lactic acid bacteria in Moroccan raw milk and traditionally fermented skimmed milk 'leben'. J.Appl.Microbiol.106: 486-495

(8)Pilet M.F., Magras C., Federigh M., 2005. Bactéries lactiques. *In :*bactériologie alimentaire (Federighi M.). *2e Ed.*, *Economica*. Paris. 219-240.

(9)Reats D., Offek M., Minoz D., Halpern M., 2011. Molecular analysis of bacterial communities in raw cow milk and the impact of refrigeration on its structure and dynamics, Food .Microb.28-3, (2011), 465-471

(10)Tailliez P., 2001.Les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années.Mini-revue.Lait 81.1-11.

(11)Tamime A.Y., 2002. Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiologyhandbook (RobinsonR.K.). *3e Ed.*, *John Wiley and Sons, Inc.,* New York. 261-366.

Enquête et étude ethnobotanique des plantes à caractère médical et pharmaceutique dans la région Ouest et Sud de l'Algérie

F.Bouabdelli[1], A.Driouch[2], F.Missoun[1], M.Medjahed[3] N.Amari[1] N, S.Douichen S.Bouabdelli[3], N.Djebli[1]
Laboratoire de Pharmacognosie et Api-Phytotherapie, Université de Mostaganem,
Laboratoire de valoristation des matériaux faculté des sciences et de la technologie Mostaganem, Algeria; Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Mostaganem Algerie
Email: bd_fatma@yahoo.fr

Résumé

Notre enquête ethnobotanique de la flore à caractère médicinal dans la région Ouest et Sud de l'Algérie, nous a permis d'établir un inventaire floristique des plantes médicinales. Une identification de 183 espèces, réparties en 56 familles et 186 genres a été faite.

La famille botanique la plus citée est la Lamiaceae 39 (11.4%). Cette enquête a été suivie par une étude antimicrobienne de 22 plantes sélectionnées et qui ont un intérêt thérapeutique très important citées par la population. Des essais biologiques ont été établis sur les espèces *Lavandula, Mentha, Thymus et Ajuga* appartenant à la famille des Lamiacées afin de vérifier le bien-fondé des indications thérapeutiques reçues. Les zones d'inhibition allant de 20 mm à 50 mm. Les extraits methaloniques de *Lavandula officinalis* à un effet actif contre les bactéries *E.coli* (zone d'inhibition = 28mm), *Proteus* (zone d'inhibition = 35mm), *Staphylococcus* (zone d'inhibition = 35mm), et aucun effet sur la bactérie *Pseudomonas*. La détermination des CMI relatives aux extraits actifs a mis en évidence des niveaux d'activité antibactérienne variables selon l'extrait utilisé (CMI varie de 50 à 12,5 mg/ml). La lavande a montré une activité antioxydante par le test de radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Le screening phytochimique de ces plantes a révélé la présence de tanins, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stérols et triterpènes, absence des quinones.

Par ailleurs, de ce travail, nous pouvons conclure que notre pays s'est tourné vers la modernisation et la diversification de son potentiel de production de produits pharmaceutiques et cosmétiques à base d'extrait de substances naturelles. Les résultats obtenus suggèrent que les extraits naturels de quelques plantes étudiées, pourront constituer une solution alternative intéressante aux thérapies de plusieurs maladies et dans la formulation des produits cosmétiques.

Mots clés: substances naturelles, screening phytochimique, étude ethnobotanique, infection produits cosmétiques, Ouest de l'Algérie

Introduction : L'humanité à encore beaucoup d'espoir dans la découverte potentielle de nouveaux remèdes tirés de la biodiversité, car elle demeure la principale source de produits pharmaceutiques puisqu'elles contiennent des bioactifs curatives lorsqu'elles sont bien appliquées [1]. Les personnes vivant en contact étroit avec leur environnement ont des connaissances approfondies des écosystèmes, de leur biodiversité, de leur gestion et de leur l'utilité [2].

L'importance des plantes sont basées entièrement sur le nombre total cités par les utilisateurs, les plantes rarement mentionnées seront considérées en tant que moins évalué

[3, 4]. L'usage des extraits de plantes contenant des constituants bioactifs est devenu une approche très importante dans la médecine préventive, recommandée d'ailleurs par l'OMS. Plus de 6000 antibiotiques d'origine végétale ont été découverts [5]. On estime qu'environ

53 000 à 72 000 espèces de plantes médicinales sont utilisées à travers le monde par les différents types de médecine traditionnelle.

L'Algérie, riche par sa biodiversité et son climat, est une plate-forme géographique très importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche de molécules originaires de plantes qui ont pour longtemps servi à une grande tranche de population comme moyen obligatoire de médication. Il est le berceau de diversification d'un grand nombre d'espèces végétales d'intérêt médicinal. La région Ouest et Sud-ouest est caractérisée par des traditions très riches et intéressantes, dus à sa position géographique. Beaucoup de plantes de notre flore sont connus pour posséder des propriétés antimicrobiennes et qui ont été utilisés par la population locale dans de nombreux cas à traiter les rhumes, la toux, la diarrhée, les infections respiratoires, urinaires des lésions cutanées et expulsabilité des calculs.

Récemment, l'intérêt a augmenté considérablement à l'étude ethnobotanique des plantes utilisées traditionnellement de point de vue pharmacologique et thérapeutique et aide au développement pharmaceutiques modernes comme médecine complémentaire. Plusieurs médicaments utilisés de nos jours, sont extraits de substances végétales sur la base des études ethnobotaniques.

En Algérie, cette pratique touche une frange importante de la population. Dans notre enquête nous fournissons l'importance à l'ethnobotanique dans la population Algérienne pour un guide d'usage thérapeutique.

L'objectif premier visé dans ce document est d'évaluer l'intérêt thérapeutique et de montrer l'importance des plantes dans la pharmacopée locale et de relever toutes les confirmations ou des informations mentionnées dans la littérature existante pour les usages indiqués. Cette importance est basée entièrement sur le nombre total cité par les utilisateurs.

2. MÉTHODOLOGIE DE TRAVAIL

2.1. ZONES D'ENQUÊTES

En l'Algérie, la médecine traditionnelle occupe une place importante. Les régions d'études Ouest et Sud-ouest de l'Algérie s'étendent sur 3 ensembles géographiques distincts caractéristiques de la région méditerranéenne. Ces stations se caractérisent par une grande diversité physionomique constituée des éléments naturels suivants: une zone littorale (ex Mostaganem), une zone montagneuse (Tiaret) et une zone des montagnes de l'Atlas Saharien. A ces ensembles géographiques naturels correspondent des divisions biogéographiques bien délimitées, des bioclimats variés (de l'humide au désertique) et une abondante végétation méditerranéenne et saharienne. On recense plus que 3139 espèces végétales qui se distribuent du Nord au Sud selon les étages bioclimatiques, et 1000 genres [6]. Le Secteur des Hauts Plateaux lui seule compte 1680 espèces soit plus de 53 % sont des espèces méditerranéennes. Environ 800 espèces végétales pour l'ensemble de l'Atlas saharien [7]. Les ressources végétales spontanées du Sahara constituent une flore d'environ 500 espèces de plantes supérieures [8].

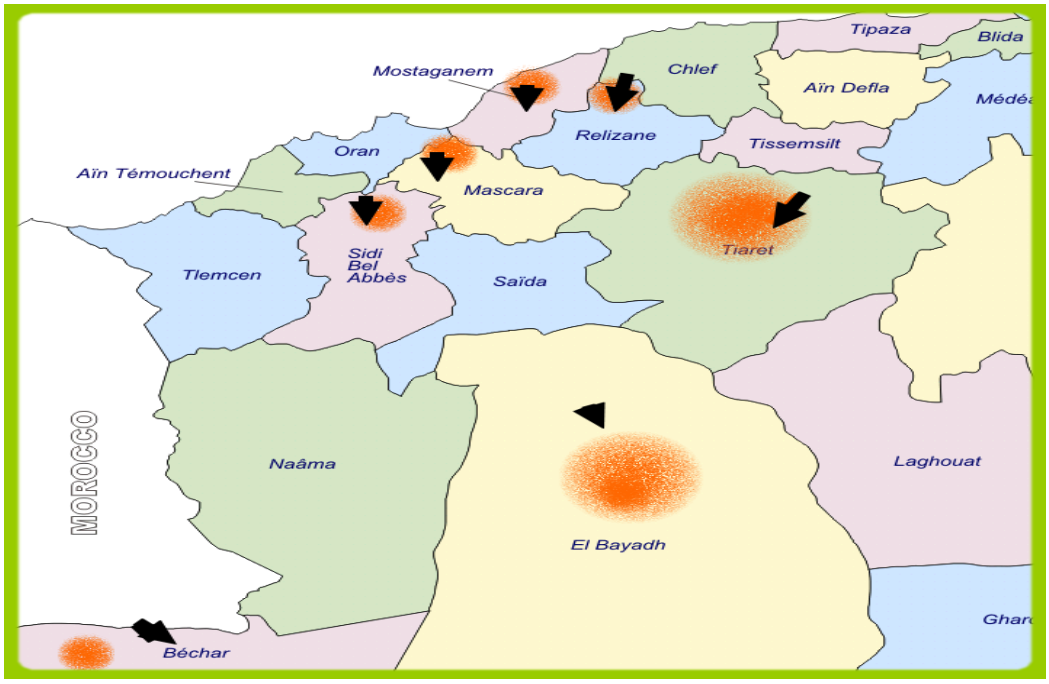


Fig. 01. Carte géographique des 7 sites étudiés de la région Ouest et sud Ouest de L'Algérie

Le choix de l'enquête a été basé sur la connaissance traditionnelle des utilisateurs et sur la répartition des végétaux suivant différents secteurs: La région littorale du pays (Mostaganem), la région Ouest (Relizane, Mascara, Tiaret, belabess) et le Sud_Ouest (El-Bayadh, Bechar). Les informations ont été obtenues à travers des interviews ethnobotaniques selon la méthode citée par V. Hammiche [9] avec des personnes née et/ou ayant vécu dans les trois secteurs. Ce travail a duré plus de 4 ans (2004/2007) pendant lesquels nous avons réalisé 600 entretiens avec autant de personnes différentes et 11 herboristes de chaque région. A partir d'un questionnaire préétabli, nous avons interrogé deux catégories, La première catégorie, dite la pharmacopée spécialisée, a été conduite auprès des Herboristes dans chaque secteur qui nous permettent de dresser une première liste des plantes médicinales utilisées dans la région à étudier, c'est une enquête exploratrice afin d'obtenir les informations générales sur les plantes médicinales. Les informateurs sont des utilisateurs locaux.

La deuxième catégorie dite la pharmacopée populaire consiste à interroger les utilisateurs sur l'usage populaire des plantes médicinales. Parmi eux les étudiants universitaires habitant les zones étudiés âgées de 20-25ans. Autres groupes âgés de 45-85ans sont les gens de la population locale et 211 patients lithiasiques venant au laboratoire pour les analyses urinaires (cristalluries). Nous avons aussi ramassés des échantillons des espèces végétales médicinales de la forêt Abdelmalek ramdhaan (Capivi, Mostaganem) afin de valider et/ou vérifier leurs noms locaux avec plusieurs enquêtés.

Pour les deux types d'entretiens, nous avons collecté toutes les informations sur les plantes médicinales utilisées par celui-ci. Ainsi, le profil de chaque enquêté comprend l'âge, son niveau d'études, situation familiale et lieu de résidence. Les données recueillies pour chaque plante comprennent le nom local commun, les usages, la partie utilisée, le mode de préparation et les effets secondaires s'il y en a eu lieu.

Les informations recueillies à la suite de cette enquête ethnobotanique a pour objet de rassembler quelques pratiques thérapeutiques spécifiques. Cela va nous permettre de dégager les concepts de base de la perception du milieu naturel des différentes zones géographique et la description des maladies traitées en fonction des plantes.

3. RÉSULTATS

Les espèces à caractère médicinal des régions Ouest et Sud-ouest de l'Algérie ont été décrites, classées et inventoriées. Cet inventaire associé à l'enquête menée auprès de la population connaissant leur usage, fait ressortir une richesse floristique de 183 espèces végétales réparties en 56 familles.

3.1. Inventaire des espèces végétales dans les régions Ouest et Sud-ouest

Ces plantes interviennent dans la confection de 342 recettes phytomédicamenteuses entrant dans les soins des diverses maladies. Les familles les mieux représentées dans les recettes données sont les Lamiaceae 39 (11.4%), les Apiaceae 37 (10.8%), les Asteraceae avec 32 (9.4%), les Fabaceae 19 (5.6%), les Rosaceae 17 (5%), les Poaceae 16 (4.7%), les Liliaceae 14 (4.1%) et les Brassicaceae 13 (3.8%). Les autres familles entrant dans moins de 6 recettes, nous citerons : Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Cupressaceae, Myrtaceae et Zingibearceae (Fig 2).

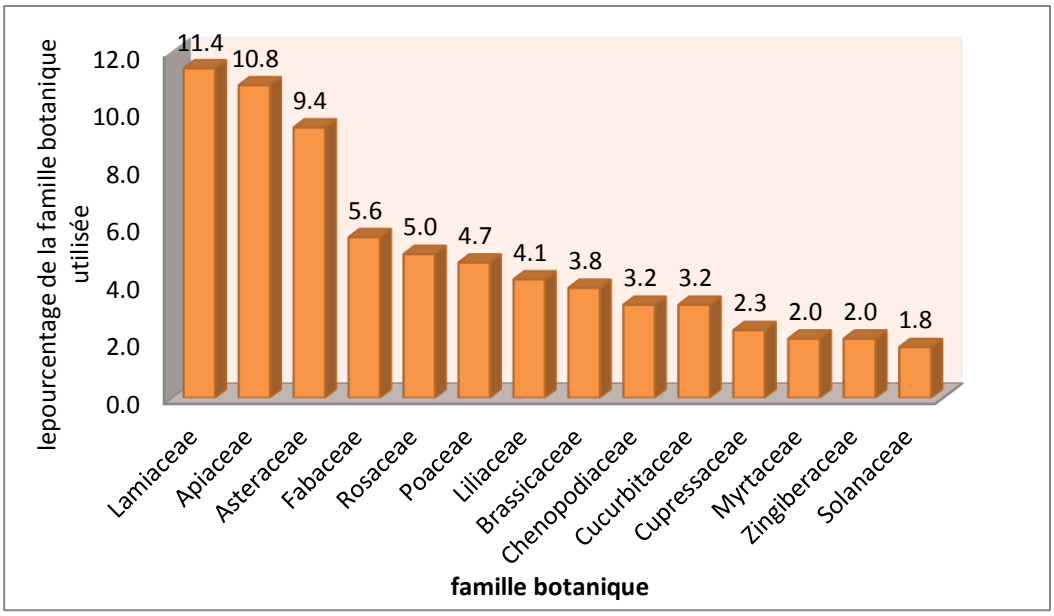


Fig. 02 : les espèces par famille recensées et utilisées dans les régions Ouest et Sud -Ouest de l'Algérie.

Habituellement, les praticiens emploient les organes aériennes pour préparer les tisanes, On a recencé 271(79,24 %) recettes sur les 342 recettes dégagées. Les parties aeriennes utilisées sont les feuilles 115 (33.63%), les fruits 52 (15.20%), les fleurs 21(6.14%) et la plante entière (feuilles+fruits+fleurs+graines) 83 (24.27). Les graines 47 (13.74%), les racines 24 (7.02%) Les résultats sont reportés sur la Fig3

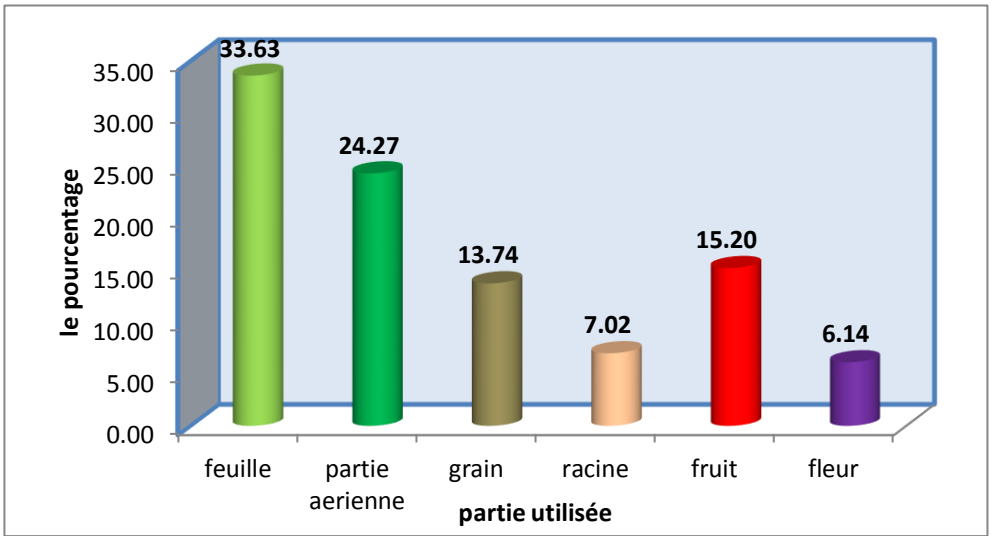


Fig. 03 : Proportions des différents organes de plantes utilisés pour soigner les maladies

3.2. Les différentes pathologies traitées par les plantes

La pharmacopée traditionnelle Algérienne traite la plupart des pathologies trouvées dans la population. Si l'on considère le nombre de recettes utilisées en fonction des pathologies (Fig04), cette enquête nous montre 89 (26.02%) sont destinées pour la pathologie digestive (indigestion, colo pathie, diarrhée, les parasites intestinale, la constipation, ulcère gastrique, problème hépatique constipation, maux d'estomac), 42 (12,28%) sont recommandés pour la pathologie dermique (brulure, eczéma, gale, allergie, furonculose, infections habituelles de la peau et traitements externes des morsures du scorpion de serpent). La pathologie féminine (chute des cheveux, perturbation de cycle menstruelle, kyste d'ovaire, accouchement, lactation, infections génitales) occupe la troisième place soit 32 recettes (9,36%). Pour la pathologie respiratoire (allergie, bronchite, tuberculose, toux, ….) sont utilisés seulement 22 recettes (6,43%). 19 recettes (5,56%) sont utilisées en pédiatrie (rougeole, problème digestif et respiratoire). 17 recettes sont mentionnées soit (4,94%) pour la pathologie buccale (maux de gencive, maladies dentaire, aphte), 16 (4,68%) pour le diabète, 14(4,09%) pour la migraine, 12(3.51%) pour l'hypertension, 11(3,22%) qui sont diurétique, 8(2.34%) pour la grippe, 7(2.05%) pour le cancer, 32(9,36%) autres maladies tel que rhumatisme et l'anémie.

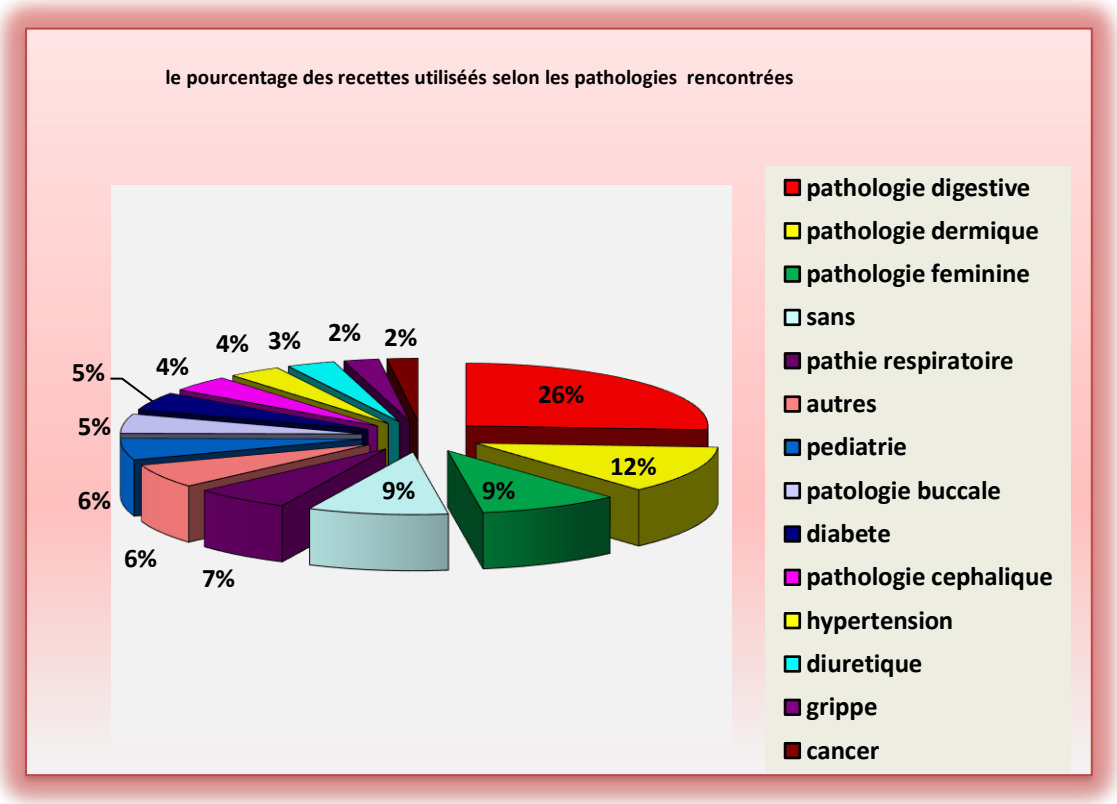


Fig.04: la proportion des recettes utilisées selon les pathologies rencontrées

3.3. Les plantes toxiques

Le nombre total des intoxications varie chaque année suivant la région, 10 % à Relizane, 8% à Oran, déclaré par une étude d'intoxications aigue chez l'enfant de 8ans dans un service de réanimation pédiatrique du CHU Oran [11] question qui se pose y a-t-il un danger à consommer certaines de ces plantes ? Comment contrôler leurs utilisations (doses, fréquence de prise, etc.). Les questions qui ont été posées aux herboristes: qu'elles sont les plantes connue comme toxiques ? Les organes utilisés (fleur, grain, racine, feuilles) ; leur endroit; le mode de préparation et la durée de traitement. À cet effet nous avons complété notre travail par un inventaire des plantes toxique. Donc selon les herboristes aucun effet secondaire n'a été mentionné. Ces pratiques populaires prennent en compte les notions de dose et de la toxicité. Les espèces citées dans ce domaine sont employées avec prudence (Fig05) comme *Citrullus colocynthis* (L.), *Euphorbia guyoniana* Boiss&Reut, *Euphorbia calyptratraC, Ephedra alata* Decne, *Ferula gummosa* Boiss, *Globularia alypum L, Hyoscyamus musticus*L, *Ilex aquifolium L,Ricinus communis L, Thymelea microphylla* Coss, *Daphne gnydium, Nerium oleander* L, *Aristolochia climatitis L, Peganum harmala* L., *Ruta graveoens et Haloxylon scoparium L.* sur 342 espèces utilisées en médicine traditionnelle 6.73% qui ont des effets secondaires à prendre avec prudence.

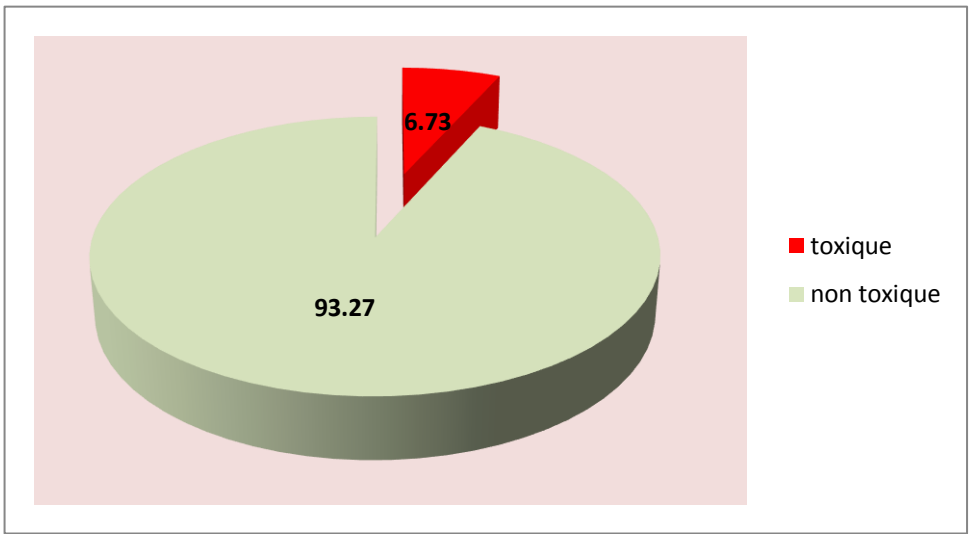


Fig.05: proportion des espèces toxiques

3.4. Le mode de préparation

les plantes sont utilisées soit fraîche ou sec, essentiellement sous forme de décoction avec 192 (56.14%), cataplasme 48 (14,04%), crue sous forme de salade 25 (7,31%), En infusion 33 (9,65%) la macération représentent 34 (9,94%). la plante est macérée dans de l'eau, dans le lait, dans le miel, dans l'huile d'olive et parfois dans le vinaigre et 10 autres méthodes (2,92%) (Fig06). En résumé nous pouvons dire qu'il y a une décoction normalisée dans l'eau, préparée avec une pincé a une cuillère a une poignée (50g) de plante indiquée qui change selon la plante. Les volumes correspondent à un verre d'eau (250-450 ml), et verre de thé [12].

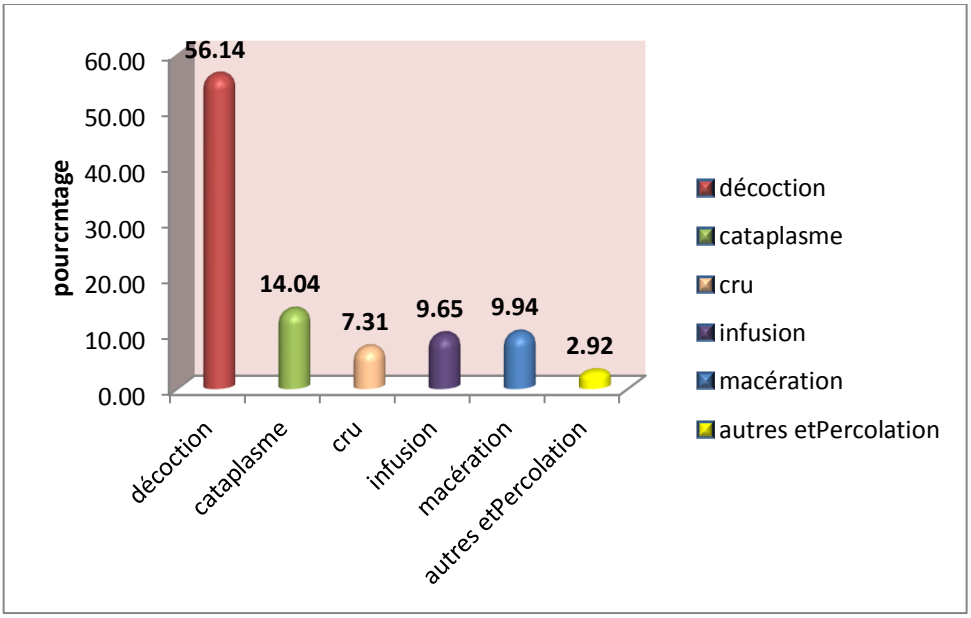


Fig 06: Recettes des modes d'utilisation des drogues végétales

3.5. Administration par voie orale et application cutanée

249 recettes sur 342 soit (72.81%) sont administrées par voie orale et 93 (27.19%) sont utilisées à usage externe (Fig 07). Le patient boit un à deux verres d'eau par chaque prise. La fréquence de la prise est rarement indiquée, la durée de traitement est d'une journée, une semaine et trois semaine (1,7, 21 jours). La plante utilisée comme sèche, réduite à une poudre très fine appelée (Seffa), est fréquemment administré par voie orale, mesuré par un pincement ou une cuillère à café suivi par boisson d'eau après chaque repas pour le problème de colon (*Carum carvi* L, *Foeniculum vulgare* Mill) et par voie vaginale dans le cas de kyste ovaire, la combinaison de ces plantes utilisées en poudre sous forme seffa comme *Ajuga, Teucrium, Lavandula, Thymus, Marrubium, Allium sativum ou* par voie rectale tel que l'espèce *Marrubium vulgare* avec la graisse animale sous forme suppositoire contre les hémorroïdes.

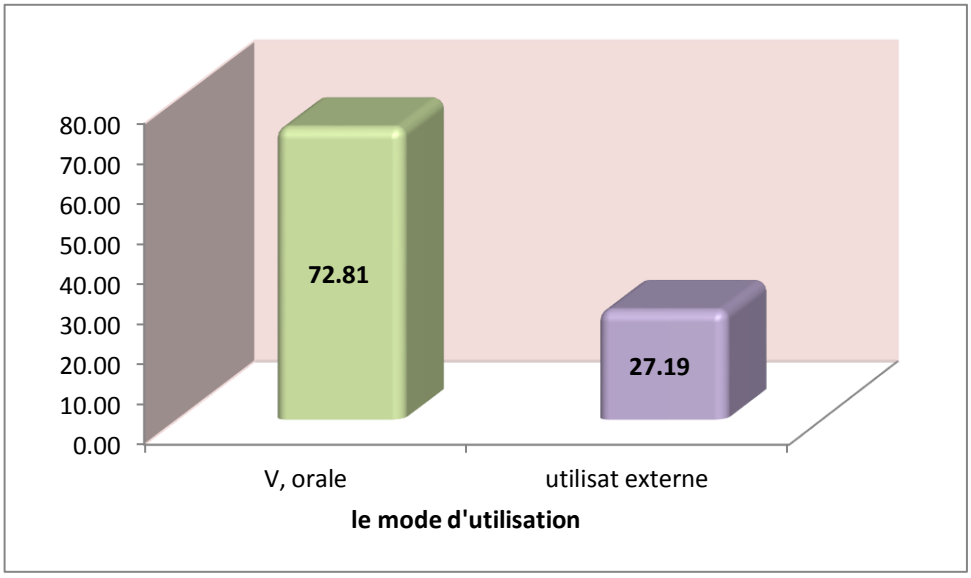


Fig. 07: le pourcentage des recettes utilisées selon le mode d'utilisation

3.6. Application local

La plante fraîche ou décocté est appliquée sur les parties infectées. La plupart de ces remèdes sont indiqués pour des douleurs rhumatismales. Les bains de corps, basés sur la décoction des plantes, sont recommandés pour la dermatite, la gale et l'eczéma. La méthode de percolation et inhalation est recommandée pour des patients souffrant des infections urinaires, la grippe et les maladies provoqués par le froid. Les plantes aromatiques, telle que *Mentha, Lavandula, Thymus, Myrtus*…, sont employées dans ce genre de traitement. Parmi les pratiques les plus utilisées par la population la saignée (hojama) et les massages comme traitement complémentaire.

4. Discussion

L'enquête ethnobotanique de la flore à caractère médicinal dans les régions Ouest et Sud-ouest de l'Algérie, a permis de collecter des informations sur les usages thérapeutiques pratiqués dans ces secteur. Un inventaire floristique de plantes médicinales réalisées. Ces recherches, menées en collaboration avec les différents utilisateurs de plantes, nous ont permis d'identifier 183 espèces médicinales, réparties en 56 familles et 186

genres. Dans 342 recettes (183 espèces) utilisées contre plusieurs maladies. Au maroc, El-Hilaly en 2003 a menée une enquête approfondie et a mis en évidence 102 plantes médicinales appartenant à 48 familles auprès de la population Taounate au Nord du Maroc. Ces plantes sont utilisées pour soulager les symptômes; les plus courants ceux des maladies cardiovasculaires (5,8%), gastro-intestinaux (24,9%), des systèmes de broncho-pulmonaires (9,8%), génito-urinaires (12,2%) et des maladies de la peau (9,2%) [13]. Plus de 1153 de l'ensemble des patients interrogés au Maroc (76%) ont utilisé des plantes médicinales pour soigner régulièrement le diabète, les maladies cardiaques et les maladies rénales. Ces données montrent que la phytothérapie à toujours été pratiquée dans les régions de Meghreb [13]. Toutes les personnes interrogées ont indiqué que les raisons de l'utilisation de la phytothérapie, c'est que les plantes médicinales sont les moins chers et plus efficace que la médecine moderne. Ils ont également indiqué que le résultat de la phytothérapie est meilleure (72%)

L'étude a permis d'inventorier dans les diverses régions, des recettes thérapeutiques traditionnelles. Suivant la tradition, Chaque guérisseur à ses méthodes de préparation. La décoction constitue l'essentiel des préparations des drogues végétales en thérapie traditionnelle. Les parties les plus utilisées sont les feuilles (42%). La prédominance d'utilisation d'un organe par rapport à un autre dans le domaine thérapeutique dérive de la concentration en principes actifs dans cet organe. Les feuilles sont le siège des réactions photochimiques et réservoirs de matières organiques qui en dérivent. En effet, d'après Bitsindou, les écorces et les feuilles sont le siège de la biosynthèse et parfois du stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés biologiques de la plante [14]. Les fruits sont le siège des pigments qui leur donnent une coloration caractéristique. Les fleurs riches en huiles essentielles; il en est de même pour les racines et les graines riches en sucres et vitamines.

La pharmacopée traditionnelle Algérienne traite la plupart des pathologies trouvées dans la population. L'enquête a montré que parmi les recettes les plus utilisées, 89 (26.02%) sont destinées pour la pathologie digestive (indigestion, colo pathie, diarrhée, les parasites intestinale, la constipation, ulcère gastrique, problème hépatique constipation, maux d'estomac) et 42 (12,28%) sont recommandés pour la pathologie dermique (brulure, eczéma, gale, allergie, furonculose, infections habituelles de la peau et traitements externes des morsures du scorpion de serpent. Certaines plantes appartenant à la Famille des Lamiaceae et Apiaceae présentent une indication majeure pour les troubles digestifs et la lithiase urinaire.

Conclusion

L'Algérie est le berceau de diversification d'un grand nombre d'espèces végétales d'intérêt médicinal. Vue ses positions géographiques, Ses régions Ouest et Sud-Ouest sont caractérisées par des traditions médicinales très riches et intéressantes. En effet, ces régions présentent une grande variété d'espèces utilisées dans la médecine populaire (gasto intestinal, colopathie, maladies respiratoire, expulsabilité des calculs, et infections de l'appareil urinaire).

Les données recueillies pour chaque plante comprennent le nom local commun, les usages, la partie utilisée ; le mode de préparation et les effets secondaires s'il y en a lieu. Les enquêtes étaient basées sur les interrogations directes portant sur les usages des plantes citées dans la pharmacopée traditionnelle. Les espèces à caractère médicinal ont été décrites, classées et inventoriées. Cet inventaire a fait ressortir une richesse floristique de 183 espèces végétales réparties en 56 familles. Ces plantes interviennent dans la confection de 342 recettes phytomédicamenteuses entrant dans les soins des diverses maladies.

Les familles les mieux représentées dans les recettes données sont les Lamiacées 39 (11.4%), les Apiaceae 37 (10.8%), les Asteraceae avec 32 (9.4%),

Habituellement, les praticiens emploient les organes aériennes et les racines, 271 (79,24 %) dont (les feuilles 115 (33.63%), les fruits 52 (15.20%) et les fleurs représentent 21 (6.14%), les graines 47 (13.74%), les racines 24 (7.02%), le cortex et le latex sont considérés comme partie aérienne.

L'enquête a également montré que 89 (26.02%) des recettes sont utilisées pour la pathologie digestive (indigestion, colopathie, diarrhée, les parasites intestinale, la constipation, ulcère gastrique, problème hépatique constipation, maux d'estomac). 42 (12,28%) sont recommandés pour la pathologie dermique (brulure, eczéma, gale, allergie, furonculose, infections habituelles de la peau et traitements externes des morsures du scorpion de serpent).

La pathologie féminine (chute des cheveux, perturbation de cycle menstruelle, kyste d'ovaire, accouchement, lactation, infections génitales) occupe la troisième place soit 32 recettes (9,36%) pour ces pathologies. Pour la pathologie respiratoire (allergie, bronchite, tuberculose, toux, ….) seulement 22 recettes (6,43%) sont utilisées. 19 recettes (5,56%) sont utilisées en pédiatrie (rougeole, problème digestif et respiratoire). 17 recettes sont mentionnées soit (4,94%) pour la pathologie buccale (maux de gencive, maladies dentaire, aphte), 16 (4,68%) pour le diabète, 14(4,09%) pour la migraine, 12(3.51%) pour l'hypertention, 11(3,22%) qui sont diurétique, 8(2.34%) pour la grippe, 7(2.05%) pour le cancer, 32(9,36%) autres maladies tel que rhumatisme et l'anémie.

les plantes sont utilisées soit fraîche ou sec, essentiellement sous forme de décoction avec 192 (56.14%), de cataplasme 48 (14,04%), crue sous forme de salade 25 (7,31%), en infusion 33 (9,65%), ou en macération 34 (9,94%). La plante est macérée dans de l'eau, dans le lait, dans le miel, dans l'huile d'olive et parfois dans le vinaigre et 10 autres méthodes.

Sur 342 recettes soit 249 (72.81%) est administrée par voie orale et 93 (27.19%) à usage externe. Le patient boit un à deux verres d'eau par prise. La fréquence de la prise est rarement indiquée, la durée de traitement est de 1,7, 21 jours.

Les populations dites primitives ont des dons d'observation très développés dus à leur vie. Ils peuvent sélectionner les plantes médicinales parmi des plantes toxiques ou sans intérêt. Ce savoir populaire, considéré comme un héritage, peut constituer une plateforme d'échange des expériences, des connaissances et des informations concernant l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales. Malgré les énormes progrès réalisées par la médicine moderne, la phytothérapie offre toute fois plusieurs avantages qui possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent leurs application dans divers domaines à savoir en médicine, cosmétiques, agro culture et en pharmacie. L'idéal est de poursuivre les enquêtes sur ces plantes.

Références bibliographiques

[1].Halberstein R. A. Medicinal plants: historical and cross-cultural usage patterns. Ann. Epidemiol 2005, 15, 686–699.10.1016/j.02.004

[2].Hugo J. de Boer , Vichith Lamxay ,Lars Björk . Compare la connaissance des plantes médicinales à l'aide des indices de similarité: Un cas de Brou, Saek et Kry au Laos Journal d'Ethnopharmacologie 2012.Volume 141, Issue 1: 481-500

[3].Silva VA, Albuquerque UP. Técnicas para análise de dados etnobotânicos. In Albuquerque UP, Lucena RFP (Org.) Métodos e técnicas na pesquisa etnobotânica. NUPEEA, Recife, Brazil 2004 ; 63-88.

[4].Omura S, Microbiol. Rev. 50 259 B. Dave Oomah. Les plantes curatives.Bulletin IBP | numéro 1, 2003

[5].Klingenstein, Frank, Suanne Honnef, Danna J. Leaman et Uwe Schipmann. Sustainable wild collection of medicinal and aromatic plants: practice standars and performance criteria.

[6].Bammi J, Douira A.contribution à la connaissance de la flore vasculaire de la foret de l'achach, plateau central(Maroc). Acta botanica Malacitana, Malaga 2004, 29: 23-

[7].Le Houerou H.N. Définition et limites bioclimatiques du Sahara sécheresse 1990. 1(4): pp 246- 259.

[8].Ozenda P. Flore du Sahara. 1983, C.N.R.S., Paris.

[9].Hammiche V, Maiza k. Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. Journal of Ethnopharmacology 2006, 105: 358-367

[10].El-Hilaly J, Hmammouchi JM, . Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). J Ethnopharmacology 2003, Volume 86, Issues 2–3: 149–158

[11] 2 èmes Journées *Internationales* de la SATOX *2008*. Le Centre National de *Toxicologie* et la Société *Algérienne* de *Toxicologie*, *A*lger

[12]Valnet J. phytothérapie, traitement des maladies par les plantes. Ed : SA Maloine 1982, 5eme ed Paris, 300p.

[13].El Hilaly J, Zafar, Israili, H., Lyoussi B. Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. Journal of Ethnopharmacology 2004, 91: 43–50

[14].Bitsindou M. Enquêtes sur la phytothérapie traditionnelle à Kindamba et Odzala (Congo) et analyse des convergences d'usage des plantes médicinales en Afrique Centrale. Thèse de doctorat, université libre de Bruxelles, 1997: 482 p.

Détermination de résistance et de sensibilité de quelques variétés de fèves (*Vicia faba* L.) vis-à-vis de deux maladies cryptogamiques taches chocolat (*Botrytis fabae* Sard) et anthracnose (*Ascochyta fabae* Speg)

BENZOHRA Ibrahim Elkhalil [1,2]*, BENDAHMANE Boubekeur Seddik[2] et

YOUCEF BENKADA Mokhtar[2]

1-Station Expérimentale du Milieu Biophysique de la Saoura, Béchar - Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides (CRSTRA), Campus universitaire BP 1682 RP, 07000 Biskra. Email : ibrahimelkhalil@live.fr

2- Laboratoire de Protection des Végétaux, Département d'Agronomie, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, BP 188, 27000 Mostaganem.

Résumé

Ce travail consiste à étudier deux maladies cryptogamiques de fèves (*Vicia faba* L.), taches Chocolat causée par *Botrytis fabae* Sard (*BF*) et anthracnose causé par *Ascochyta fabae* (*AB*), deux maladies majeures de la culture. Par l'utilisation du test d'inoculation de folioles détachées, sept (7) variétés d'origines différentes (Giza 40, Giza 02, Giza 461, Sakha 02, Sakha 03, Ziban et Précoce de Séville), ont été utilisées pour évaluer leur résistance ou sensibilité aux deux maladies. Une différence significative ($P<0.05$) a été observée dans la réaction des variétés aux deux agents phytopathogènes *BF* et *AF*. Une sensibilité totale aux deux parasites a été observée chez les trois (3) variétés Giza 02, 40 et 461. Trois (3) variétés (Sakha 02, Sakha 03 et Ziban), sont sensibles au *BF* et résistants à *AF*. Par contre, la variété Précoce de Séville a montré une résistance importante vis-à-vis des deux parasites. Ces résultats ont montré la variabilité pathogénique de *BF* et d'*AF* et expliquent leur complexité épidémiologique et l'instabilité de résistance, qui nous obligent d'étudier d'autres potentialités de résistance et méthodes de lutte.

Mots Clés: *Vicia faba* L., *Botrytis fabae*, taches chocolat, *Ascochyta rabiei*, anthracnose, resistance.

1. Introduction

La fève (*Vicia faba* L.), est une Fabaceae originaire de l'Asie centrale, domestiquée depuis 10000 années (Duc, 1997), et elle est pratiquée dans environ 58 pays (Singh et *al.,* 2012). Elle représente la quatrième culture légumière la plus importante dans le monde derrière les petits pois, les pois chiches et les haricots (Yahia et *al.,* 2012). Cette culture fait partie de nos systèmes agraires depuis longtemps, sa superficie mondiale est estimée à 2,5 millions d'hectares dont plus de 50% se situent en Chine, 20% en Afrique du nord et moins de 10% en Europe (Abu Amer et *al.,* 2011). La production mondiale a arrivé jusqu'à 4,84 Million de Tonnes (Fao, 2019).

En Algérie, la fève reste la plus importante culture vivrière, couvrant une surface de 40361 hectares avec une production totale de 46856 tonnes (Fao, 2019). Au contraire du Monde, la fève occupe la première place parmi les légumineuses en Algérie en raison de sa valeur nutritionnelle élevée et de ses divers usages. Elle est principalement cultivée dans les plaines et les régions sublittorales et a un rôle important dans l'économie nationale et dans la production agricole (Aouar-Sadli et *al.,* 2008).

Cependant, la culture de la fève est sujette à une série de contraintes d'ordre abiotique (sécheresse, gelées printanières), biotique (puceron noir (*Aphis fabae*), bruche (*Bruchus rufimanus*), Botrytis, Ascochytose et rouille) ainsi que socio-économiques (Hamadache et *al.,* 1996 ; Ahmed et *al.*, 2016). Parmi ces contraintes, deux maladies fongiques, anthracnose causé par *Ascochyta fabae* Speg. et taches chocolat causées par *Botrytis fabae* Sard., sont

considérées comme des principales maladies qui affectent la culture de fèves dans plusieurs pays (Madeira et *al*., 1993 ; Benyoussef et *al*., 2002 ; Bouhassan et *al*., 2004a ; Sillero et Rubiales, 2014 ; Sheikh et *al*., 2015).

La lutte chimique contre *Botrytis fabae* et *Ascochyta fabae* est considérée comme efficace pendant plusieurs années, mais n'est pas rentable pour les agriculteurs. Le choix de l'utilisation des cultivars résistants reste la stratégie la plus efficace et la plus économique dans le programme de lutte intégrée contre ces deux contraintes (Tivoli et *al.*, 2006 ; Rubiales et al., 2012).

L'objectif de ce travail est de chercher des sources de résistance de sept (7) variétés de fèves d'origines différentes contre *Botrytis fabae* et *Ascochyta fabae*, par l'utilisation du test d'inoculation de folioles détachées.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel végétal

Sept (07) variétés d'origines différentes ont été utilisées dans le test d'inoculation : Giza 40, Giza 02, Giza 461, Sakha 02, Sakha 03, Ziban et Précoce de Séville (Tableau 01).

2.2. Matériel fongique

Une souche de *Ascochyta fabae* et une souche de *Botrytis fabae* ont été utilisées dans ce test d'inoculation. Les deux souches utilisées dans cette étude, ont été obtenues par un isolement réalisé à partir des feuilles de fèves présentant des symptômes typiques de l'anthracnose (ascochytose) et de taches chocolat (chocolate spot). L'identification de la souche de *Ascochyta fabae* est basée sur les caractéristiques morphologiques et culturales spécifiques pour cette espèce.

La souche de *Botrytis fabae* a été identifiée par les caractéristiques macroscopiques (couleur des colonies, tailles des sclérotes …), et microscopiques (taille des conidies …), pour la distinguer avec l'autre espèce *Botrytis cinerea* (Tableau 02). Toutes les souches sont conservées dans le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar), sous une température de 22±2°c (Bouhassan et *al*., 2003 ; 2004a,b).

Tableau 01 : Variétés de fèves avec leurs 'type et origine'.

Variétés	Types de variété	Origines
Giza 02	Différentielle	ICARDA[a]
Giza 40	Différentielle	ICARDA[a]
Giza 461	Différentielle	ICARDA[a]
Sakha 02	Différentielle	ICARDA[a]
Sakha 03	Différentielle	ICARDA[a]
Ziban	Population	CRSTRA[b]
Précoce de Séville	Standard (variété commerciale)	Séville, Espagne

a : Centre International de la Recherche Agronomique dans les régions Arides, Bikaa, Liban ; b : Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides, Biskra.

Tableau 02 : Critères macro et microscopiques pour la distinction entre *Botrytis fabae* et *B. cinerea* (Zhang et *al*., 2010).

Caractéristiques	*Botrytis fabae*	*Botrytis cinerea*
Type de colonies	cotonneux	duveteux
Couleur de sclérotes	noir	noir
Nombre de sclérote par boite de Pétri	500 - 1100	30 -150
Taille de sclérotes (mm)	0.4 – 3 × 0.3 – 2.1	0.7 – 27.5 × 0.5 – 12
Taille des conidies (µm)	12.9 – 22.7 × 10.5 – 18.5	7.7 – 12.2 × 7.3 – 9.1
Taille des conidiophores (µm)	1005 – 1885 × 14 – 17	935 – 1745 × 14 – 17

2.3. Test d'inoculation artificielle

Les graines de fèves utilisées sont stérilisées avec l'hypochlorite de sodium (à 2%) pendant 3 minutes puis rincées 3 fois avec de l'eau distillée stérile. Ensuite, elles sont semées dans des alvéoles de 10 cm × 5 cm, contenant une tourbe stérile, à raison de 2 graines/pot. Après 15 jours, on peut enlever des folioles pour faire le test d'inoculation à raison de 2 folioles pour chaque répétition (Figure 01). Pour préparer l'inoculum de deux espèces phytopathogènes, on prend les colonies des isolats immergées dans l'eau distillée stérile puis grattées par une spatule de verre stérile. La suspension est ajustée à 3 × 10^6 conidies/ml à l'aide d'une cellule de Malassez (Bouhassan et *al*., 2004a,b).

L'évaluation des symptômes est effectuée 15 jours après l'inoculation des folioles de fèves. La sévérité de la maladie est notée selon l'échelle de notation de Bouhassan et *al.* (2004b), (1, 2, 3, 4 et 5), qui représente respectivement 0%, 10%, 20%, 50% et 100% de la surface de la nécrose. Cet échelle est basé sur le pourcentage de la surface de l'infection par rapport la surface complète de la foliole. Les variétés de fèves inoculées sont classées en classes d'intervalles, les folioles des plantules de variétés notées de 1.0 à 2.9 sont considérées comme résistantes et celles qui sont codées de 3.0 à 5 sont sensibles (Bouhassan et *al*., 2004b).

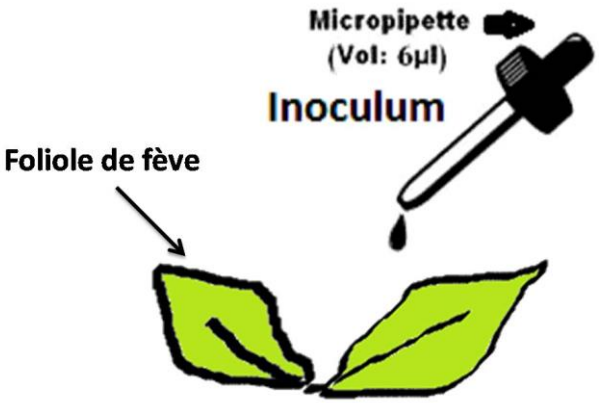


Figure 01 : Schéma représentatif du test d'inoculation artificielle par l'utilisation de la méthode des folioles détachées de fèves.

2.4. Analyse statistique

Les variances (σ^2), les moyennes (x) et les écart-types (σ) des diverses répétitions ont été calculés et analysés selon le logiciel de statistiques XL-Stat (AddinSoft, USA). Le dispositif utilisé est la randomisation totale uni-factorielle avec le

facteur étudié est Résistance/Sensibilité et l'unité expérimentale est intensité de symptômes. Le test choisi est le test de Newman-Keuls ($P_{0.05}$ et $P_{0.01}$).

3. Résultats

Toutes les collectes de notations de symptômes n'ont été effectuées qu'après 7 jours de l'inoculation. Une différence significative (P<0.05) a été observée dans la réaction des variétés aux deux agents phytopathogènes *BF* et *AF* (Tableau 03). D'après les résultats du test de screening en se basant sur la notation de symptômes à partir du pourcentage de l'intensité de symptômes, les résultats sont comme suivants :

- ✓ Une sensibilité totale aux deux parasites a été observée chez les trois (3) variétés Giza02, Giza40 et Giza461, suivi par la mort totale des folioles après 12 jours d'inoculation ;
- ✓ Trois (3) variétés (Sakha 02, Sakha 03 et Ziban), montrent une sensibilité remarquable contre *BF* et une résistance à *AF*.
- ✓ La variété standard 'Précoce de Séville' a montré une résistance importante vis-à-vis des deux parasites (Tableau 03 ; Figure 02).

Tableau 03 : Réaction de sept variétés de fèves aux *Botrytis fabae* et *Ascochyta fabae*.

Variétés	Notations de symptômes [a] ($x \pm Ş$)			
	B. fabae	**Réaction**	***A. fabae***	**Réaction**
Giza 02	$3.66^{c}\pm0.5$	S	$3.66^{c}\pm0.5$	S
Giza 40	$4.33^{d}\pm0.5$	S	$4.66^{d}\pm0.5$	S
Giza 461	$3.66^{c}\pm0.5$	S	$3.66^{c}\pm0.5$	S
Sakha 02	3^{b}	S	$2.33^{b}\pm0.5$	R
Sakha 03	3^{b}	S	$1.66^{a}\pm0.5$	R
Ziban	$3.33^{c}\pm0.5$	S	$2.33^{b}\pm0.5$	R
Précoce de Séville	$1.66^{a}\pm0.5$	R	$1.66^{a}\pm0.5$	R
Réaction globale des varieties	3.23		2.85	
F calculé (P<0.05)	5,66*			

a : cette réaction est représentée par la déterminations des variétés sensibles et résistantes en se basant sur les intervalles de notation des symptômes suivants : 1-2.9 : variété résistante (R) ; 3-5 : v. sensible (S), (Bouhassan et *al.*, 2004a,b).

a, b, c et d : Groupes homogènes.

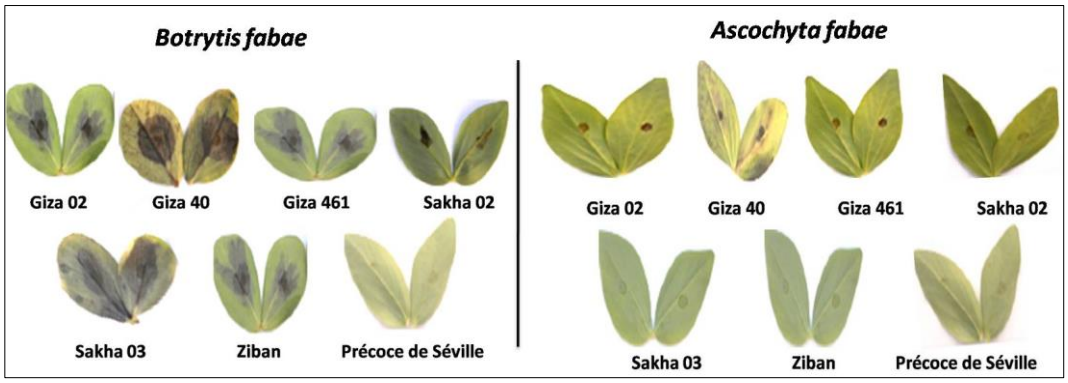


Figure 02 : Symptômes typiques de *Botrytis fabae* et de *Ascochyta fabae* sur les 07 variétés de fèves.

Globalement, les sources de résistance au sein de la gamme de variétés testée est plus importante contre l'ascochytose par quatre (04) variétés résistantes (soit 57% des variétés testées). Par contre, pour deuxième agent pathogène *B. fabae*, seulement une seule variété (Précoce de Séville), qui a donné une résistance contre cette maladie avec 85% des variétés testées ont montré une sensibilité. La réaction globale des variétés de fèves vis-à-vis de *Botrytis fabae* a donné une notation moyenne de 3,23, par contre à *Ascochyta fabae*, ces variétés ont donnée une notation un peu faible avec une notation moyenne de 2,85 (Tableau03). Cette différence a confirmé que la sensibilité de fèves au Botrytis est plus importante que celle à l'ascochytose.

4. Discussion

L'importance de la lutte génétique par l'utilisation des variétés résistantes contre les bioagresseurs de fèves a été rapportée par plusieurs auteurs dans le monde (Bouhassan et *al*., 2004a,b ; Ahmed et *al*., 2016 ; Wolde et Mitiku, 2018 ; Sheikh et *al*., 2015).

Dans notre essai on choisi deux maladies de fèves pour chercher les sources de résistance de sept (07) variétés de fèves, taches chocolat (chocolate spot) causées par *Botrytis fabae* Sard. et ascochytose (anthracnose) causée par *Ascochyta fabae* Speg., ce choix est du à la présence de ces deux maladies en même temps sur champs sous forme d'un complexe parasitaire. Ce cas a été observé en Espagne par Madeira et *al*. (1993), et Sillero et Rubiales (2014).

Une différence remarquable a été observée dans la réaction de variétés vis-à-vis des deux maladies dans notre essai. Cette différence a été signalées dans certains travaux sur *Botrytis fabae* (Villegas-Fernandez et *al*., 2012 ; Wolde et Mitiku, 2018 ; Abd-Rabh et *al*., 2013 ; Bouhassan et *al*., 2004a,b ; Terefe et *al*., 2015), et sur *Ascochta fabae* (Ondrej et Hanady, 2007 ; Sillero et Rubiales, 2014 ; Madeira et *al*., 1993 ; Bayaa et *al*., 2008).

Malgré que la majorité des auteurs dans la bibliographie ont choisi le test de screening sur champs (field screening), mais certains auteurs comme Bouhassan et *al*. (2004a,b) et Madeira et al. (1993), ont confirmé la similarité de résultats de ce type de screening avec d'autres tests comme cut-twig, greenhouse et feuilles détachées. Dans notre essai nous avons choisi le test de screening par les feuilles détachées.

El-Komy et *al*. (2015) ont rapporté dans leurs travaux la sensibilité totale au *Botrytis fabae* de trois variétés de fèves qu'on a les utilisé dans notre essai (Giza 02, Giza 461 et Sakha 02). Ces résultats sont très proches avec ceux obtenus dans notre essai. En Tunisie, Rheim et *al*. (2013) ont remarqué le nombre limité de variétés résistantes au *Botrytis fabae* malgré le nombre important de gamme de variétale testée (67 variétés). Même remarque a été observée dans nos résultats et chez d'autres auteurs (Abd-Rabh et *al*., 2013 ; Wolde et Mitiku, 2018).

Le screening de fèves contre *Ascochyta fabae* avait rapporté depuis les années 70s (Bond et Pop, 1980 ; Hanounik et Robertson, 1989). Dans nos résultats, une différence de réaction de variétés vis-à-vis de *Ascochyta fabae* a été observée, par trois (03) variétés sensibles (Giza 02, Giza 40 et Giza 461) et quatre (04) sont résistantes (Sakha 02, Sakha 03, Ziban et Précoce de Séville). Cette différence de réaction a été rapporté par plusieurs auteurs dans le monde (Hanounik et Robertson, 1989 ; Ondrej et Hunady, 2007 ; Bayaa et al., 2008).

5. Conclusion

Cette étude avait l'objectif pour chercher les sources de résistance de sept (07) variétés de fèves aux taches chocolat causées par *Botrytis fabae* Sard. et anthracnose (ascochytose) causé par *Ascochyta fabae* Speg., deux contraintes majeures de la culture de fèves.

Une différence remarquable a été observée dans la réaction de variétés de fèves aux deux maladies fongiques. Pour le *Botrytis fabae*, une variété seulement qui a montré une résistance importante et toutes les autres variétés sont sensibles. Par contre l'*Ascochyta fabae*, trois (03) variétés sensibles (Giza 02, Giza 40 et Giza 461), et autres quatre (04) ont montré une résistance (Sakha 02, Sakha 03, Ziban et Précoce de Séville).

La variété standard 'Précoce de Séville' a montré une résistance importante, encourageante et prometteuse aux deux maladies fongiques. Cette résistance doit être confirmé par un test de screening sur champs (Field screening), avant de la proposer aux agriculteurs pour la cultiver afin de réduire l'utilisation des produits chimiques et de préserver l'environnement.

6. Références bibliographiques

Abd-Rabh ME, Fayzallah ME, Abou-Zeid NM, Aziza TM (2013). Variation among isolates of Botrytis spp., and interaction between B. fabae isolates and some faba bean vaieties. *Journal of Plant Protection and Pathology, Mansoura Univ.,* 04(01) : 143-150.

Abu-Amer JH, Saoub HM, Akash MW, Al-Abdallat AM (2011). Genetic and phenotypic variation among faba bean landraces and cultivars. *International Journal of Vegetable Science.* 17: 45-59.

Ahmed S, Abang MM, Maalouf F (2016). Integrated management of Ascochyta blight (Ascochyta fabae) on faba bean under Mediterranean conditions. *Crop Protection* 81 : 65-69.

Aouar-Sadli M, Louadi K, Doumandji S-E (2008). Pollination of the broad bean (*Vicia faba* L. var. *major*) (Fabaceae) by wild bees and honey bees (Hymenoptera: Apoidea) and its impact on the seed production in the Tizi-Ouzou area (Algeria). *African Journal of Agricultural Research.* 3 (4): 266-272.

Bayaa B, Abang MM, Monther K, Mahmoud H, Watfa I, Ali S (2008). Morphological and pathogenicity study of Ascochyta fabae Speg. isolates collected from different syrian governorates. *Tishreen Univ. J. Res. Sci. Stud. Biol. Sci. Ser.* 30, 170-179.

Benyoussef NO, Le May C, Mlayeh O, Kharrat M (2002). First report of *Didymella fabae*, teleomorph of *Ascochyta fabae*, on faba bean crop debris in Tunisia. *Phytopathologia Mediterranea* 51 (2) : 369–373.

Bond DA, Lawes DA, Hawtin GC, Saxena MC, Stephens JS (1985). Faba Bean (*Vicia faba* L.). In: Summerfield R.J., Roberts E.H. (ed.): Grain Legume Crops. William Collins Sons Co., Ltd., London, 199–265.

Bouhassan A, Sadiki M, Tivoli B, El Khiati N (2003). Analysis by detached leaf assay of components of partial resistance of faba bean (*Vicia faba* L.) to chocolate spot caused by *Botrytis fabae* Sard. *Phytopathol. Mediterr*., 42: 183-190.

Bouhassan A, Sadiki M, Tivoli B (2004a). Evaluation of a collection of faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes originating from the Maghreb for resistance to chocolate spot (*Botrytis fabae*) by assessment in the field and laboratory. *Euphytica* 135: 55-62.

Bouhassan A, Sadiki M, Tivoli B, Porta-Puglia A (2004b). Influence of growth stage and leaf age on expression of the components of partial resistance of faba bean to *Botrytis fabae* Sard. *Phytopathol. Mediterr*., 43: 318-324.

Duc G (1997). Faba bean (*Vicia faba* L.). Field Crops Resarch 53: 99-109.

El-Komy MH, Saleh AA, Molan YY (2015). Resistance/susceptibility of Faba Bean to *Botrytis fabae*: The Causal Agent of Chocolate Spot with Respect to Leaf Position. *Int. J. Agric. Biol., Vol.* 17, No. 4 : 691-701. doi : 10.17957/IJAB/14.0021

Fao (2019). Fao stat year book. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC

Hamadache A, Ait-Abdallah F, Belloula B (1996). Effet de l'environnement, de la date de semis et du désherbage sur le rendement en grain et ses composantes chez la fève (*Vicia faba* L.). *Céréaliculture.* No. 29: 15-18.

Hanounik SB, Robertson LD (1989): Resistance in *Vicia faba* germplasm to blight caused by *Ascochyta fabae*. *Plant Disease* **73**: 202–205.

Madeira AC, Fryett KP, Rossall S, Clark JA (1993). Ineraction between *Ascochyta fabae* and *Botrtytis fabae*. Mycological Research 97 (10) : 1217-1222.

Ondrej M, Hunady I (2007). Faba Bean (*Vicia faba* L.) Breeding for Resistance to Anthracnose (*Ascochyta fabae* Speg.) in the Czech Republic. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 43(2): 61–68.

Rhaïem, A., M. Cherif, M. Kharrat, M. Cherif and M. Harrabi, 2002. New faba bean genotypes resistant to chocolate spot caused by *Botrytis fabae*. *Phytopathol. Mediterr*., 41: 99-108.

Rubiales D., Avila C.M., Sillero J.C., Hybl M., Narits L., Sass O., Flores F. (2012): Identification and multi-environment validation of resistance to *Ascochyta fabae* in faba bean (*Vicia faba*). *Field Crop Research* 126: 165–170.

Sheikh F, Dehghani H, Aghajani MA (2015). Screening faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes for resistance to Stemphylium blight in Iran. *Eur J Plant Pathol* (2015) 143:677–689. Doi : 10.1007/s10658-015-0718-4

Sillero JC, Rubiales D (2014). Response of *Vicia* Species to *Ascochyta fabae* and *Uromyces viciae-fabae Czech J. Genet. Plant Breed., 50, 2014 (2): 109–115.*

Singh AK, Bhatt B.P, Upadhyaya A, Kumar S, Sundaram PK, Singh BK, Chandra N, Bharati RC (2012). Improvement of faba bean (*Vicia faba* L.) yield and quality through biotechnological approach: A review. *African Journal of Biotechnology* 11(87): 15264-15271.

Terefe H, Fininsa C, sahile S, tesfeye K (2015). Effect of temperature on growth and sporulation of *Botrytis fabae* and resistance reactions of faba bean against the pathogen. *Plant Pathology and Microbiology* 06 : 285. doi : 10.4172/2157-7471.1000285

Tivoli B, Baranger A, Avila CM, Banniza S, Barbetti M, Chen W, Davidson J, Lindeck K, Kharrat M, Rubiales D, Sadiki M, Sillero JC, Sweetingham M, Muehlbauer FJ (2006). Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. *Euphytica* 147 : 223-253.

Villegas-Fernández AM, Sillero JC, Rubiales D (2012). Screening faba bean for chocolate spot resistance, evaluation methods and effects of age of host tissue and temperature. *Eur. J. Plant Pathol*. 132: 443-453.

Wolde M, Mitiku A (2018).Evaluation of Faba Bean (*Vacia faba L.*) Varieties for Chocolate Spot (*Botrytis fabae L.*) Disease Resistance at Bale Zone, Southeastern Ethiopia. Agri Res & Tech: Open Access J. Volume 18 Issue 4 - November 2018.
doi: 10.19080/ARTOAJ.2018.18.556067

Yahia Y, Guetat A, Elfalleh W, Ferchichi A, Yahia H, Loumerem M (2012). Analysis of agromorphological diversity of southern Tunisia faba bean (*Vicia faba* L.) germplasm. *African Journal of Biotechnology.* 11 (56): 11913-11924.

Zhang J, Wu MD, Li GQ, Yang L, Yu L, Jiang DH, Huang HC, Zhuang WY (2010). *Botrytis fabiopsis*, a new species causing chocolate spot of broad bean in central China. *Mycologia* 102(5) :,1114–1126. doi: 10.3852/09-217.

Etude des interactions au sein d'une communauté composée de bactéries lactiques du genre *Lactococcus* et *Leuconostoc*.

Meghoufel N.L[1]., Benkrizi N[1]., Dahloum L[2]., Benotmane K[1]. et Homrani AEK[1]

[1]Laboratoire de sciences et techniques de production animale. Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem
[2]Laboratoire de Physiologie Animale Appliquée (LPAA), Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem
Correspondance : meghoufelnaima@yahoo.fr

Résumé

Les microorganismes vivent en communauté et interagissent entre eux en créant une dynamique qui convient aux besoins du microbiote. Dans les produits laitiers, l'expression métabolique des microorganismes présents, conduit à l'apparition de multiples interactions entre les différentes souches microbiennes, dont l'effet déterminera les caractéristiques organoleptiques des produits finis. Afin de comprendre quel effet les interactions entre bactéries lactiques ont sur certaines de leurs aptitudes technologiques, une communauté a été étudiée par méthode directe et indirecte. Une communauté a été composée à partir de 6 souches différentes de bactéries lactiques (3 souches du genre *Lactococcus* et 3 *Leuconostoc*). L'inhibition au sein de cette communauté a d'abord été testé par la méthode de Fleming (1975), et les pouvoirs acidifiant, protéolytique et lipolytique ainsi que la production d'acétoïne ont été testés et comparés aux performances individuelles des souches.

Aucune inhibition n'a été observée à l'issue du test de Fleming, on peut supposer dès lors que les 6 souches sont simultanément présentes dans la communauté au cours du temps. Il n'y pas eu d'interactions positives stimulantes du pouvoir acidifiant de la communauté. Bien que l'activité protéolytique da la communauté soit dans la moyenne de celle des souches, elle n'atteint pas les valeurs des souches performante, ce qui suppose qu'il y a une régulation défavorable à cette activité. L'activité lipolytique a été bloquée dans la communauté par des interactions négatives. Cela a été observé également pour la synthèse d'acétoïne qui a disparu malgré la présence d'une seule souche négative à cette activité au sein de la communauté.

Dans une communauté de bactéries lactiques, un système de régulation des activités métaboliques s'installe afin de répondre aux besoins communs des souches, cela n'abouti pas toujours à une coopération, et peut comme dans le cas de notre communauté, s'exprimer par des interactions négatives qui restent à en évidence par une étude protéomique.

Mots clés : *Communauté ; interactions bactériennes ; bactéries lactiques ; régulation ; inhibition ; aptitudes technologiques.*

Introduction

Les différents microbiotes qui existent s'organisent en communauté complexes, où les diverses fonctions métaboliques des microorganismes présents sont exprimées, Le développement des microorganismes dans ces écosystème implique des interactions, positives ou négatives entre eux et qui affectent leur environnement (*Bonaiti et* al*., 2005*). Dans les produits laitiers, la dynamique crée par ce mélange de microorganismes et sous des conditions précises conduit à la formation de produits fermentés (*Imran et* al*., 2013*). Les interactions microbiennes détermineront les caractéristiques organoleptiques du produit final, toute fois, qu'elles aient un

effet stimulant ou inhibiteur sur la dynamique du microbiote laitier, ces interactions donnent parfois des résultats inattendus et insatisfaisant. Les différentes interactions possible entre microorganismes ne sont ni exclusives à ces populations ni statiques dans le temps, elles dépendent des conditions environnementales ainsi que de l'état physiologique des microorganismes (Guennoc, 2017). Les interactions des bactéries lactiques sont difficiles à étudier dans les fromages car les écosystèmes fromagers sont complexes, et la matrice est hétérogène de composition très diversifiée. Néanmoins certains effets ont été bien étudiés, surtout en ce qui concerne les bactéries mésophiles ; Des interactions de type commensalisme et compétition ont été identifiées dans les écosystèmes fromagers où il y a présence simultanée de souches fortement protéolytiques et acidifiantes et d'autres présentant une faible protéolyse et une acidification lente (*Flambart et* al*., 1997*). Des interactions positives de coopération entre des souches de bactéries lactiques mésophiles dans les fromages permettent la stimulation de la formation d'arômes, sans affecter la croissance des souches. Cette coopérations est possible entre souches de la même espèce (*Ayad et* al*., 2001*) ainsi qu'entre des souches d'espèces ou de genres différents (*Kieronczyk et* al*., 2003*). L'objectif de cette étude est d'observer les effets des interactions sur certaines aptitudes technologiques entre des souches de bactéries lactiques au sein d'une communauté.

Méthodologie

1. La communauté est composée de 6 souches de bactéries lactiques isolées du Jben de chèvre de la wilaya de Naâma et identifiées par MALDI TOF/MS : 3 souches de *Lactococcus lactis* (LIJC1, LIJC2 et LIJC4) et 3 autres souches de *Leuconostoc mesenteroïdes* : (LmJC1, LmJC3 et LmJC5). Pour chaque teste mené un volume égal d'une culture pure fraiche de chacune des souches (10^6 UFC/ml) a été prélevé (1 :1 :1 :1 :1 :1).

Les inhibitions des souches entre elles ont été étudiées par la méthode de culture séquentielle décrite par Fleming et al (1975), considérant à chaque fois une des 6 souches sélectionnées comme indicatrice et les autres souches en communauté de 5 comme potentiellement inhibitrices.

- La communauté est formée à partir de cultures fraiches des 6 souches, après une bonne agitation, elle est ensemencée en spots sur un milieu M17 solide (lactose à 1%, pH 6.8) puis incubées à 30°C pendant 24h.
- Pour chaque souche indicatrice, 0.5ml d'une culture overnight sur bouillon M17 est ensemencé dans 7ml de gélose molle de M17 (lactose à 1%, pH 6.8) maintenue à l'état liquide à 35°C.
- Après avoir observé une croissance pour tous les spots, la gélose molle est coulé à la surface des boites directement sur les spots puis incubée de 24 à 48h à 30°C.

2. Pour analyser l'effet des interactions inter-communauté, les aptitudes des souches en cultures pures sont étudiées puis comparées à celles de la communauté.

• Le pouvoir acidifiant : La mesure de l'activité d'acidification consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acide lactique par la soude Dornic. Les souches pures et la communauté ont été ensemencée à 1% dans du lait écrémé stérile, chacune à partir de cultures fraiche, puis incubés à 30°C (*Macijewski et* al*., 1998*). Les mesures du pH et de l'acidité titrable ont été prises toutes les 2 heures à partir de l'heure 0 jusqu'à 20heures d'incubation.

• L'activité protéolytique : cette aptitude a été mise en évidence sur des milieux PCA-Lait à différentes concentrations de lait écrémé : 1% - 2% - 4% - 5% - 8%. Pour cela 5µl de chaque inoculum ont été déposés à la surface de disques stériles disposés sur le milieu de culture. L'observation se fait après une incubation à 30 °C pendant 24 à 48 heures. Le résultat positif se traduit par une zone de lyse (claire) de plus de 0.5mm autour de la biomasse. Le diamètre de chaque zone a été mesuré.

• L'activité lipolytique : (adaptée de Helist and Korpela., 1998) La lipolyse a été mise en évidence sur gélose aux triglycérides pour les isolats et sur Milieu MRS gélosé, additionné de d'un substrat lipidique (beurre) à raison de 10ml/L. Comme pour la protéolyse, 5µl de chaque inoculum ont été déposés à la surface de disques stériles disposés sur le milieu de culture. L'observation se fait aussi après une incubation à 30 °C pendant 24 à 48 heures.

La lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement autour des disques accompagné d'un dépôt (*Guiraud, 2003*), il s'agit de cristaux de sels de calcium (*Plou et* al*., 1998*); la précipitation des cristaux de savon calcique est visible à l'œil nu.

• Production d'acétoïne : La recherche de la production d'acétoïne a été analysée par chromatographie gazeuse couplée au spectromètre de masse selon la méthode mise au point par Pogačić et al (2015); la méthode de fabrication d'un fromage frais a été mimée pour préparer des échantillons pour chaque souche ainsi que la communauté, toutes ensemencées à 5% dans du lait entier. L'incubation s'est faite à 25°C pendant 20heures, (il n'ya pas eu d'étapes d'égouttage pour des raisons pratiques). La détection des composés volatiles et semi-volatiles a été exécutée par désorbeur thermiqueGC/MS.

Résultats

- Inhibition dans la communauté : Aucune zone d'inhibition n'a été observée, la croissance de chaque souche indicatrice n'est pas inhibée par le reste de la communauté, donc il n'y a pas d'inhibition de croissance au sein de la communauté.

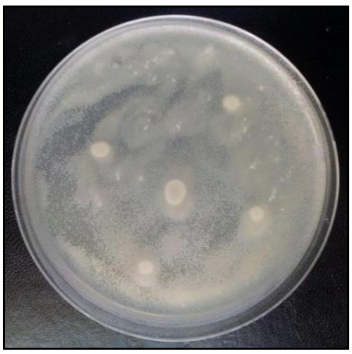


Figure 01: Quelques résultats des interactions communauté - souche.

L'activité acidifiante : L'évolution du pH ainsi que l'acidité Dornic de la communauté et des souches lactiques qui la composent, durant 20 heures d'incubation à 30°C, présentés dans les tableaux 01 et 02, nous indique une vitesse d'acidification faible pour 5 des souches testées (LmJC1, LmJC3, LlJC1, LlJC2 et LlJC4), car aucune n'a atteint le pH 5 durant les 6 premières heures d'incubation, et leurs vitesses d'acidification après 20 heures se situe dans un intervalle de 1,16 à 1,29 unités pH ce qui est assez bas; les valeurs de l'acidité titrable sont aussi insuffisantes pour une bonne acidification du milieu car elle ne dépasse pas 59,33 degrés Dornic après 20heures d'incubation. La souche LmJC5 a une acidification moyenne, car elle atteint un pH de 5,16 après 20 heures d'incubation, même si sa vitesse d'acidification pendant les 6 premières heures reste basse (pH 6,19 après 6 heures d'incubation). D'un autre coté cette souche n'est pas performante par rapport à la production d'acide lactique, qui n'atteint que 68 degrés Dornic après 20heures d'incubation. De son coté la communauté exprime aussi un pouvoir acidifiant insuffisant, elle est composée de souches à acidification lentes, ce qui n'a pas permis d'avoir des interactions stimulante pour cette activité. Sa vitesse d'acidification est la moyenne des vitesses d'acidifications des souches qui la compose (que ce soit à 6 ou 20 heures) et l'acidité Dornic mesurée pour la communauté est par contre au dessus de la moyenne des autres souches mais reste insuffisante pour un bon pouvoir acidifiant.

Tableau 1 : Variations du pH de la communauté et les six souches qui la composent au cours du temps.

Temps (Heure)	LmJC1	LmJC3	LlJC1	LmJC5	LlJC2	LlJC4	COM	T neg
0H	6,65	6,63 (0,02)	6,68 (0.02)	6,69 (0,01)	6,64 (0,01)	6,70 (0,006)	6,63	6,75 (0,01)
2H	6,46 (0,07)	6.46 (0,06)	6,57 (0,02)	6,58 (0,01)	6,57 (0,02)	6,64 (0,01)	6,61	6,73 (0,01)
4H	6,31 (0,02)	6,42 (0,06)	6,34 (0,02)	6,36 (0,01)	6,29 (0,02)	6,47 (0,01)	6,4	6,71 (0,02)
6H	6,23 (0,03)	6,27 (0,07)	6,16 (0,015)	6,19 (0,015)	6,10 (0,015)	6,28 (0,015)	6,2	6,68 (0,03)
8H	6,02 (0,08)	5,96 (0,06)	5,83 (0,015)	5,88 (0,02)	5,80 (0,03)	6,01 (0,006)	5,87	6,65 (0,05)
10H	5,93 (0,07)	5,87 (0,06)	5,73 (0,01)	5,69 (0,015)	5,68 (0,06)	5,92 (0,015)	5,75 (0,01)	6,62 (0,01)
12H	5,86 (0,05)	5,77 (0,06)	5,64 (0,017)	5,56 (0,004)	5,59 (0,06)	5,83 (0,006)	5,64 (0,02)	6,58 (0,01)
14H	5,77 (0,05)	5,67 (0,06)	5,55 (0.03)	5,47 (0,005)	5,51 (0,06)	5,74 (0,006)	5,60 (0,03)	6,55 (0,01)
16H	5,68 (0,04)	5,59 (0,06)	5,47 (0,03)	5,44 (0,02)	5,46 (0,017)	5,64 (0,01)	5,52 (0,04)	6,52 (0,03)
18H	5,59 (0,04)	5,59 (0,06)	5,43 (0,03)	5,24 (0,02)	5,44 (0,006)	5,63 (0,006)	5,46 (0,05)	6,24 (0,01)
20H	5,49 (0,02)	5,47 (0,06)	5,39 (0,026)	5,16 (0,02)	5,40 (0.015)	5,53 (0,006)	5,38 (0,04)	6,02 (0,01)

T neg : témoin négatif ; les valeurs entre parenthèses sont les écart-types.

Tableau 2: Evolution de l'acidité Dornic des souches lactiques testées et de la communauté en fonction du temps d'incubation.

Temps	LmJC1	LmJC3	LlJC1	LmJC5	LlJC2	LlJC4	COM	T neg
0H	16,33 (0,58)	16,33 (0,58)	16.33 (0,58)	14,83 (0,29)	17	15,33 (1,15)	16,67 (0,58)	14,33 (0,58)
2H	17,33 (0,58)	18	17.33 (0,58)	16,33 (0,58)	17,67 (0,58)	16,33 (0,58)	16,67 (0,58)	15,33 (0,58)
4H	19,33 (0,58)	20,33 (0,58)	19.33 (0,58)	18,33 (0,58)	21,33 (0,58)	18,67 (0,58)	20 (1,00)	15,67 (0,58)
6H	22,67 (1,15)	23.33 (1,15)	25,33 (0,58)	25,33 (1,15)	30 (2,00)	22,67 (1,15)	31,33 (0,58)	15,67 (0,58)
8H	33,67 (3,21)	30	34 (1,00)	35 (1,00)	37,33 (0,58)	28,33 (0,58)	38,67 (0,58)	16,33 (0,58)
10H	34 (1,73)	35,67 (1,15)	36,33 (1,15)	44,33 (1,15)	43 (1,00)	31,33 (0,58)	49,33 (0,58)	17
12H	35,67 (1,15)	38,67 (1,53)	40 (2,00)	47 (1,00)	48 (1,00)	37 (1,00)	52,33 (0,58)	17,67 (0,58)
14H	39 (1,00)	46,67 (1,53)	48	52	50,67 (1,15)	38,67 (1,15)	54,67 (1,15)	18,67 (0,58)
16H	41,67 (0,58)	49,67 (0,58)	52	58,67 (1,15)	52 (1,00)	41,67 (0,58)	57,33 (1,15)	19,67 (0,58)
18H	41,67 (1,53)	55 (1,73)	56,67 (1,15)	64	55,67 (0,58)	45,33 (1,15)	61 (1,00)	24,33 (0,58)
20H	45,67 0,58)	59,33 (2,08)	59,33 (2,08)	68 (2,65)	59,33 (0,58)	49 (1,00)	66 (1,00)	32

T neg : témoin négatif ; les valeurs entre parenthèses sont les écart-types.

L'activité protéolytique : Les résultats de l'activité protéolytique des souches et de la communauté après 24 heures d'incubation résumés dans le tableau 03, indiquent que toutes les souches ainsi que la communauté ont une bonne activité protéolytique, appréciable et utile en industrie fromagère se situant dans un intervalle acceptable. La souche la plus performante est: LlJC2 (du genre *Lactococcus*) et celle ayant les diamètres de zone de lyse le plus bas est LmJC5 (du genre *Leuconostoc*). La communauté arrive presque toujours avant dernière dans le classement des diamètres mais présentant des résultats dans la moyenne. Il y a deux types d'interactions, d'abord la

compétition pour les acides aminés libres entre les différentes souches jusqu'à leur épuisement, puis s'installe des interactions de commensalisme, où les souches moins protéolytiques profitent de l'activité des souches performantes pour subvenir à leur besoin en substrat azoté (Flambart et *al.*, 1997). Cela a conduit à faire travailler les souches fortement protéolytiques de manière plus intense, cela s'est reflété dans le fait que les diamètres de zones de lyses de la communauté s'approchent des valeurs basses de la protéolyse et n'atteigne jamais les diamètres des souches performantes, et indique clairement qu'il y a eu un mécanisme de régulation qui a été défavorable à la communauté, cela indique une autre interaction négative (inconnu à ce stade) qui a diminué l'activité protéolytique.

Tableau 3 : Moyennes des moindres carrées des diamètres de lyse chez les souches étudiées isolées et chez la communauté après 24 h.

Souches	Pourcentages de poudre de lait rajoutée					
	1%	2%	4%	5%	8%	Total
LmJC1	16.82^{aA} (0,94)	14.26^{bA} (0,11)	13.53^{bcAB} (1,21)	$12,73^{bcAB}$ (1,79)	$11,85^{cA}$ (0,28)	$13,83^{ABC}$ (1,96)
LmJC3	$16,42^{aA}$ (5,71)	$15,03^{aA}$ (6,88)	$14,90^{aA}$ (2,32)	$14,05^{aA}$ 5,11	$12,33^{aA}$ (2,3)	$14,52^{AB}$ (4,34)
LlJC1	$15,43^{aA}$ (2,20)	$14,24^{abA}$ (1,11)	$12,64^{abAB}$ (1,66)	$11,83^{bAB}$ (2,38)	$11,38^{bA}$ (1,77)	$13,10^{BC}$ (2,28)
LmJC5	$13,55^{aA}$ (1,77)	$12,10^{abA}$ (1,99)	$10,10^{abB}$ (1,58)	$9,39^{bB}$ (2,10)	$8,48^{bB}$ (1,95)	$11,18^{D}$ (2,48)
LlJC2	$16,89^{aA}$ (2,07)	$16,30^{abA}$ (1,86)	$15,40^{abA}$ (0,95)	$13,65^{abAB}$ (1,05)	$13,00^{bA}$ (1,54)	$15,15^{A}$ (2,05)
LlJC4	$17,64^{aA}$ (0,22)	$15,52^{abA}$ (1,28)	$12,80^{bAB}$ (3,88)	$12,22^{bAB}$ (1,54)	$11,85b^{A}$ (0,79)	$14,00^{ABC}$ (2,85)
COM	$15,95^{aA}$ (0,46)	$12,65^{bA}$ (0,32)	$12,16^{bcAB}$ (0,12)	$11,20^{cdAB}$ (1,14)	$11,02^{dA}$ (0,35)	$12,59^{CD}$ (1,91)

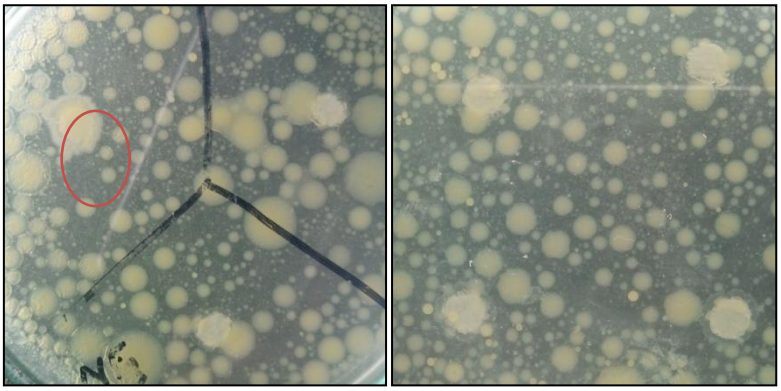
a, b,c,d : les lettres différentes sur la même ligne indiquent des différences significatives au seuil de 5% ; A,B,C,D : les lettres différentes sur la même colonne indiquent des différences significatives au seuil de 5%, les valeurs entre parenthèses sont les écart-types ; n=3.

L'activité lipolytique : En ce qui concerne le test de lipolyse, il ya eu un seul résultat positif (la souche LlJC2) observé par une zone claire très étroite et un dépôt des blanc autour des biomasses. Quant à la communauté et les 5 autres souches, un résultat est négatif a été observé (Figure 02), il n'y a ni zone claire ni dépôt autour des biomasses même après 72h d'incubation à 30°C.

Tableau 4 : Résultats du test de lipolyse pour la communauté et les souches qui la composent

N°	Souches testées	Dépôt+ zone claire
1	Lm JC1	-
2	Lm JC3	-
3	Ll JC1	-
4	Lm JC5	-
5	Ll JC2	+
6	Ll JC4	-
7	COM	-

Ce résultat était attendu vu que les bactéries lactiques sont très peu lipolytiques dû au fait que leurs estérases ont une forte affinité et parfois une spécificité à un substrat donné (Corrieu and Luquet, 2008), cela pourrait expliquer le résultat positif de la souche LIJC2 qui a pu manifester son activité dans ce milieu précis.



a b

Figure 2 : Observation de l'activité lipolytique; a : les souches; b : la communauté.

En ce qui concerne la communauté il y a eu une inhibition de la lipolyse de la souche LIJC2, les interactions entre les 6 souches ont bloqué cette activité.

La production d'acétoïne : cette activité a été détectée chez 5 des souches testées à des niveaux élevés, mais elle est négative pour la souche LIJC1. On observe aussi que la communauté a été incapable de produire de l'acétoïne, ce qui indique que la coopération attendue entre une souche productrice d'arome et une autre déficiente pour cette activité n'a pas eu lieu, il y a même eu inhibition de ce pouvoir. Donc les interactions dans ce cas précis ont eu un effet négatif sur cette activité, ce qui ne veut pas non plus signifier que c'est un effet négatif pour la communauté, car cela peut indiquer aussi une orientation du métabolisme des souches mis en commun vers la production d'autres arômes. Cette hypothèse est vérifiable en comparant les autres résultats de la GC/MS.

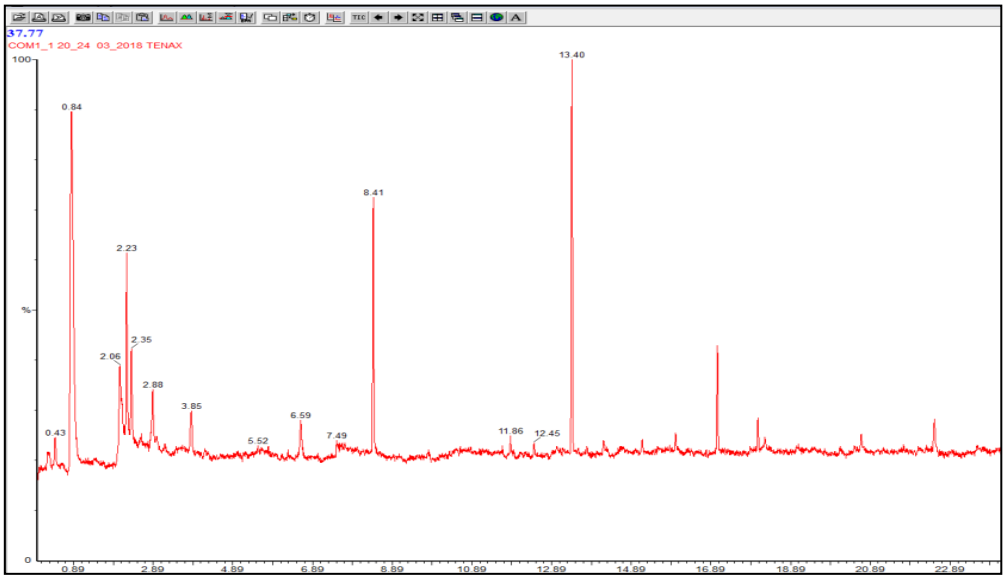


Figure 3: Chromatogramme de l'analyse du volatilome de la communauté.

Tableau 5: Résultats de la production d'acetoïne

N°	Souches testées	acétoïne
1	Lm JC1	+
2	Lm JC3	+
3	Ll JC1	-
4	Lm JC5	+
5	Ll JC2	+
6	Ll JC4	+
7	COM	-

Conclusion

Dans notre communauté composée des souches des espèces *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenterïdes*, un système de régulation des activités métaboliques s'est installé afin de répondre aux besoins communs des bactéries présentes. Les impacts des interactions produites et à plusieurs niveaux sur les aptitudes des souches mélangées entre elles se sont manifestées par l'inhibition de certaines activités métaboliques comme la lipolyse ainsi que la production d'acétoïne et l'affaiblissement du pouvoir protéolytique qui était pourtant assez fort chez les souches en cultures pures. Il n'y a pas eu de stimulation observable notamment pour le pouvoir acidifiant. Ces résultats n'indiquent pas forcement que les interactions ont été totalement négatives pour la communauté, une étude plus approfondie par méthode protéomique du type d'interactions produites et de la régulation métabolique mise en œuvre pourrai mettre en évidence un changement dans les priorités des souches, et la spécialisation de la communauté dans la production de nouveaux composés et notamment aromatiques.

Références

Ayad E.H.E., Verheul A., Engels W.J.M. and Smit G., 2001. Enhanced flavour formation by combination of selected Lactococci from industrial and artisanal origin with focus on completion of metabolic pathway. Journal of Applied Microbiology*, 90: 59-67*

Bonaiti C., Irlinger F., Spinnler H.E. and Engel E., 2005. An iterative sensory procedure to select odor-active associations in complex consortia of microorganisms: application to the construction of a cheese model. *Journal of Dairy Science,* 88: 1671-1684

Flambart B., Richard J. and Juillard V., 1997. Interaction between proteolytic strains of *Lactococcus lactis* influenced by different types of proteinase during growth in milk. *Applied environmental Microbiology*, 63: 2131-2135.

Fleming H.P., Etchells J.L and Costillow R.N., 1975. Microbiological inhibition of isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. *Applied and Environmental Microbiology*, 30: 1040-1042.

Guennoc C.M., 2017. Etude de l'interaction physique entre le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* S238N et la bactérie auxiliaire de la mycorhization Pseudomonas fluorescens BBc6, Thèse de Doctorat, Université de Lorraine

Guiraud J.P., 2003. Microbiologie alimentaire*. Dunod-RIA., p696.*

Helist P. and Korpela T., 1998. Effect of detergents on activity of microbial lipases as measured by nitro phenyl alkonoate esters method. *Enzyme and Microbial Technology*. 23: 113-117

Imran M., Bré J-M., Guéguen M., Vernoux J-P and Desmasures N., 2013. Reduced growth of *Listeria monocytogenes* in two model cheese microcosms. *Food Microbiology,* 33

Kieronczyk A., Skeie S., Langsrud T. and Yvon M., 2003. Cooperation between *Lactococcus lactis* and nonstarter lactobacilli in the formation of cheese aroma from amino acids. *Applied and Environment Microbiology*, 69: 734-739.

Macijewski T., Limsowtin G.K.Y. and Powell I.B., 1998. Modified starter activity tests. *Australian Journal of Dairy Technology*, 53: 135.

Plou F.G., Ferrer M., Nuevo O.M., Alcalde M., Reyes F. and Ballestero A., 1998. Analysis of Tween 80 as an esterase/lipase substrate for lipolytic activity assay. Biotechnology Techniques*, 12: 183-186.*

Pogačić T., Maillard M-B., Leclerc A., Hervé C., Chuat V., Valence F. and Thierry A., 2015. *Lactobacillus* and *Leuconostoc* volatilomes in cheese conditions. *Applied Microbial and Cell Physiology.* DOI 10.1007/s00253-015-7227-4

Isolement et identification des champignons filamenteux telluriques impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures pétroliers.

BENGUENAB Asma et CHIBANI Abdelwaheb

Laboratoire de Microbiologie et Biologie végétale, Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Mostaganem.
asma.bengueneb@univ-mosta.dz

Résumé

La pollution des sols par le pétrole et ses dérivés causés par des déversements accidentels est un problème préoccupant dans l'environnement. Il est bien connu qu'il existe un groupe de micro-organismes principaux capables de consommer les hydrocarbures pétroliers, qui sont les bactéries et les champignons. Des isolats fongiques dégradants les hydrocarbures ont été isolés à partir d'un sol pollué au pétrole algérien. Des tests préliminaires ont été adoptés pour sélectionner les champignons filamenteux capables d'utiliser les hydrocarbures pétroliers comme seule source de carbone. Une évaluation de la capacité relative de chaque champignon à dégrader le pétrole brut a été faite par la méthode utilisant l'indicateur redox DCPIP (2,6-dichlorophenol indophénol). La quantité du pétrole résiduel et de biomasse fongique de chaque isolat ont été déterminée après une période d'incubation en milieu minéral par la méthode gravimétrique. A partir de sept champignons isolés, deux souches appartenant au genre *Aspergillus* ont montré un pouvoir remarquable de biodégradation du pétrole. Le taux de biodégradation atteint par la souche la plus active est proche de 54,09%. Une augmentation significative du poids sec du mycélium a été observée chez les deux isolats en présence de 2% de pétrole. L'ensemble des résultats obtenus justifie la possibilité d'impliquer les champignons filamenteux pour le développement des protocoles de bioremédiation des hydrocarbures dans les sols contaminés.
Mots clés : Hydrocarbures pétroliers, biodégradation, champignons filamenteux, bioremédiation, sols.

1. Introduction

Le pétrole, première source d'énergie, a connu une progression ininterrompue de son extraction pendant plus d'un siècle.La croissance exponentielle de l'utilisation des produits pétroliers, a multiplié les risques de contamination du milieu naturel. En effet, toute rupture de charge au cours de la production, du transport, ou de l'utilisation des hydrocarbures est génératrice de contamination. Ce fait est observable à tous les échelons, du tanker géant à l'utilisation domestique.

Le pétrole représente un mélange d'hydrocarbures aromatiques et aliphatiques (Wu et *al.,* 2013),dans lequel les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont au centre des préoccupations en raison de leur persistance dans l'environnement et de possibles effets nocifs sur la santé humaine. Plusieurs HAP sont cancérogènes et / ou mutagènes, ce qui rend la remédiation des sites polluées par le pétrole une principale priorité(Radwan*et al.,* 2005).

La Bioremédiation est un moyen de nettoyer des environnements contaminés en exploitant les diverses capacités métaboliques des micro-organismes à convertir les contaminants aux produits moins nocifs par la minéralisation, la génération de l'oxyde de carbone et l'eau, ou par conversion en biomasse microbienne (Baggott, 1993).

Si les applications dans le domaine de la bioremédiation se sont jusqu'à présent majoritairement focalisées sur les bactéries et la diversité métabolique qu'elles offrent, la bioremédiation fongique se révèle également prometteuse (Cerniglia, 1997). Ces microorganismes représentent environ 75% de la biomasse des sols

(Ritz et Young, 2004) et peuvent former des réseaux mycéliens sur des centaines d'hectares (Ferguson *et al.*, 2003). Ce règne du vivant renferme ainsi des capacités enzymatiques très diverses dont la possibilité de dégrader les composants de la lignine du bois à la structure polyaromatique complexe (Bennett *et al.*, 2002).

Les micro-organismes dégradants le pétrole sont abondants et ne sont pas limités aux endroits associés à la production du pétrole, mais sont présents dans tout environnement concevable (Odu, 1978).

L'objectif de cette étude est d'isoler et de sélectionner des champignons filamenteux avec des potentiels de tolérer et dégrader les hydrocarbures pétroliers pour contribuer à la restauration des sols pollués par le pétrole.

2. Matériels et méthodes

2.1. Conditions d'échantillonnage

L'échantillon du sol non-contaminéprovient d'une parcelle de terre située à la région de Kharrouba à l'Est de Mostaganem, Algérie. Le prélèvement correspond à la couche superficielle du sol (0 – 15 cm). L'échantillon du sol collecté a été séché à l'air libre ensuite broyés et tamisés à 2 mm pour éliminer les grosses particules et les résidus des végétaux (Wu *et al*, 2016).

Le pétrole brut (zone industriel de HassiR'melSonatrach, Algérie) est additionné au sol à raison de 10% (v/w), bien mélangé pour avoir une contamination homogène du sol puis incubé 3 mois à température ambiante exposé à l'air libre.

2.2. Isolement et sélection de souches fongiques

La méthode de suspension/dilution a été adaptée pour l'isolement des champignons telluriques (Chesters et Thornton, 1956). 1g de sol est mis en suspension dans 9ml d'eau distillée stérile, homogénéisé au vortex à haute vitesse puis une série de dilutions (10^{-5}) est effectuée. 1ml de chaque dilution est transféré dans des boites de pétri et mélanger avec gélose PDA (Potato Dextrose Agar) contenant chloramphénicol (250 mg/L). Les colonies fongiques obtenues sont ensuite purifiées via des repiquages successifs sur PDA. Les isolats purs sont identifiés morphologiquement par un examen macroscopiqueet microscopique suivant les clés taxonomiques cités dans plusieurs littératures (Barnett andHunter, 1998 ; Watanabe, 2002 ; Samson *et al.,* 2014).

2.3. Test préliminaire de dégradation des hydrocarbures

La capacité des champignons isolés à dégrader le pétrole a été initialement examiné selon la technique modifiée de Hanson *et al*. (1993), basé sur l'indicateur redox 2,6 dichlorophénol indophénol (DCPIP). Le milieu minéral Bushnell-Haas (BH) a été utilisé pour le test de sélection qui consiste en: $MgSO_4$ (0,2 g/l), $CaCl_2$ (0,02 g/l), KH_2PO_4 (1 g/l), K_2HPO_4 (1 g/l), NH_4NO_3 (1 g/l) et $FeCl_2$ (0,05 g/l), eau distillée (1000 ml), pH 7,0. Des flacons contenant 50ml de BH ont été inoculés par les isolats fongiques. 1% (v / v) du pétrole brut et 0,016 mg / ml de l'indicateur redox ont été ajoutés au milieu BH. Un contrôle sans champignons a été également préparé. Tous les flacons ont été incubés pendant 2 semaines à 30°C sous agitation rotative constante à 120 tr / min. Le changement de couleur de l'indicateur (DCPIP) du bleu (forme oxydée) à incolore (forme réduite) indique la capacité des champignons à dégrader le pétrole.

2.4. Etude de la dégradation du pétrole par la méthode gravimétrique

Les champignons sélectionnés ont été cultivé dans des flacons de 250ml contenant 100 ml de BH et 2% (v/v) de pétrole comme source de carbone. Les flacons sont incubés à 30°C pendant 40 jours. Le pétrole résiduel dans chaque flacon a été récupéré par extraction liquide-liquide par éther de pétrole : acétone (1 :1) (AI-Jawhari, 2014). Après élimination de la phase aqueuse à l'aide d'une ampoule à décantée, l'éther de pétrole et l'acétone ont été

évaporés par un évaporateur rotatif à 45 °C. Après l'évaporation complète, le résidu hydrocarboné obtenu a été pesé et le pourcentage de pétrole dégradé est déterminé à partir de la formule suivante (John and Okpokwasili, 2012) :

$$\% \textbf{ degradation} = \frac{\mathbf{a - b}}{\mathbf{a}} \times \mathbf{100}$$

a : poids du pétrole résiduel dans la culture,

b :poids du pétrole résiduel dans le témoin.

La biomasse fongique a été déterminée en filtrant le milieu de culture à travers un papier filtre Whatman N °1. Les échantillons de biomasse récupérés ont été séchés à 70 ° C jusqu'à un poids constant. Le gain en biomasse sous chaque traitement et le contrôle correspondant a été enregistré; et la différence entre le gain dans le traitement et le contrôle a été considérée comme étant due à l'activité de biodégradation du pétrole par le champignon.

3. Résultats et discussion

3.1. Isolement et identification des champignons

Les champignons abondant dans le sol pollué aux hydrocarbures ont été isolés après trois mois d'incubation, 7 isolats fongiques différents macroscopiquement ont été purifiés. L'étude morphologique de ces isolats a permis d'identifier 6 espèces différentes appartenant au genre *Aspergillus*(tableau 01).

TABLEAU 1. IDENTIFICATION MORPHOLOGIQUE DES ISOLATS FONGIQUES.

N° d'isolat	Identification
P1	*Aspergillus niger*
P2	*Aspergillussp*
P3	*Aspergillussp*
P4	*Aspergillussp*
P5	*Aspergillussp*
P6	*Aspergillussp*
P7	Non identifié

La pollution du sol par le pétrole n'a pas limité la croissance et la variation des souches fongiques.La présence d'un polluant hydrocarboné augmente la population des microorganismes dégradant les hydrocarbures dans le sol (Atlas, 1995 ; Al-Jawhari, 2014).

3.2. Sélection des isolats dégradants le pétrole par le test DCPIP

La méthode d'analyse utilisée dans la présente étude dépend du changement de couleur des milieux inoculés par les isolats fongiques et traités avec l'indicateur d'oxydoréduction; ainsi, deux isolats fongiques P2 et P6 ont été capables de dégrader le pétrole brut en présence d'un indicateur d'oxydoréduction (figure 1) alors qu'une faible capacité a été observée par les isolats :P1, P3, P4 et P6(tableau 2). La capacité des espèces *Aspergillus* à dégrader les hydrocarbures a été enregistrée dans des études antérieures (Elshafie*et al.,* 2007; Dos Santos *et al.,* 2008).

Le principe de ce test est que lors de l'oxydation microbienne des hydrocarbures, les électrons sont transférés à des accepteurs d'électrons tels que l'O_2, les nitrates et le sulfate. En incorporant un accepteur d'électrons tel que DCPIP au milieu de culture, il est possible de déterminer l'aptitude du microorganisme à utiliser le substrat hydrocarboné en observant le changement de couleur de DCPIP du bleu (oxydé) à l'incolore (réduit) (Hanson *et al.,* 1993).

TABLEAU 2. INTENSITÉ DE DÉCOLORISATION DE L'INDI
2,6 DCPIP APRÈS 14 JOURS D'INCUBATION.

Isolat	Décolorisation
P1	+
P2	+++
P3	+
P4	++
P5	+
P6	+++
P7	-

Décolorisation (bleu vers incolore), - : absence,

+ : faible, ++ : moyen, +++ : fort

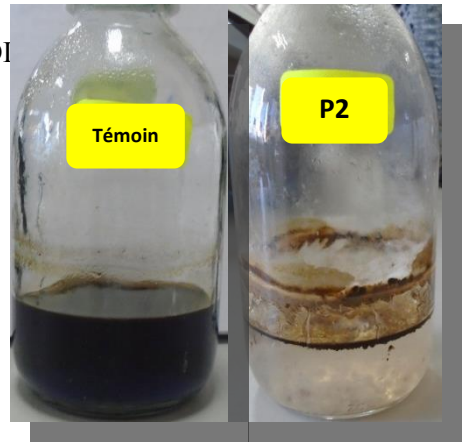


FIGURE 1. CHANGEMENT DE COULEUR DE L'INDICATEUR DCPIP PAR LE TÉMOIN ET

3.3. Estimation du taux de dégradation par la méthode gravimétrique

Le test de biodégradation est effectué pour estimer le pourcentage de dégradation du pétrole par les deux isolats P2 et P6 qui ont été sélectionnés dans le test précédant. Pour estimer le potentiel de biodégradation, les isolats sont inoculés séparément dans le milieu BH liquide contenant 2 % du pétrole comme seule source de carbone. D'après les résultats de ces essais, les isolats ont été capables d'utiliser le pétrole comme source de carbone et d'énergie avec un pourcentage de dégradation de 54.09 et 37.95 % pour P2 et P6, respectivement (figure 2). On a montré que ces isolats présentent une bonne capacité de dégradation du pétrole parce que leur pourcentage de dégradation est supérieur à 5 % (Oudot*et al.*, 1987).*Penicillium* et *Aspergillus* sont les genres les plus représentés et les plus actifs vis-à-vis des hydrocarbures, confirmant d'autres travaux (Dos Santos *et al.,* 2008 ; Mancera-López*et al.,* 2008 ; Al-Hawash*et al.,* 2018d).

Les deux champignons étudiés ont montré une accumulation importante de biomasse dans le milieu en présence du carburant par rapport à leur témoince qui justifie leur capacité à utiliser les hydrocarbures comme source de carbone pour leur croissance. L'isolat P2 a atteint le poids de 0.864g/l ; alors qu'un gain de poids de 0.380 g/l a été

enregistré chez l'isolat P6. Des poids de 0.025 g/l et 0.027g/l ont été obtenus par les témoins de P2 et P6, respectivement. Ameen et al. (2015) a signalé un gain significatif du poids sec*d'Eupenicilliumhirayamae* et *Aspergillus terreus* dans un bouillon contenant le diesel comme source de carbone, accumulant respectivement 0.257 g/l et 0.206g/l de poids sec.

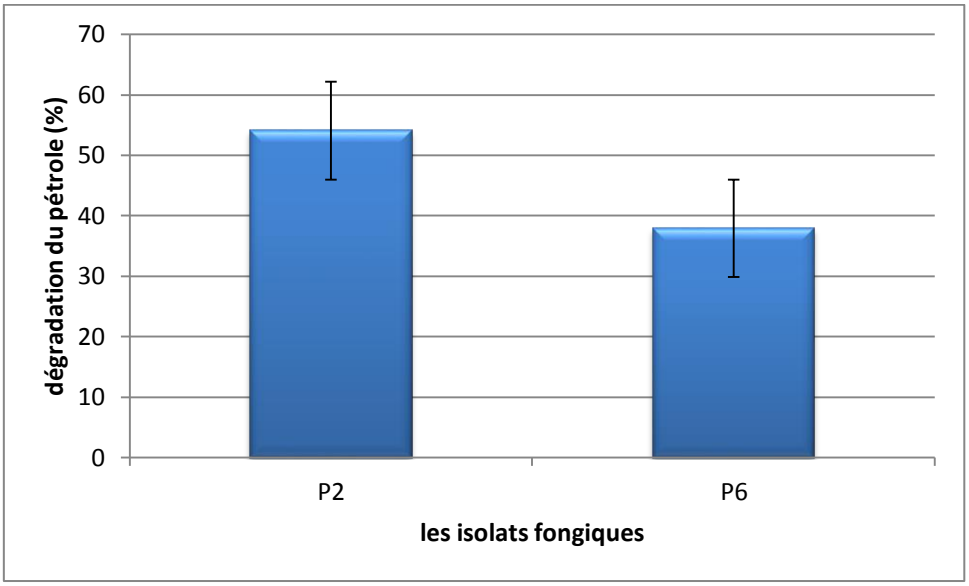


FIGURE 2. POURCENTAGE DE DÉGRADATION DU PÉTROLE PAR LES ISOLATS P2 ET P6.

Conclusion

La pollution par les hydrocarbures considère l'un des problèmes critiques auxquels est confrontée la nature mondiale en raison de l'impact des rejets de polluants qui entraînent un déclin de la santé de l'environnement. Actuellement, la nature s'est familiarisée avec les solutions biologiques pour éliminer les substances dangereuses de l'environnement. Deux champignons indigènes identifiés comme *Aspergillus sp*, ont été isolés d'un sol pollué avec du pétrole Algérien et ont été sélectionné pour leur potentiel de biodégradation des hydrocarbures pétroliers. Les deux isolats ont pu éliminer 54.09 et 37.95% du pétrole additionné au milieu minéral comme unique source de carbone et peuvent être, en conséquence, impliqué dans les processus de bioremédiation des sols pollués aux hydrocarbures pétroliers.

Références bibliographiques

Al-Jawhari, I.F.H. (2014).Ability of some soil fungi in biodegradation of petroleum hydrocarbon. J. Appl. Environ. Microbiol. 2 (2): 46–52.

Al-Hawash, A.B., Zhang, X., and Ma, F. (2018d).Removal and biodegradation of different petroleum hydrocarbons using the filamentous fungus Aspergillus sp. RFC-1.*Microbiology open*, e619.

Al-Nasrawi, H., 2012. Biodegradation of crude oil by fungi isolated from Gulf of Mexico. J. Biorem. Biodegrad.3, 147.

Ameen et al., 2015.Biodegradation of diesel fuel hydrocarbons by mangrove fungi from Red Sea Coast of Saudi ArabiaSaudi Journal of Biological Sciences (2016) 23, 211–218

Atlas, R.M. (1995).Bioremediation of petroleum pollutants.IntBiodeteriorBiodegrad 35:317–327.

Baggott, J. (1993).Biodegradable lubricants. A paper presented at the Institute of Petroleum Symposium: "Life Cycle Analysis and Eco-Assessment in the Oil Industry," Nov. 1992. Shell International Petroleum Company LTD., England.

Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1998). Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th Edition, APS Press, St. Paul, 218 p.

Bennett, J. W.; Wunch, K. G. and Faison, B. D. (2002).Use of fungi in biodegradation. In: Hurst, C.J. (ed.). *Manual of Environmental Microbiology, Second Edition*, ASM Press, Washington, United States of America: 960-971.

Cerniglia, C. E. (1997). Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: Past, present and future applications in bioremediation. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.19 :324-333.*

Chesters, C. G. C. and Thornton, R. H. (1956).A comparison of techniques for isolating soil fungi.*Transactions of the British Mycological Society* 39(3): 301-313.

Dos Santos, E.O., Da Rosa, C.F.C., Dos Passos, C.T., Sanzo, A.V.L., De Medeiros Burkert, J.F., Kalil, S.J., and Burkert, C.A.V. (2008). Pre-screening of filamentous fungi isolated from a contaminated site in Southern Brazil for bioaugmentation purposes. African Journal of Biotechnology 7, 1314-1317.

Elshafie, A., Alkindi, A.Y., Al-Busaidi, S., Bakheit, C., and. Albahry, S.N. (2007). Biodegradation of crude oil and n-alkanes by fungi isolated from Oman. Mar. Pollut. Bull., 54: 1692-1696.

Ezeji, U., Anyadoh, S.O., and Ibekwe, V.I. (2007). Clean up of crude oil-contaminated soil, Terr. Aquat. Environ. Toxicol, 1 (2), 54–59.

Ferguson, B. A.; Dreisbach, T. A.; Parks, C. G.; Filip, G. M. and Schmitt, C. L. (2003).Coarse-scale population structure of pathogenic *Armillaria*species in a mixed-conifer forest in the Blue Mountains of northeast Oregon.*Canadian Journal of Forest Research*33(4): 612-623.

Hanson; K.G., Desai, J.D., Desai, A.J. (1993).A rapid and simple screening technique for potential crude oil degrading microorganisms.Biotechnol Tech. 7: 745-748.

John, R.C. and Okpokwasili, G.C. (2012). Crude oil degradation and plasmid profile of Nitrifying bacteria isolated from impacted mangrove sediment in the Niger Delta of Nigeria. Bulletin of Environmen Contamination Toxicology. 88 (6): 1020-1026.

Mancera-López, M.E., Esparza-García, F., Chávez-Gómez,B., Rodríguez-Vázquez,R., Saucedo-Castaňeda, G., and Barrera-Cortés, J.(2008).Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation – bioaugmentation with filamentous fungi.*IntBiodeteriorBiodegrad.* 61, pp. 151-160.

Odu, C. T. I. (1978).The effect of nutrient application and aeration on oil degradation in soils.Environmental pollution. 15: 235-240.

Oudot, J., Fusey, P., Abdelouahid, D.E., Haloui, S., et Roquebert M.F. (1987).Capacités dégradatives de bactéries et de champignons isolés d'un sol contaminé par un fuel. *Canadian Journal of Microbiology*. 33: 232-243.

Radwan, S.S., Al-Hasan, R.H., Ali, N., Salamah, S., Khanafer,M. (2005).Oil-consuming microbial consortia floating in the Arabian Gulf. Int. Biodeterior. Biodegrad. 56, 28–33.

Ritz, K. and Young, I. M (2004).Interactions between soil structure and fungi.*Mycologist* 18: 52-59.

Samson, R.A., Visagie, C.M., Houbraken, J., Hong, S.B,,Hubka. V., Klaassen, C.H., Perrone, G., Seifert, K.A., Susca, A., Tanney, J.B., Varga, J., Kocsubé, S., Szigeti, G., Yaguchi, T. and Frisvad, J.C. (2014).Phylogeny, identification and nomenclature of the genus Aspergillus. *Stud Mycol*. Jun;78:141-73.

Watanabe, T. (2002). Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphology and key to species. 2nd edition. India. CRC Press.

Wu, M.L., Dick, W.A., Li, W., Wang, X.C., Yang, Q., Wang, T.T., Xu, L.M., Zhang, M.H. and Chen, L.M. (2016).Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil.*International Biodeterioration& Biodegradation*. 107: 158-164

Wu,M., Chen, L., Tian, Y., Ding, Y., Dick,W.A. (2013). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by microbial consortia enriched from three soils using two different culture media. *Environ. Pollut*. 178, 152–158.

Détermination des activités biologiques de l'extrait de *Lepidium sativum*

Yahla Imène, Riazi Ali

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

Mail : imene.yahla@univ-mosta.dz

Résumé

La présente étude consiste à déterminer les activités biologiques de l'extrait des graines de la plante du cresson alénois *Lepidium sativum*. L'extrait a été soumis à un criblage pour son activité antimicrobienne possible in vitro, contre huit souches de bactéries pathogènes et deux espèces de levures, en employant la méthode de diffusion à partir d'un disque solide. L'extrait a réagi positivement sur les souches microbiennes testées. L'exploration de l'activité anti inflammatoire in vitro a montré que l'extrait possède une forte capacité d'inhiber la dénaturation protéique à raison de 70.5%. Comme il a prouvé significativement son efficacité in vivo dans la réduction de 80,26% de l'œdème plantaire induit par la carragénine chez la souris. En outre, l'extrait a prouvé significativement son activité analgésique en réduisant les contorsions induites par l'acide acétique de 40% chez la souris. De même, l'administration de l'extrait a exercé une inhibition de 72,94% de la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris.

Mots clé : *Lepidium sativum*, effet antibactérien, activité anti-inflammatoire, effet analgésique, perméabilité vasculaire.

. Introduction

Lepidium sativum Linn. Appartient à la famille des Brassicacées (famille des choux) et est communément appelé "cresson alénois", "cresson de jardin" .La plante est appelée "Hab el Rashaad" ou "hurf" en Algérie. L'origine du cresson alénois est assez floue dans Afrique du Nord ou de l'Est, Moyen Orient, Asie de l'Ouest. Il était cultivé dans l'Antiquité en Grèce et en Italie et peut-être aussi en Egypte. On le cultive aujourd'hui dans le monde entier, y compris la plupart des pays africains, mais surtout à petite échelle dans les jardins familiaux.

Le cresson alénois est utilisé comme aliment et source de médicaments, et il est efficace contre diverses maladies telles que l'hypertension, l'arthrite, l'hépatotoxicité, l'inflammation, le diabète, le cancer, la bronchite, etc. sur la base de nombreuses études, *Lepidium sativum* a prouvé sa valeur et mérite par des études plus approfondies sur ses utilisations nutritionnelles et médicinales (Falana et al., 2014). Notre travail s'intéresse aux activités biologiques de lepiduim sativum et particulièrement, l'activité anti-microbienne et anti-iinflamatoire.

Matériels et méthodes

Détermination de l'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'EELS a été effectuée par les méthodes suivantes :

- Technique de diffusion en milieu solide (méthode de disque)
- Détermination minimale inhibitrice (CMI)

Milieux de culture et conditions d'incubation

Les milieux de culture utilisés sont:

- Bouillon nutritif (BN) et Mueller Hinton (MH).

L'incubation se fait à 37°C pendent 24 H (Remmal et al., 1993).

Les 10 souches pathogènes utilisées sont présentées dans le tableau 1 .

Tableau 1 : liste des souches bactériennes et fongiques étudiées

Souches	**Code**	**Famille**
Aspergillus niger	ATCC 106404	*Trichocomaceae*
Escherichia coli	ATCC 25922	*Enterobacteriaceae*
Staphylococcus aureus	ATCC 33862	*Staphylococcaceae*
Bacillus cereus	ATCC 10876	*Bacillaceae*
Bacillus subtilis	ATCC 6633	*Bacillaceae*
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	*Pseudomonadaceae*
Candida albicans	ATCC10231	*Saccharomycetaceae*
Shigella boydii	ATCC 8700	*Enterobacteriaceae*
Enterobacter cloacae	ATCC 13047	*Enterobacteriaceae*
Carnobacterium maltoaromaticum	ATCC 35586	*Carnobacteriaceae*

Etude de l'activité analgésique (Test de torsion)

Les expériences ont été réalisées sur un modèle de douleur induit par l'acide acétique chez des souris mises à jeun 16 heures avant l'expérimentation. L'injection intra-péritonéale (ip) d'acide acétique à 1% chez la souri provoque un syndrome douloureux qui se manifeste par des contorsions caractéristiques avec étirement des pattes postérieures et de la musculature dorso-ventrale. Le nombre d'étirements est comptabilisé 20 minutes après injection de l'acide acétique (Sy et al, 2009).

- *Lot témoin :* Les souris de ce lot ont reçu 1mL de l'eau physiologique par voie ip.
- *Lot référence :* Les souris de ce lot ont reçu un analgésique utilisé en thérapeutique le paracétamol à la dose de 200 mg/ kg, 30 minutes avant l'injection ip de l'acide acétique.
- *Le lot essai :* Les souris reçoivent, par voie ip 0,5mL d'EELS à raison de 780mg/kg, et ceci 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique.

Etude de l'activité anti-inflammatoire in vivo

Test de l'œdème plantaire induit par carragénine

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode décrite par Winter et al. (1962). Pour ce faire, les souris ont été soumises à un jeun 16 heures avant l'expérimentation avec un accès libre à l'eau. Elles ont été réparties en 3 lots de 3 animaux chacun.

- *Le Lot témoin :* Les souris de ce lot ont reçu la solution véhicule (eau physiologique) par voie intra-péritonéale (ip), 30 mn avant l'injection de carragénine.
- *Le Lot référence :* Les souris de ce lot ont été traités par voie (ip) (le diclofénac dose 50 µL/kg.) un anti-inflammatoire utilisé en thérapeutique, 30 mn avant l'injection de carragénine.
- *Le Lot essai :* L'EELS à tester a été administré aux souris par voie (ip) à raison de 780 mg/kg ; 30 mn avant l'injection de carragénine.

Trente minutes après le traitement par administration orale, l'œdème a été induit par injection de 50 µL de carragénine (1% p/v) au niveau de la voute plantaire de la patte postérieure droite (figure 10).

L'épaisseur de la patte (mm) a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse digital avant injection (V_0) et toutes les 60 min pendant 6 H après induction de l'inflammation (Vasudevan et al., 2006).

Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique

La perméabilité vasculaire chez la souris a été évaluée selon la méthode de Kou et ses collaborateurs (2006). Trois groupes de neuf souris sont utilisés.

- *Le Lot témoin :* Les souris du groupe témoin ont reçu 0,2 mL d'une solution de NaCl 0,9 %.
- *Le Lot référence :* Les souris de ce lot ont été traitées par 50 mg/Kg d'indométacine, par voie orale.
- *Le Lot essais :* L'EELS à tester a été administré aux souris par voie (ip) à raison de 780 mg/kg.
-

Une heure après, les souris ont une injection intraveineuse de 10 mL/kg d'une solution de bleu d'Evans 1%, suivie d'une injection intra-péritonéal de 10 mL/kg d'acide acétique 0,7%.

Résultats et discussion

Etude de l'activité antimicrobienne

Technique de diffusion en milieu solide (méthode de disque)

Nous remarquons que les souches les plus sensibles sont *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*, suivies par *Carnobacterium maltoaromaticum et Bacillus serius*. Une sensibilité moins importante a été affichée par *Shigella boydii*, *Escherichia coli* et *Staphylococus aureus*. En effet, celles-ci ont été les seules à être inhibées par notre extrait.

Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 07 et 20 mm. Par comparaison entre les souches, les souches les moins sensibles aux l'extrait éthanolique de *lepiduim sativum* sont *Candida albicans* ATCC10231, *Enterobacter cloacae*ATCC 13047 et *Aspergillus niger* ATCC 106404. En effet, les diamètres des zones d'inhibition obtenus par ces souches sont les plus faibles (de 07 à 09 mm). La plus grande zone d'inhibition a été obtenue contre *Bacillus subtilis* ATCC 10876 (20 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (19 mm).

Des travaux antérieurs confirment que l'extrait de *lepiduim sativum* possède un effet antimicrobien puissant contre un large éventail de microorganismes (Shama et al. 2011 ; Siy et al. 2011).

Activités biologiques (*in vivo*)

Etude de l'activité analgésique (Test de torsion)

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* présente un effet analgésique en réduisant le nombre de contorsions abdominales. Ceci suggère que l'extrait possèderait des composés qui agiraient selon le même mécanisme que le paracétamol, et par ce fait, inhiberait la COX-1 et la COX-2, empêchant la synthèse des prostaglandines (Le Bars et al, 2001).

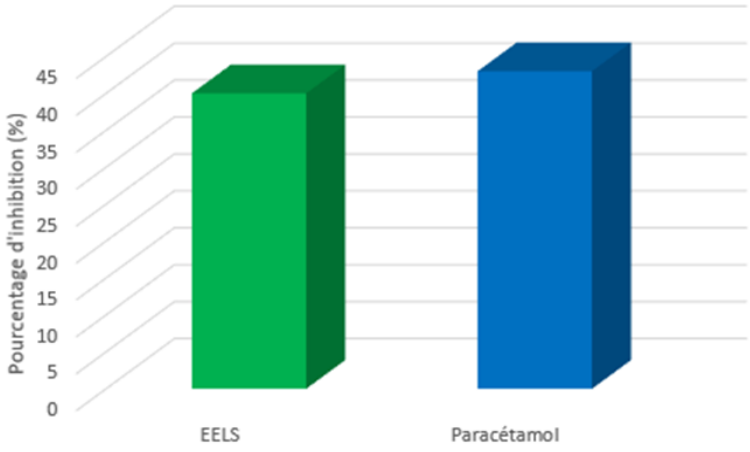


Figure 1 : Les pourcentages d'inhibition de l'extrait ethanolique de *Lepidium sativum* (EELS) et du paracétamol

Test de l'œdème plantaire induit par la carragénine

La figure 2 montre l'effet inhibiteur exercé par l'extait ethanolique de *Lepidium sativum* et le diclofénac sur le développement de l'inflammation en fonction des heures. Nous remarquons que le seuil maximal a été atteint à 6 heures. En effet, le pourcentage d'inhibition obtenua été 77,17% pour l'extait ethanolique de *Lepidium sativum*à raison de 780 mg/kg.

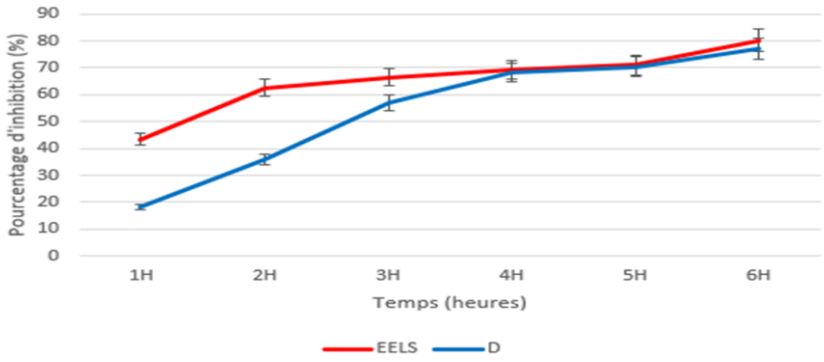


Figure 2: Inhibition de l'œdème plantaire (en %) par l'extrait ethanolique de Lepidium sativum (EELS) et le diclofénac (D)

Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 3. Les résultats obtenus montrent que les groupes ayant reçus un traitement avec l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum*, ou l'indométacine une heure avant l'induction de l'inflammation par l'acide acétique affichent une réduction significative ($p<0.05$) dans la perméabilité vasculaire au niveau péritonéal. Le traitement par 50 mg/kg d'indométacine induit une inhibition de la perméabilité vasculaire de 46 %. Le traitement par 780 mg/kg d'extrait éthanolique de de *Lepidium sativum* par voie orale provoque une inhibition de 70 % de la perméabilité vasculaire, cette inhibition est supérieure à celle obtenue avec l'indométacine.

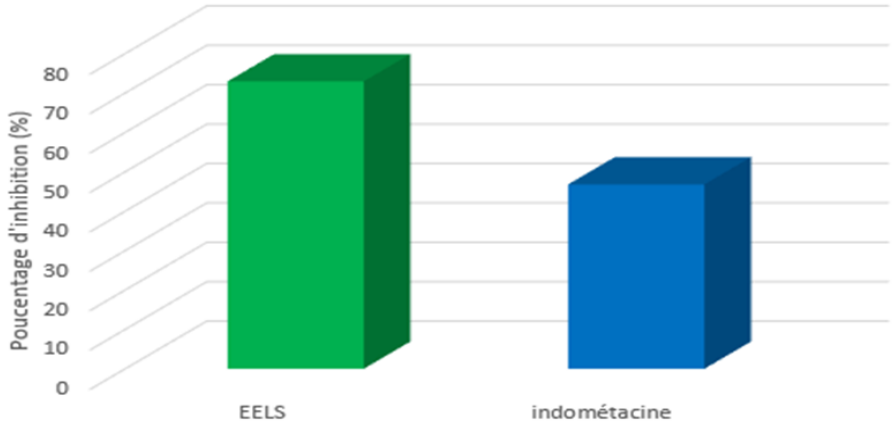


Figure 3: Le pourcentage d'inhibition de l'extrait ethanolique de *Lepidium sativum* (EELS) et indométacine.

Conclusion

L'extrait éthanolique de la plante *Lepidium sativum* Linn. a prouvé son pouvoir anti microbien ainsi que son activité anti inflammatoire in vivo.

Références

Falana, W.Nofal, H.Nakhleh. (2014). A Review Article *Lepidium Sativum* (Garden cress)1.Pharm-D Program, College Of Nursing, Pharmacy And Health Professions .Birzeit University.Submitted: May 10, 2014

Shama I.Y. Adam, Shayma A.M. Salih and Warda S. Abdelgadir (2011). In vitro Antimicrobial Assessment of Lepidium sativum L. Seeds Extracts. Asian Journal of Medical Sciences 3(6): 261-266, 2011 Published: December 25, 2011

Sy G.Y ; Fall A.D ; Diatta W ; Gueye M ; BadjiBassène E ; Faye B, 2009 : Analgesic and anti-inflammatory activity of aqueousrootextract of Cassia sieberiana D. C. (Caesalpiniaceae) Afr. J. Pharm. Pharmacol. Pp651-653

Kou J, Si M, Dai G, Lin Y and Zhu D (2006).Antiinflammatory activity of Polygala japonica extract. Fitoterapi, 77, 411–415.

Vasudevan M., Gunnam K.K., Parle M, 2006, Antinociceptive and anti-inflammatory properties of Daucus carota seeds extract. Journal of Health Science, 52(5), 598-606

Composition chimique et effet antimicrobienne des huiles essentiells des feuilles de *mentha puleigum* et *thymus fontanesii*

Braikia kahina Hayet et Bahri Fouad

Laboratoire de microbiologie et biologie végétale, département de biologie, université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem 27000, Algérie.

kahinabraikia@gmail.com

Résumé

Cette étude s'est intéressée sur La caractérisation chimique et l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (HE) des feuilles de *thymys fontanesii* et *Mentha puleigum* sur la croissance de quelques germes responsables des maladies infectieuses. L'extraction des huiles essentielles des deux plantes a été effectuée par entrainement à la vapeur d'eau à l'aide d'un vapo-distillateur de type SPRING A 105 ,12 litres. Les huiles essentielles des feuilles sèches du thym (HE.TF) et de la menthe pouliot(HE.MP) collecté de Mostaganem ont donné des rendements respectifs de 3.5% et 2%. L'analyse par CPG-SM a indiqué que les composés majeurs étaient le carvacrol (49.13%), gamma-terpinene (12.9%), p-cymene (6.9%), linalool (5.72%), thymol (5.28%) et alpha-pinene(4.94%) pour HE.TF et pulegone (58.54%), menthone (23.04%) et menthole (5.07%) pour HE.MP

L'étude de l'activité antimicrobienne par aromatogramme (méthode de Vincent), a montré un grand effet inhibiteur des huiles de *T. fontanesii* sur les six souches de référence testées spécifiquement vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec une zone d'inhibition de 55mm alors que les huiles essentielles de *mentha puleigum* ont révélé des zones d'inhibitions qui varient de (14mm à 44mm). La méthode de macro dilution en milieu liquide a permis d'obtenir les CMI, CMB et CMF à des valeurs allant de 0.0625 à 0.25 µl/ml, 0.125 à 1 µl/ml et de 0.25 µl/ml, respectivement pour les huiles essentielles du *thymus fontanesii* et à des valeurs allant de 0.125 à 1 µl/ml, 1 µl/ml et à 0.5 µl/ml, respectivement pour les huiles essentielles du *mentha puleigum.* De façon générale, les huiles essentielles ont montré une action antimicrobienne efficace sur la croissance des germes pathogènes testées.

Mots clés : *thymus fontanesii*, *Mentha pulegium*, activité antimicrobienne, composition chimique, CPG-SM.

Introduction

La résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue une véritable préoccupation **(1).** Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général et concerne toutes les espèces bactériennes et ne cesse d'augmenter. Donc, l'usage intensif des antibiotiques et des antifongiques dans la thérapie des infections conduisent à la sélection des souches microbiennes résistantes. D'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers la phytothérapie qui est à base de plantes, qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments. Ainsi l'aromathérapie à base des huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. L'incapacité des antibiotiques dans le temps à inhiber les bactéries est la cause qui nous a conduits à étudier et tester le pouvoir antimicrobienne des feuilles de *Mentha pulegium. L* et de *thymus fontanesii* vis-à-vis les germes responsables des maladies infectieuses.

Matériel et méthodes

Récolte

Les deux plantes utilisées dans cette étude *Thymus fontanesii* et *Mentha puleigum*, ont été respectivement récoltées de la fôret de Laalama, comune de Sour, et de Sidi Lakhder dans la wilaya de Mostaganem.

Séchage

Le séchage s'est effectué à l'abri des rayons du soleil et à température ambiante pendant 21 jours **(Iteipmai, 2009).**

Détermination du taux d'humidité

Le contenu en humidité de la plante a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité de feuilles fraîches d'une de masse 5g $\pm$ 0,01g a été exposée à une température de 105°C $\pm$ 5°C dans une étuve, jusqu'à l'obtention d'un poids constant **(2;3)**. Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

Considérons :

α : poids de l'échantillon (plante fraiche) en gramme ;

β : poids de l'échantillon (plante sèche) en gramme ;

H% : taux d'humidité exprimé en pourcentage.

Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$H\% = \frac{(\text{poids } \alpha - \text{poids } \beta).\ 100}{A}$$

Procédés d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des HE des deux plantes a été effectuée par entrainement à la vapeur d'eau et ce, à l'aide d'un vapo-distillateur de type SPRING A 105 ,12 litres. Le principe de cette méthode est de récupérer l'huile essentielle des végétaux en faisant passer à travers ces dernières un courant de vapeur d'eau. Ces vapeurs saturées en composés organiques volatiles sont condensées et récupérées par décantation **(4).**Pour ce faire, 500g de matériel végétal est placé sur une grille qui surmonte l'eau en ébullition. Les vapeurs formées dans traversent la plante, libèrent l'huile du tissu végétal et l'entrainent avec elle. Après condensation dans le réfrigérant, celles-ci chutent et sont récupérées dans une ampoule de décantation, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité

Figure n°01 : Vapodistillateur de type SPRING A 105.12 Litres utilisé pour l'extraction des huiles essentielles de la *Mentha puleigume* et *Thymus fontanesii.*

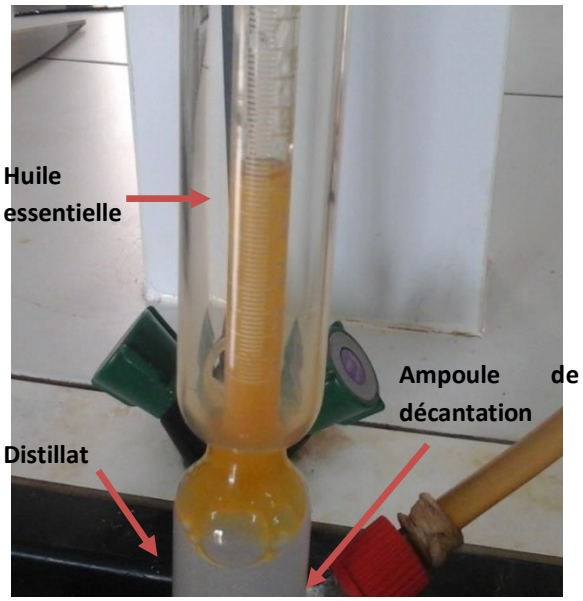


Figure n°02 : Séparation de la phase huileuse de la phase aqueuse.

Calcul du rendement

Selon l'Organisme Française de Normalisation **(5),** le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$RHE = M' / M \times 100$$

RHE : rendement en huile essentielle en%

M' : Masse d'huile essentielle en gramme ;

M : Masse de la plante en gramme.

Méthodes d'analyse des huiles essentielles

L'analyse et l'identification de la composition chimique des huiles essentielles des deux espèces étudiées ont été effectuées par des techniques chromatographiques. La chromatographie en phase gazeuse (CPG), nous a permis de séparer et de quantifier les composés. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) nous a permis quant à elle, à l'aide des banques de données spectrales, de déterminer les composés.

Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)

Des analyses GC-FID et GC-MS ont été effectuées en une analyse et une analyse GC à l'aide d'un séparateur MS-FID constitué d'un séparateur Y en quartz et d'une colonne de restriction de silice fondue ID (environ 20 cm) de 0,1 mm (environ une entrée à l'interface GC-MS et un ca. Colonne de silice fondue désactivée de 1 mx 0,25 mm servant de ligne de transfert au détecteur FID. La colonne de restriction limite le débit dans l'aspirateur du MS et empêche l'entrée de gaz de combustion provenant du FID fonctionnant à la pression atmosphérique. Le débit dans la colonne analytique doit être supérieur au débit entrant dans le détecteur MS qui est limité à environ 1 ml / min au moyen de la ligne de restriction. Le débit de la colonne CPG doit être maintenu constant, sinon le taux de division FID-MS change avec la température. Cette configuration donne un chromatogramme FID et MS avec des temps de rétention presque identiques, facilitant ainsi l'affectation de la substance aux pics FID. L'instrumentation suivante a été utilisée:

Un Thermo Fisher Scientific Trace GC Ultra avec un injecteur split / splitless chauffé à 250 ° C et connecté à une colonne capillaire de 50 mx 0,25 mm x 1,0 m SE-52 (95% polydiméthyle, 5% polydiphénylsiloxane) (notre détecteur **[6]),** un détecteur FID fonctionnant à 250 ° C et un échantillonneur automatique TriPlus RSH.

Pour l'identification de la substance, un spectromètre de masse Thermo Fisher Scientific ISQ a été utilisé avec une interface GC-MS chauffant à 250 ° C, source d'ions à 230 ° C, mode EI à 70 eV, filament à 50 ° C, plage de balayage comprise entre 40 et 500 amu. Le programme de température du four suivant a été utilisé: 60 ° C pendant 1 min. puis chauffé à 230 ° C à une vitesse de 3 ° C / Min, isotherme de 230 ° C pendant 12,3 Min. Le gaz vecteur était l'hélium 5,0, avec un débit constant de 1,5 mL / min.

Le logiciel Thermo Xcalibur 2.2 a été utilisé pour identifier les composés en corrélant les spectres de masse aux bases de données de NIST 08 **[7],** Wiley 8th ed. **[8],** bibliothèque Adams **[9],** bibliothèque de terpénoïdes MassFinder **[10]** et notre propre bibliothèque. Etant donné que la comparaison spectrale de masse ne donne souvent pas lieu à une identification sans équivoque, en particulier pour les sesquiterpènes, la position dans le chromatogramme doit être utilisée comme second critère comparant les indices de rétention calculés (RI) des pics aux données de la littérature **[7, 9 , 10]** ou des composés de référence. Les indices de rétention sont déterminés en utilisant les temps de rétention mesurés d'une série de n-alcanes qui éluent sur toute la durée du chromatogramme et calculés selon la méthode de van den Dool et Kratz **[11,12].**

La quantification a été effectuée en utilisant des calculs normalisés de surface de pic du chromatogramme FID sans (par première approximation) des facteurs relatifs de réponse FID.

Les souches testées

Pour notre étude, nous avons testé la sensibilité de six souches microbiennes de référence provenant de l'Institut Pasteur d'Alger vis-à-vis des agents antimicrobiens standards (antibiotiques et antifongiques) et biologiques (huiles essentielles). Il s'agit de cinq souches bactériennes (trois Gram négatives : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et, deux Gram positive :*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) et d'une souche fongique : *Candia albicans*.

Milieux de cultures utilisés

Les milieux de culture utilisés pour les différents tests microbiologiques sont les suivants : Bouillon nutritif, Gélose nutritive ; bouillon Muller Hinton (M.H), gélose Muller Hinton, bouillon sabouraud et gélose sabouraud.

Préparation de l'inoculum

Les inoculums ont été préparées en introduisant des colonies des souches testés dans le bouillon nutritif et incubé à 37°C pendant 18 à 24h pour les bactéries et à 30°C pendant 48h pour les levures.

Les inoculums sont préparés à partir d'une culture jeune en milieu liquide (bouillon nutritif) de 18H pour les bactéries et 48H pour les levures, et ce, en les diluant dans de l'eau physiologique stérile, de manière à obtenir des suspensions de concentration microbienne déterminée suivant la méthode utilisée pour l'étude de l'activité antimicrobienne des différents agents testés.

Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques et de *Candida albicans* à l'antifungiques a été évaluée par la méthode de diffusion de disque sur milieu gélosé **(13)**. Un volume de 100 µl de suspension microbienne standardisée à 10^8UFC/ml pour les bactéries et 10^6 UFC/ml pour les levures **(14)** a été ensemencé par étalement sur un milieu de culture gélosé approprié (Mueller Hinton pour les bactéries, PDA pour la levure). Des disques d'antibiotique ainsi que des disques imprégnés d'une solution d'antifongique ont ensuite été déposés à la surface des milieux respectifs. En parallèle, des témoins ont été utilisés pour le contrôle de la croissance des souches testées. Les boîtes de Pétri ont été fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 1H. Elles ont été par la suite portées à incubation à 37°C pendant 24H pour les bactéries et à 25°C pendant 48H pour les levures. L'expérience a été réalisée en triple pour chaque souche microbienne. La lecture des résultats a été faite par la mesure de la zone d'inhibition, qui est représentée par une auréole formée autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée. Les différents antibiotiques testés contre les bactéries sont listés dans le tableau 1 ci-après. Concernant *Candida albicans*, seules deux solutions à 1% ont été employées contre cette dernière : éconazole et Clotrimazole.

Tableau 1: Liste des antibiotiques utilisés

Antibiotiques	Sigle	Charge du disque
AMOXICILLIN	AML	30ug
AMPICILLIN	AMP	10ug
NALIDIXIC ACID	NA	30ug
AMOXICILLIN-CLAVULANIC-ACID	AUG	30ug
CEPHALOTHIN	KF	30ug
NEOMYCIN	N	30ug
CHLORAMPHENICOL	C	30ug
CARCARBENICELLIN	Car	10ug

Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Technique de l'aromatogramme (méthode de Vincent)

La réalisation de cette méthode repose sur le principe de l'antibiogramme **(13)**. Des disques stériles de papier Wattman de 6 mm de diamètre, contenant 15 µl d'huile essentielle à tester, sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface d'un milieu gélosé approprié pour chaque souche, préalablement ensemencé avec 100 µl de suspension microbienne dont la turbidité a été ajustée à 10^8UFC/ml pour les bactéries et 10^6 UFC/ml pour les levures **(14)**. Des témoins ont été utilisés comme contrôle négatif. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 1H avant d'être incubées à 37°C pendant 24H pour les bactéries et à 25°C pendant 48H pour les levures. Les essais sont effectués en triple. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition formée autour de chaque disque. L'importance des diamètres des zones reflète l'impact de l'huile essentielle sur les souches testées.

Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance microbienne de 90% **(15)**. Sa détermination a été réalisée par la méthode de macro dilution en milieu liquide. L'huile essentielle est tout d'abord préparée par émulsion dans une solution d'agar à 0.2% afin de disperser les composés et d'améliorer leur contact avec les germes à tester. Des dilutions successives de la solution obtenue est ensuite effectuée par progression géométrique de raison 2 de façon à obtenir les dilutions suivantes : 10%, 5%, 2.5%, 1.25%, 0.625%, 0.312% 0.156% **(16).**

La gamme de concentrations finales d'huile essentielle utilisée va de 0.0156 à 1 µl/ml (v/v).

Pour les bactéries, 0.2 ml de chacune des solutions d'huile essentielle sont introduit dans un tube de la série expérimentale contenant 1.8 ml d'une suspension bactérienne préparée dans le bouillon Mueller Hinton et dont la turbidité est comprise entre 5. 105 et 5. 107 bactéries/ml. L'ensemble est incubé à 37°C pendant 24H **(17;18).**

Pour les levures, 0.1 ml de chacune des solutions d'huile essentielle est introduit dans un tube de la série expérimentale contenant 0.9 ml de bouillon Sabouraud inoculé avec une culture fongique standardisée à 1. 107 cellules/ml. Les tubes sont ensuite portés à incubation à 25°C pendant 48H pour les levures.

La lecture des résultats se fait à l'œil nue par observation du changement de turbidité dans les tubes après incubation et par comparaison avec les contrôles. Un tube ne contenant que le milieu de culture et l'inoculum est utilisé comme contrôle négatif tandis que, des tubes contenant le milieu de culture stérile et une concentration d'huile essentielle déterminée sont utilisés comme contrôles positifs (série de référence). Les essais sont effectués en triple pour chacune des concentrations d'huile essentielle utilisées. La CMI correspond à la plus faible concentration d'huile à laquelle aucune croissance microbienne n'est visible **(19;16).**

Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Le contenu des tubes dans lesquels aucun trouble n'a été observé, a servi à ensemencer le milieu gélosé M.H et ce, par des stries de 5 cm de long à l'aide d'une anse calibrée de 0.2 µl en commençant par le tube correspondant à la CMI. La boîte de Pétri est ensuite incubée à 37°C pendant 24H (**16;20**). Les essais sont effectués en triple. La CMB a été déterminée en comparant la densité des stries à celle d'une autre boîte de Pétri préalablement préparée (boîte A) **(20**). Elle correspond à la plus faible concentration d'huile essentielle dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0.01% de survivants (**21).**

Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF)

A partir des tubes dans lesquels aucune croissance fongique n'est observée, 10 µl est prélevé et ensemencé dans le milieu gélosé Sabouraud. Les boîtes de Pétri sont ensuite portées à incubation à 25°C pendant 48H. Chaque essai est réalisé trois fois. La CMF correspond à la plus faible concentration d'huile essentielle à partir de laquelle aucune croissance n'est visible (**19**).

Résultat et discussion

Détermination du taux d'humidité

Les valeurs du taux d'humidité des deux plantes sont 65% et 75 % pour *thymus fontanesii* et *Mentha pulegium* respectivement.

Calcul du rendement

Les résultats du calcul de rendement des huiles essentielles de *Mentha pulegium .L* et *thymus fontanesii* sont 3.5 % et 2 % respectivement. Cet écart peut être dû à la période de récolte.

Le rendement en huile essentielle de *thymus fontanesii* était 3.5%. ces résultats montre une relative similitude comparativement aux études effectuées par **(22)** qui montrent que le meilleur rendement en huile essentielle de *Thymus fontanesii* varie entre (3.2% et 3.6 %).Tandis qu'il est important que celui obtenu dans l'étude de , **Farah HADDOUCHI et al (14),** 2 % et **DOB et al,(2006),** (0.9%) par une extraction à l'aide d'un hydro-distilateur..

Par contre, l'huile essentielle de *mentha puleigum* montre un rendement de 2%, ce qui est important que celui obtenu par **(23)** par un rendement de 1.37 ± 0.080.

Etude de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents antibiotiques testés, nous a permis de mettre en évidence les différents niveaux d'efficacité de ces deniers sur les cinq souches bactériennes. Les résultats obtenus sont rapportés dans le figure n°03.

D'après les résultats du figure n°03, nous constatons que les antibiotiques se sont révélés plus au moins actifs vis-à-vis des souches bactériennes testées. Selon (**24),** la sensibilité des germes a été classée par le diamètre des halos d'inhibition comme suit :

-Non sensible (-) pour les diamètres moins de 8mm.

-Sensible (+) pour les diamètres de 8 à 14 mm.

-très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm

-extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20 mm.

Les résultats obtenus montre que le Chloramphénicol (C_{30}) est l'antibiotique le plus active sur *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia Coli* ATCC 35659 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec des zones d'inhibition de 25mm ,35mm et 28mm respectivement. L'ampicilline (AMP_{10}), la cephalothin (KF_{30}), l'amoxicilin et clavulanic acide (AUG_{30}) ont montré également que c'est dernières sont efficaces contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Proteus mirabilis* ATCC 35659.

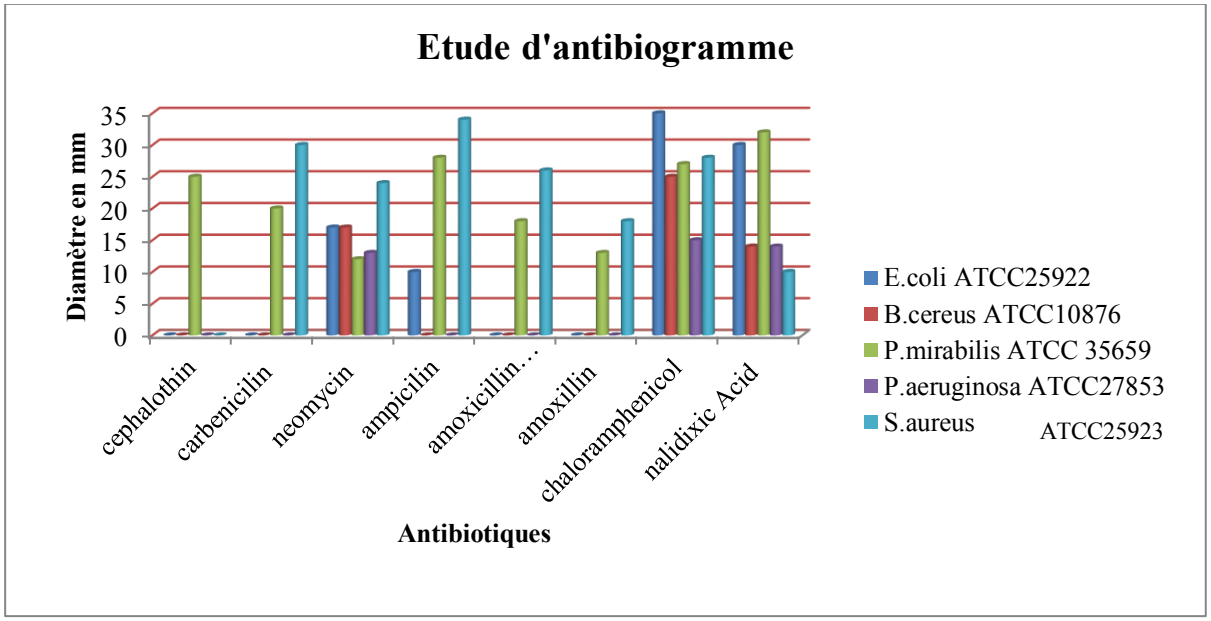


Figure 3 : activité antibactérienne des antibiotiques vis-à-vis les souches bactériennes testées.

Résultat d'antifongigramme

Concernant les antifongiques, l'éconazole s'est avéré plus actif avec un halo d'inhibition de 25 mm contre *Candida albicans* ATCC 10231 tandis qu'avec le clotrimazole, le diamètre obtenu était de 8 mm. Econazole est plus efficace que Clotrimazole.

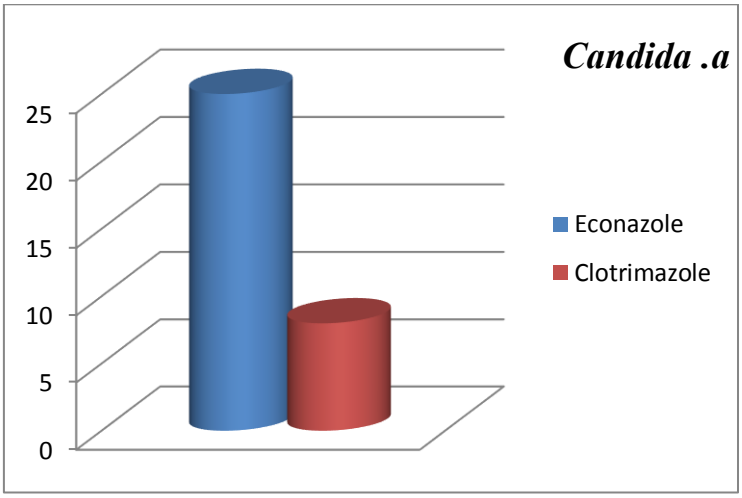


Figure 4 : activité antifungique des antibiotiques vis-à-vis les souches bactériennes testées.

Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Technique d'aromatogramme (Méthode de Vincent)

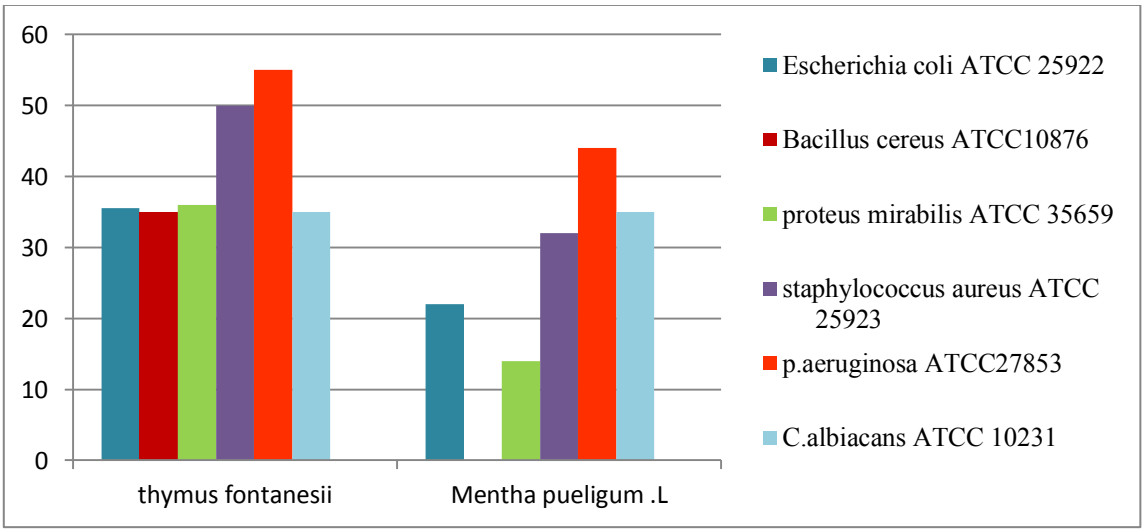


Figure 5 : activité antibactérienne des huiles essentielles vis-à-vis les souches bactériennes testées.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *thymus fontanesii* et de *Mentha puleigum* par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans figure nº05.

Les résultats de la figure n°05 montrent que les bactéries agissent différemment à l'action antimicrobienne des huiles essentielles avec des zones d'inhibitions qui varient entre 30mm et 45mm pour *Thymus fontanesii*.

Pour les G+, on remarque que *Bacillus cereus* ATCC10876 et *staphylococcus aureus* ATCC

25923 agissent par des zones d'hinibition de 30mm et 35mm respectivement.

Une étude pareille menée par **(22)** a montré l'apparition d'une zone d'inhibition de 58.50mm et 43.33mm vis a vis *staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* respectivement.

Tandis que *Escherichia coli* ATCC 25922 et *P .aeruginosa* ATCC 27853 ont montré des diamètres de 30mm et 45mm respectivement ce qui est important par rapport a ce que a trouvé **(22)** contre les même souches par des diamètres de 37.33mm et 13.33mm respectivement.

Tandis que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha puleigum* y compris entre 14mm et 34mm vis-à-vis les espèces bactériens testé.

Cependant *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 s'est avérée extrêmement sensible contre l'huile essentielle de *thymus fontanesii* et *mentha puleigum.l* avec des zones d'inhibitions de 45 et 40mm respectivement.

La forte sensibilité de staphylococcus aureus vis-à-vis des huiles essentielles testées confirme les résultats rapportés par, (**25**), (**26**).

Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) :

La méthode de macrodilution en milieu liquide a permis d'obtenir les concentrations minimales inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) à des valeurs allant de 0.0625 à 0.25 µl/ml, 0.125 à 1 µl/ml et de 0.25 µl/ml, respectivement concernant HE.TF.Tandis que pour *mentha puleigum*, les valeurs de CMI , de CMB et de CMF ont été enregistrées à des gammes allant respectivement de 0.125 à 1 µl/ml , 1 µl/ml et 0.5 µl/ml respectivement.

Conclusion

De façon générale, les huiles essentielles ont montrée efficaces sur la croissance des germes pathogènes testées.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *thymus fontanesii* présente des zones d'inhibitions qui varient entre 30et 45mm contre les souches bactériennes *Escherichia coli* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC10876 et *Proteus mirabilis* ATCC 35659 , *Staphylococcus aureus* ATCC ainsi que *P .aeruginosa* ATCC 27853.

Aussi une activité antifongique contre *Candida albiacans* ATCC 10231 avec une zone d'hinibition de 34mm de diamètre.

L'huile essentielle de *Mentha puleigum* a effectuée une forte sensibilité remarquable contre souches bactériennes *Escherichia coli* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Staphylococcus aureus* ATCC ainsi que *P .aeruginosa* ATCC 27853. Par contre, aucune activité antibactérienne n'est notée contre *Bacillus cereus* ATCC10876.

A propos de la détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles, la méthode de macro dilution a permet de noter une activité bactéricide et fongicide des huiles essentielle vis-à-vis les souches bactérienne testé, sauf que pour *P .aeruginosa* ATCC 27853ou il y'a avait une activité bactériostatique remarquable contre l'huile essentielle de *thymus fontanesii* et *mentha puleigum*.

Face à l'effet antibactériennes très importants des huiles essentielles, comparativement aux antibiotiques, il serait nécessaire que les autorités mettent en place une nouvelle politique en manière de lutte contre les maladies bactériennes en se basant sur l'aromathérapie, ce ci afin de lutter contre les résistances causés par l'utilisation excessive des antibiotiques.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de notre investigation, constitue une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active, il serait intéressant d'étayer ce travail en

➢ testant d'autre activités biologiques (anti-inflammatoire, antioxydant) et de même de réaliser des testes *in vivo* ;

➢Testant d'autres méthodes d'extraction et leurs influences sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles ;

➢ Extrayant les huiles de d'autres parties des plantes et les étudier ;

➢ Fractionnant les huiles essentielles, isolant et caractérisant les composants responsables des différentes activités biologiques ;

➢ Testant les effets des composants actifs séparément et comparant leurs pouvoirs avec ceux des huiles essentielles ;

➢ Etudiant les mécanismes d'action et les facteurs influençant l'efficacité des huiles essentielles ;

➢ Elargissant le spectre des propriétés biologiques que peuvent posséder les huiles essentielles en évaluant d'autres activités tant au niveau in vitro qu'in vivo telles que l'activité antitumorale, antivirale, insecticide et allélopathique..

Références bibliographiques

1- Akoua K. , Guessennd N., Gbonon V., Faye Ketté H., Dosso M. 2004.- Methicillin resistance of Staphylococcus in Abidjan 1998-2001: A new problem. Médecine et maladies infectieuses; 34 (3):132-6.

2-Twidwell E.K., Wagner J.J., Thiex N.J, 2002, Use a microwave oven to determine moisture content of forages. A Service of SD

SU Extension (Extra n°8077), SDSU, USDA

3- Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A., Satrani B, 2009, Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de Tetraclinis articulata (Vahl) Masters. AgroSolutions, 20(1), 45-48p

4- Kebbab.S ; Fekir Burnichon N ; DES bactério, 2003. .R .Thèse ,2004.Institue biologie- Blida.

5- A.F.N.O.R**,** 1997 « les huiles essentielles », analyse par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire chirale méthode générale T75-425, Mai1997

6- Kurt Grob, Making and Manipulating Capillary Columns for Gas Chromatography, Dr. Alfred Huethig Verlag, Heidelberg, 1986, ISBN 3-7785-1312-5.

7- The NIST 08 Mass Spectrometer database, Scientific Instrument Services Inc., N

ew Jersey, http://www.sisweb.com/software/ms/nist.htm.

8- Wiley Registry™ of Mass Spectral Data, 8th Edition, Scientific Instrument Services Inc., New Jersey, http://www.sisweb.com/software/ms/wiley.htm.

9- Robert P. Adams, Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th Ed., Allured Publishing Corp., Carol Stream, Illinois, USA, 2007.

10- König WA, Joulain D, Hochmuth DH: GC/MS Library: Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils. [http://www.massfinder.com].

11- Van Den Dool H., Kratz, P.D., A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography

J. Chromatography, 1963, 11, 463-471.

12- Gas Chromatographic Retention Data, http://webbook.nist.gov/chemistry/gc-ri/

13- NCCLS/National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA, 1997.

14- Haddouchi F., Lazouni H.A., Meziane A., Benmansour A, 2009, Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de Thymus fontanesii Boiss & Reut. Afrique Science, 5(2), 246-259p

15- Skandamis P.N., Nychas G.J.E, 2001, Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. Journal of Applied Microbiology, 91(6), 1011-1022p

16- Oussou K.R., Kanko C., Guessennd K.N., Yolou S., Koukoua G., Dosso M., N'guessan Y.T., Figueredo G.., Chalchat J.-C, 2004, Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes de Côte d'Ivoire. C. R. Chimie, 7(10-11), 1087-1086p

17- Okou O.C., Kra A.K.M., Zirihi G.N., Dosso M., Guede G.F, 2006, Activité antibactérienne des extraits de Mitracarpus scaber sur la croissance in vitro des streptocoques B hémolytiques. J. Sci. Pharm. Biol, 7(1), 17-27p

18- Koné W.M., Kamanzi Atindehou K., Kacou-n'douba A., Dosso M, 2007, Evaluation of 17 medicinal plants from Northern Côte d'Ivoire for their in vitro activity against Streptococcus pneumoniae. African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines, 4(1), 17-22p

19- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), 2002, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi. Wayne (Approved Standard M38-A)

20- Konan Kouadio F., Guessennd N.K., Karamoko O., Bahi C., Adama C., Dosso M, 2013, Action antibactérienne de l'extrait éthanolique 70% de Clerodendrum splendens (G. Don) (Verbenacae) sur des souches bactériennes isolées de selles chez des enfants diarrhéiques. Int. J. Biol. Chem. Sci, 7(3), 1332-1337p

21- Bolou G.E.K., Attioua B., N'Guessan A.C., Coulibaly A., N'Guessan J.D., Djaman A.J, 2011, Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de Terminalia glaucescens planch. sur Salmonella typhi et Salmonella typhimurium. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 80, 772-790p

22- Mebarki .noudjoud, 2010**.**Extraction de l'huile essentiel de *thymus fontanesii* et application a la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Mémoire de magister en génie des procédés chimiques et pharmaceutiques. Option industrie pharmaceutiques. Université de M'hamed Bougara de Boumerdes.

23- ATTOU. Amina, 2017 .Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) Etude de Leurs Activités Antioxydante et Antimicrobienne. Thèse de Doctorat en Biologie Option. Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse. Universite Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

24- Ponce A.G ; Fritz R ; Del Valle C et Roura S .I ,2003 . Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chard.Lebensmittel-wissenschaft und Technologic, 36, 679,-68p.

25- Pibiri M.C., C.Seigniez et *al .,* 2001.Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles et leurs effets sur le bien-etre dans occupants.CISBAT 2001,Lausanne,LESO,EPFL.

26- Kabouche , Z . ; Boutaghane , N. ; Laggoune , S. ; Kabouche , A. ; Ait –Kaki. ;Benlabed .K, 2005**.** The International journal of Aromatherapy..15,129-133

Polyphénols d'agrumes : extraction et évaluation du pouvoir antioxydant et antimicrobien

Ouafa REBAI et Imane BELKACEM

Laboratoire de Microbiologie et Biologie Végétale. Faculté des sciences de la vie et de la nature Université de Mostaganem, BP 227 Mostaganem (W27000) Mostaganem

rebaiouafa@yahoo.fr

Résumé:

Actuellement, il est bien admis que l'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est remise en cause en raison des résultats peu concluants quant à l'effet préventif de ces molécules synthétiques. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées, dont les polyphénols qui sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal. Les écorces d'agrumes sont riches en composés phénoliques, essentiellement des flavonoïdes et des acides phénoliques. Cette étude a pour objectif l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits éthanolique, acétonique et méthanolique préparés à partir des écorces de *Citrus limon* et *Citrus sinensis.*Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée avec le réactif de folin–Ciocalteu. Alors que celui des flavonoïdes par la méthode colorimétrique basée sur la formation de complexes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium. Une caractérisation des extraits obtenus par HPLC a été effectuée.Les résultats obtenus montrent que la teneur la plus élevée des polyphènols est constatée dans l'extrait éthanolique de citron 3,79 g/l d'acide gallique. Quant aux flavonoïdes, on a observé des teneurs rapprochées (238,73 ; 237,13 et 236,4 mg EQ/100g de poids frais) dans les extraits méthanolique, éthanolique et acétonique de l'orange respectivement, suivis par les extraits méthanolique, acétonique et éthanolique de citron avec une teneur de (212,06 ; 204,06 et 203,33 mg EQ/100g de poids frais) respectivement.L'activité antiradicalaire des composés phénoliques contenus dans les extraits préparés a été évaluée en mesurant leurs capacités de piéger le radical libre DPPH, le pouvoir réducteur FRAP et par le test de blanchissement du β-carotène. Globalement tous les extraits d'écorces d'orange et de citron ont la capacité de réduire le fer et de neutraliser le radicale libre DPPH, mais cette capacité reste faible comparée à celle de l'acide ascorbique.L'évaluation du pouvoir antimicrobien semble indiquer que ces extraits s'avèrent plus actifs sur *Bacillus cereus*et *Staphylococcus aureus*, tandis que l'effet antibactérien des extraits méthanoliques des deux fruits est remarquable sur la souche *Pseudomonas aeruginosa.*

Mots clés : *Citrus limon*, *Citrus sinensis*, Polyphénols, Pouvoir antioxydant, Pouvoir antimicrobien.

Introduction

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels (Bougandoura et Bendimerad, 2013). Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées (Suhaj, 2006), dont les polyphénols qui ont une importance croissante grâce à leur rôle d'antioxydants naturels (Adebiyi, 2017). Ces activités sont attribuées en partie à la capacité de ces composés à réduire les radicaux libres mais aussi à leur affinité pour une grande variété de protéines dont certains enzymes et récepteurs.

Les écorces d'agrumes sont riches en composés phénoliques, essentiellement des flavonoïdes et des acides phénoliques. Les flavonoïdes des écorces d'agrumes sont caractérisés par leur activité antioxydante, thérapeutique, antivirale, antifongique et antibactérienne (Bocco*et al.,* 1998 ; Chae*et al.,* 2013). Grâce à cette richesse, l'extraction des composés phénoliques à partir des écorces d'agrumes a considérablement attiré l'intérêt

scientifique pour les utiliser comme des antioxydants naturels, conservateurs principalement dans les aliments mais aussi dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (Ramful*et al.,* 2010).

L'objectif principal de cette étude est de tenter d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des composés polyphénoliques extraits à partir des écorces d'agrumes (orange et citron). Les travaux expérimentaux nécessiteront une mise au point des techniques sur tout nouveau produit étudié. Les extraits obtenus feront par la suite l'objet d'une série de criblages chimiques et biologiques, notamment les tests d'activité antioxydante et antimicrobienne.

Matériels et Méthodes

Matériel végétal : Le matériel végétal *(Citrus limon* variété *eureka*)et (*Citrus sinensis L,* variété *sanguine)* utilisé dans cette étude a été achetéà partir de fruitsdisponibles dans le marché de la région de Mostaganem. Leséchantillons defruitsont été lavésparl'eau, lespeaux, y compris le flavedoet l'albédo, qui ont été séparésdeces agrumes. Lesécorcesfraîchesont été broyées finementparun mixeur électrique etconservés à 4°Cpour l'utilisation ultérieur.

Extraction : 100 g d'écorces sont broyés dans un mortier pilon et extrait dans trois solvants différents à raison de 400 ml chacun : éthanol à 50 %, acétone à 80 % et méthanol à 100 %. Les échantillons sont ensuite mis dans un récipient en verre fermé hermétiquement pendant 16 heures à l'obscurité. Cette macération est réalisée à une température ambiante. La suspension est ensuite filtrée à travers un papier filtre ordinaire.Pour éliminer le solvant d'extraction, le filtrat est passé au Rotavapeur à une température de 60°C pour l'éthanol, 56°C pour l'acétone et 65°C pour le méthanol.

Dosage des polyphénols totaux : Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par Singleton et Rossi (1965) avec le réactif de folin–Ciocalteu(FCR). Une solution stock à une concentration de 2mg/ml d'extrait de chaque fruit a été préparée dans de l'eau distillée, un volume de 0,5ml de chaque dilution de la solution stock a été mélangé avec 5 ml de réactif de FCRdilué dans l'eau distillée (1:10). Après 6 minutes, 4 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% a été ajouté,puis une incubation du mélange réactionnel pendant une heure à température ambiante et à l'obscurité a été réalisée. L'absorbance a été mesurée à 765 nm. Le mêmeprotocolea été respecté pour préparer la courbe étalon en remplaçant le volume d'extrait par l'acide gallique. Toutes les mesures sont répétées 3 fois. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

Dosage des flavonoïdes : Le dosage des flavonoïdes de extraits végétaux a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par (Zhishen*et al.,*1999), basée sur la formation decomplexes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium. Une solution stock à une concentration de 2mg/ml d'extrait de chaque plante a été préparée dans de l'eau distillée. Un volume de 200 µl de nitrite de sodium $NaNO_2$ à 0,5% a été mélangé avec 2 ml de chaque dilution de la solution stock. Après 6 min, 200µl de chlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 1% a été ajouté au mélange. Ensuite, 2 ml d'hydroxyde de sodium NaOH à 1M a été ajouté. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 30 min à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 510 nm. Toutes les manipulations sont répétées 3 fois.La teneur en flavonoïdes a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée par la quercetine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercetine par gramme d'extrait.

Pouvoir antioxydant des extraits : Pour évaluer l'effet antioxydant des extraits de plantes, troistechniques ont été réalisées : en utilisant le radical 2.2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), la technique FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) et la méthode de blanchissement de la β-carotène.

Pouvoir antimicrobien des extraits : Cette méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide.L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme seraqualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante.Le test de susceptibilité a été effectué selon la méthode de diffusion des disques décrite par (Dulger et Gonuz, 2004). Le support microbien est composé de six souches (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923*, Bacillus cereus* ATCC 10876*, Escherichia coli* ATCC 25922*, Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853*, Klebsiella pneumoniae)* et une levure (*Candida albicans*ATCC10231*),*qui ont été isolées au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'université Abdel HamdIbnBadissde Mostaganem (souches de références).Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.L'essai de diffusion de puits de gélose a été réalisé selon la méthode de Valgas et al. (2007).

Résultats

Effet de la concentration et du type de solvant sur le rendement total en phénols : Le **Tableau 1**montre la composition quantitative des composés phénoliques et des flavonoïdes contenus dans les extraits de *Citrus limon* et *Citrus sinensis*. L'analyse de ces résultats montre que les extraits des écorces de *Citrus limon* sont les plus riches en composés phénoliques par rapport à *Citrus sinensis*, à la concentration 70% et pour les deux espèces végétales nous avons obtenu les teneurs en polyphénols et flavonoïdes les plus élevées.

Tableau 1: Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les écorces des deux variétés de fruits (Orangeet Citron)

Echantillons	***Solvants***	***Teneur en* polyphénols totaux *(g/l d'acide gallique)***	**Teneur en flavonoïdes (µg EQ /100 g Pf)**
Citrus sinensis	Ethanol	2,16	237,13
	Acétone	1,32	236,4
	Méthanol	2,96	238,73
Citrus limon	Ethanol	3,79	203,33
	Acétone	2,85	204,06
	Méthanol	3,16	212,06

EQ : *équivalent quercetine ;* ***Pf :*** *poid frais.*

Détermination du potentiel antioxydant des extraits végétaux : D'après les résultats obtenus lors de l'activitéantioxydantepar le test DPPH (**Figure1)**, nous avons révélé que tous les extraits des écorces de *Citrus limon* et *Citrus sinensis* étudiés possédant un pouvoir antioxydant qui se diffère entre les espèces végétales eux-mêmes, et par la concentration du solvant utilisé. Nous avons constaté que le pouvoir antiradicalaire de *Citrus limon* est plus important à celui de *Citrus sinensis,* à 70%et à 2,5 g nous avons obtenu un pourcentage de piégeage de 57,44 et 63,73 %, respectivement pour *Citrus limon*, et 50,03 et 51,08 %, respectivement pour *Citrus sinensis.* Ces valeurs ont été faibles par rapport à celle obtenues par l'acide ascorbique 61,22 et 65,03 %, respectivement.

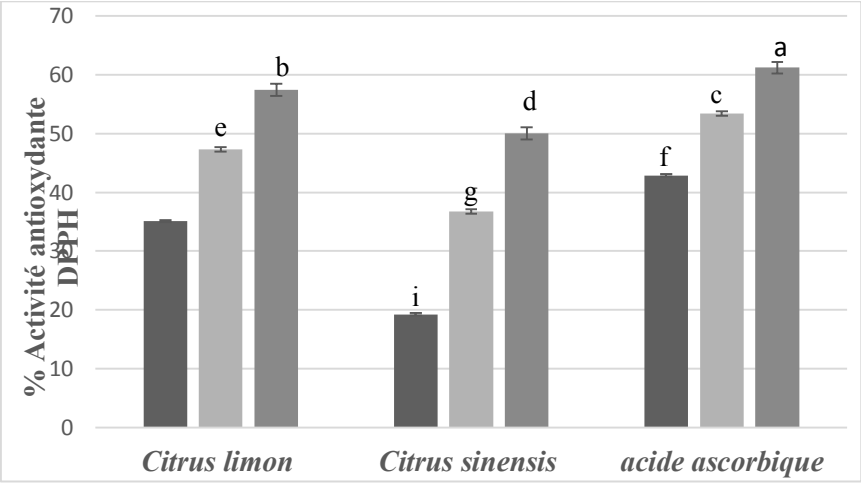


Figure 1 : Effet des concentrations d'eau sur le piégeage du radical libre DPPH° par *Citrus limon*, *Citrus sinensis* et l'acide ascorbique.

Evaluation de l'activité antimicrobienne : Nous avons évalué l'activité antimicrobienne des extraits organiques des écorces de citron et de l'orange sanguine par la méthode de diffusion en milieu solide, cette activité a été révélée sur cinq souches bactériennes de référence (*Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiellapneumoniae)* et une levure (*Candida albicans)*, ensuite pour chaque disque nous avons mesuré les diamètres des zones d'inhibition de croissance des cultures microbiennes. Les résultats du screening antimicrobien des extraits sont reportés dans le **Tableau 2**. Tous les extraits se sont avérés actifs contre l'ensemble des souches testées. Par contre l'extrait acétonique de citron et de l'orange est inactif contre *Pseudomonas aeruginosa.*

Tableau 2 : Activité antimicrobienne de l'extrait de citron et de l'orange sanguine (diamètres des zones d'inhibition de croissance des cultures microbiennes en mm).

Extrait		**Diamètres des zones d'inhibition de croissance microbienne *(mm)**					
		E coli	*Staphylococcus aureus*	*Candida albicans*	*Bacillus cereus*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Klebsiellapneu moniae*
Orange	éthanol	09	15	08	16	10	12
	acétone	09	14	10	15	-	11
	méthanol	10	11	11	18	20	10
Citron	éthanol	09	14	09	18	11	10
	acétone	12	15	10	15	-	14
	méthanol	09	18	12	20	23	11

( ) Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques (diamètre du disque inclus). Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions. (-) : pas d'inhibition.*

Discussion

Les écorces d'agrumes sont des matrices hautement valorisables vue leur disponibilité et leur richesse en ingrédients nutritionnels et fonctionnels (Kammoun*et al.,* 2011). L'analyse de ces résultats montre que les extraits des écorces de *Citrus limon* sont les plus riches en composés phénoliques par rapport à *Citrus sinensis*, et il était significativement plus élevé dans l'extrait méthanolique de citron.

Cependant, les résultats de dosage des composés phénoliques totaux ne peuvent pas indiquer les teneurs exactes des extraits en ces composés, puisque malgré sa grande sensibilité, la méthode de FolinCiocalteu peut avoir des problèmes d'interférence, du fait qu'elle n'est pas spécifique aux polyphénols (Biozot et Chapentier, 2006). En effet, le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à l'autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs(Karimi*et al.,* 2018). Les résultats de (Mohsenet Ammar, 2009) ont prouvé que l'éthanol était le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques, suivi du méthanol et finalement par l'eau ce qui pourrait expliquer la différence mentionnée dans le tableau.En effet, la teneur des phénols totaux n'est pas stable, et se diffère d'une plante à une autre et entre les espèces du même genre, ce qui est le cas dans notre étude concernant les deux espèces de *citrus.*

Les résultats indiquent la teneur la plus élevée en flavonoïdes chez l'extrait méthanolique de l'orange (238,73µg EQ /100 g Pf) en le comparant avec le reste des extraits. Cependant, on observe une basse corrélation entre le contenu polyphénolique et flavonoïque. Le cas d'extrait éthanolique de citron qui est riche en phénols totaux, mais il ne présente pas la teneur la plus élevée en flavonoïdes.

Les résultats de la capacité de piégeage des radicaux libres (essai DPPH) présentent des taux de 89, 21% pour l'extrait méthanolique 70% à une concentration de 3 mg / ml, cette valeur était significativement différente de l'éthanol et d'acétone à la même concentration. Les extraits avec des concentrations de 70% de solvant utilisé présentaient une capacité de piégeage de radicaux DPPH supérieureavons constaté aussi que le pouvoir antiradicalaire de *Citrus limon* est plus important à celui de *Citrus sinensis,* à 70%et à 2,5 g nous avons obtenu un pourcentage de piégeage de 57,44 et 63,73 %, respectivement pour *Citrus limon*, et 50,03 et 51,08 %, respectivement pour *Citrus sinensis*.

L'effet antibactérien peut s'expliquer par la relation entre le nombre de groupes hydroxyle et leur position sur le groupe phénol et leur toxicité relative pour les microorganismes, l'augmentation de l'hydroxylation induisant une augmentation de l'activité antimicrobienne. (Cowan, 1999).Le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire e leurs compositions chimiques.

A partir de nos résultats, on peut globalement déduire un pouvoir antibactérien des extraits testés. Les polyphénols, tels que les tannins et les flavonoïdes comme l'épigallocatéchine, la catéchine, la myricétine, la quercétine(Shan *et al.,* 2007) et lutéoline(Askun*et al.,* 2009) sont des substances antibactériennes importantes.Le mécanisme d'action des polyphénols sur ses agents pathogènes n'est pas bien connu, les études exploitées par Sokmen*et al.,* (2005) ont mené à conclure que l'effet antimicrobien des produits polyphénoliques serait dû partiellement à une perturbation des fractions lipidiques de la membrane plasmique des microorganismes, qui en résulte une altération de la perméabilité de la membrane et la perte (fuite) de ses organites intracellulaires, en plus des caractéristiques physico-chimiques des composés polyphénoliques (la solubilité dans l'eau et la lipophilie) peuvent influencer cet effet antibactérien.

L'action inhibitrice des flavonoïdes sur la croissance bactérienne était étudiée par Ulanowskaet ses collaborateurs (2007). Ils ont démontré que de nombreux flavonoïdes (apigenine, kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif *(Escherichia coli…)* et Gram positif *(Staphylococcus aureus…*).

L'hypersensibilité de la souche Staphylococcus aureus ATCC peut s'expliquer par la probabilité de la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits naturels due à l'absence de la membrane externe.

L'analyse des extraits d'écorces de citron préparés dans de l'éthanol, le méthanol et l'acétone montre la présence de coumarineet tétrazene, deux substances connues pour être de bons agents antimicrobiens à large spectre d'activité (Dhanavade*et al.,* 2011).Par ailleurs, on a constaté qu'il n'ya pas une corrélation directe entre le contenu phénolique de nos extrait et l'activité antibactérienne. Des résultats similaires ont été obtenus par (Turkmen*et al.,* 2007) lors de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de thé.

Pour cela nous pouvons conclure que l'activité antimicrobienne des extraits dépend non seulement des composés phénoliques mais, aussi de la présence de différents métabolites secondaires.

Références bibliographiques

Adebiyi OE., Olayemi FO., Ning-Hua T., Guang-Zh Z. In vitroantioxidantactivity, total phenolic and flavonoid contents ofethanolextract of stem and leaf ofGrewiacarpinifolia. *Beni-SuefUniversityJournal of Basic and Applied Sciences.*2017;6 :10-14.

Askun T.,Gulendam T., Satil F., and Ates M. Characterization of the phenolic composition and antimicrobialactivities of Turkishmedicinal plants.*Pharmaceutical Biology*, 2009; 47(7): 563–571

BiozotN., et Charpentier JP. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.*Cahier des Techniques de l'INRA*.2006 :79-82.

BoccoA., Marie-Elisabeth Cuvelier ME., Richard H., and laudetteBerset C. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Citrus Peel and SeedExtracts. *J. Agric. Food Chem*. 1998, 46 (6), pp 2123-2129.

Bougandoura N., etBendimerad N. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de Saturejacalaminthassp.Nepeta (L.) Briq.*Revue « Nature & Technologie »*. B- Sciences Agronomiques et Biologiques. 2013 :09 :14-19.

Chae SC., Jai-Heon Lee JH., and Un Park S. Recentstudies on flavonoids and theirantioxidantactivities. *EXCLI J*. 2013; 12:226–230.

Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents.*CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS.* 1999, p. 564–582.

Dhanavade MJ., Jalkute CB., GhoshJS., and Sonawane KD.StudyAntimicrobial Activity of Lemon (Citrus lemon L.) Peel Extract. *British Journal of Pharmacology and Toxicology.* 2011 : 2(3): 119-122, 2011.

Dulger B., et Gonuz A., **Antimicrobial Activity of SomeTurkishMedicinal Plants.***Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2004 :7(9) :1559-1562.

Karimi E.,Nohooji MG.,Habibi M.,Ebrahimi M.,Mehrafarin A., and Khalighi-Sigaroodi F.Antioxidantpotentialassessment of phenolic and flavonoidrich fractions of *Clematis orientalis* and *Clematisispahanica*(Ranunculaceae). *Natural Product Research.*2018 : 32 (16).

Kammoun M., Miladi S., Ben AliY., Damak M., Gargouri Y., and Bezzine S. In vitro study of the PLA2 inhibition and antioxidantactivities of *Aloevera* leaf skin extracts.*LipidsHealth Dis.*2011; 10: 30.

Mohsen SM., & Ammar, ASM. Total phenolic contents and antioxidantactivity of corn tasselextracts. *Food Chemistry,* 2009 :112 (3), 595-598.

RamfulD., Tarnus E., Rondeau P., Da Sliva CR., Bahorun T., et Bourdon E. Citrus Fruit ExtractsReduce Advanced Glycation End Products (AGEs)- and H2O2-Induced Oxidative Stress in Human Adipocytes. 2010

Shan B., Cai YZ., Brooks JD., and Corke H.The in vitro antibacterialactivity of dietaryspice and medicinalherbextracts.*Int J Food Microbiol.* 2007 :117(1):112-9.

Singleton VL., and. Rossi JA., Colorimetry of TotalPhenolicswithPhosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents.*American Journal of Enology and Viticulture*.1965 :16(3), pp. 144-158.

Sokmen M, Angelova M., Krumova E., Pashova S., Ivancheva S., Sokmen A., Serkedjieva J. In vitro antioxidantactivity of polyphenolextractswith antiviral propertiesfromGeraniumsanguineum L.*Life Sci.* 2005 :76(25):2981-93.

Suhaj M.Spiceantioxidants isolation and theirantiradicalactivity:areview. *Journal of Food Composition and Analysis.*2006 :19(6–7), Pages 531-537.

Turkmen N, Velioglu YS., Sari F., Polat G.Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterialactivities of black tea.*Molecules.* 2007 :13;12(3):484-96.

Ulanowska K., Majchrzyk A., Moskot M., Jakóbkiewicz-Banecka J., and Węgrzyn G. Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*. 2007 : 62(2), pp 132–135.

Zhishen J., Mengcheng T., and Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and theirscavengingeffects on superoxideradicals. *Food Chemistry*. 1999 :64, 555-559.

Identification des proteines de reserve (glo-3, glo-b, glo-3c) des couches a aleurones de ble (tendre et dur) par une approche proteomique

Meziani S*, Menadi N, Haoud K, Mehida H, El Kadi FZ, Benali M, Branlard G[1].
* UDL-SBA. Laboratoire de Biotoxicologie. Département de Biologie. 2 Rue OulhacjeMokhtar, Sidi-Bel-Abbès, Algérie
meziani_samira@yahoo.fr

Résumé

La couche à aleurone (CA) est l'un des tissus périphériques du grain non retenu et entrainé avec le son lors de la mouture du blé. La CA est une excellente source de vitamines, de minéraux et d'antioxydants potentiellement utiles pour la valeur nutritive et la santé de la farine. Cette couche est une cible importante pour l'enrichissement et l'amélioration de la farine de blé et d'autres farines céréalières. Le but de notre étude repose sur 03 volets, premièrement la dissection et l'observer par microscopie électronique à balayage la couche unicellulaire à aleurone, deuxièmement la révélation, la caractérisation et l'identifier les protéines de la CA afin de savoir s'il y a une variation significative entre les différentes variétés de blé appartenant aux trois principales espèces cultivées tel que le blé tendre *Triticum aestivum* (Ta, 6X), le blé dur *Triticum durum* (Td, 4X) et l'engrain *T.*, la technique s'appuie sur l'analyse du protéome de la CA du grain mature. Pour chaque espèce, trois génotypes cultivés la même année et dans les mêmes conditions environnementales ont été étudiés et troisièmement de rechercher, pour un même génotype cultivé sur deux années différentes, d'éventuelles variations du protéome de la CA.

L'analyse par l'électrophorèse bidimensionnelle suivie d'une coloration au bleu de Coomassie ont révélées 1109 spots pour les blés durs (4X) et 1258 spots pour les blés tendres (6X). Les protéines qui variaient quantitativement et qualitativement au sein de chacune des espèces appartiennent majoritairement au groupe des protéines de réserve de type globulines (Glo-3, Glo-B, Glo-3C) qui dominent dans toutes les espèces. Les trois espèces des globulines observées dans les analyses de la CA se répartissent dans deux classes de PM la catégorie la plus élevée est entre 45 kDa et 75 kDa et la seconde de PM plus faible de 20 à 30 kDa. Ces protéines identifiées peuvent être répartis dans la catégorie la plus importante était les protéines de réserve. Toutes les protéines de différentes fonctions sont majoritaires similaires dans toutes les espèces, par contre, le profile, le nombre et l'expression des protéines se différent d'une espèce à une autre. Ces études confirment indirectement que les génomes AA, BB et DD servir de donateur potentiel pour le développement des protéines dans CA pour la formation du génome AABBDD. Nos résultats nous ont permis de déceler la similarité et la différence protéomiques, les protéines identifiées de tissus aleurone ont des rôles dans cinq processus fonctionnels a savoir, le métabolismes des glucides, la synthèse et assemblage des protéines, le stress et la défense, le stockage, le transport du signal et la transduction. Ces résultats ouvrent de nouveaux champs de recherche en génétique afin de comprendre la variabilité et les rôles des protéines constitutives ayant un intérêt nutritionnel comme les globulines de stockage et un rôle immunitaire dans la réponse contre des facteurs biotiques et abiotiques. L'étude de la composition nutritionnelle et métabolomique pourrait élargir l'éventail vers d'autres recherches.

Mots-clés : Blé tendre ; blé dur ; globulines ; couche à aleurone ; protéomique

I. Introduction

Le blé est l'une des céréales les plus cultivées au monde. Augmenter le rendement en mouture contribue à accroître considérablement le nombre de personnes pouvant être alimentées avec une même quantité de grain produite. Des recherches en technologie de la mouture sur le blé ont été principalement axées sur la séparation de l'albumen amylacé (farine blanche) avec les autres parties du grain pour augmenter les rendements de la farine (Abecassis, 1991). Les couches périphériques (son) ainsi que le germe sont exclus et servent principalement à

l'alimentation. Cependant ces tissus ont un potentiel nutritionnel et contiennent la plupart des micronutriments, des composés phytochimiques et les fibres pouvant contribuer grandement à l'augmentation de la qualité nutritionnelle de l'alimentation humaine (Youna et *al.,* 2007). La couche à aleurone est l'unique tissu vivant du grain mature et permet son développement au cours de la germination (Antoine., 2002). Plusieurs molécules d'intérêt nutritionnel ont été signalées en quantité abondante dans la couche à aleurone du blé, de haute teneur en protéines riches en lysine et acides aminés essentiels (Betschart, 1988). La couche à aleurone est également riches en vitamines (B1, B2, B3, B6, B9, et E) et en minéraux (P, K, Mg, Mn, et Fe) (Antoine et *al.,* 2002), (McMasters et *al.,* 1971) et (Lopez et *al,* 1998). L'objectif de cette étude a été la première, à évaluer, caractériser, identifier les protéines des couches à aleurone et comparer les variétés des espèces différentes de blé héxaploïdes, tétraploïdes au stade mature par une analyse protéomique qualitativement et quantitativement L'analyse de cette couche à aleurone serait donc de fournir des informations sur les origines des différents spots de protéines sur gels 2DE à partir de deux génomes majeurs du blé (génome A et génome B) en analysant les blés tétraploïdes (AABB) et hexaploïdes (AABBDD). Les globulines sont importantes pour la nutrition et jouent également un rôle dans immunoactivation, qui sont potentiellement antigéniques chez les patients diabétiques de type 1 (Loit et al., 2009). Ces globulines correspondent la globuline 7S dont les gènes ont été identifiés dans hexaploïde, tétraploïdes et diploïdes du blé espèces (Loit et al., 2009; Jerkovic et al., 2010). Loit et al. 2009, a indiqué que au moins deux copies de Glo-3 en A, B et D génomes diploïdes et homologies au moins quatre copies dans le génome tétraploïde et hexaploïde. Leur expression a été observée par fluorescence en AL et de l'embryon.

II. Matériel et méthodes

II.1. Le matériel végétal utilisé

Au cours de ce travail, nous avons été amenés à utiliser plusieurs espèces et variétés différentes de blés récoltés au stade mature. Nous avons choisi de travailler sur un large éventail d'espèces et de variétés françaises et algériennes pour étudier en premier lieu les différences entres les trois espèces de blé cultivés et entre les variétés d'une même espèce. Les échantillons analysés durant ces travaux de thèse sont issus de récoltes 2007 fournis par la station de l'INRA de Clermont Ferrand. Ces variétés ont été choisies au sein de chacune des trois espèces (*T aestivum*, *T durum*) de manière à avoir un ensemble de cultivars d'origine génétique très diversifiée et ayant parmi eux des cultivars largement connu au plan international pour leur apport dans l'amélioration et la génétique des blés. *Triticum aestivum (Hexaploide 6X):* Chinese Spring utilisé comme standard mondial cultivé en (2007), Courtot (CIMMYT) et Apache très cultivé en France et *Triticum durum (Tétraploïde 4X):* Mexicali (origine mexicaine, standard largement utilisé dans l'amélioration du blé dur), Joyau et Lloyd très cultivés en France et Bidi 17 (variété algérienne également très utilisé dans l'amélioration du blé dur (Tableau1).

Chacun de ces cultivars a été produit en pépinières, en condition de culture conventionnelle, avec une fertilisation minérale suffisante pour obtenir des rendements en grain élevés (optimum calculé selon la méthode des bilans pour un rendement en grain voisin pour le blé tendre de 75 à 85 qx/ha). La production de ces cultivars a été réalisée avec une protection phytosanitaire complète sur la plante et les épis.

II.2. Méthode de prélèvement des couches à aleurone (CA)

La dissection de 10 grains est réalisable dans la journée. La séparation des tissus du grain est effectuée manuellement sous la loupe binoculaire et doit être rapide pour éviter les phénomènes de dégradation. Les tissus disséqués sont immédiatement conservés dans de la glace. Au total, en moyenne 30 grains par génotype sont nécessaires pour réaliser le nombre de répétitions nécessaire.

II.3.Microscope électronique à balayage

L'examen des couches à aleurones a été fait à l'INRA de Theix près de Clermont Ferrand en France. Cet examen est nécessaire pour évaluer la pureté des tissus récupérés et pour valider la procédure de dissection. Les échantillons de la CA ont été fixés directement sur un support à l'aide d'un adhésif puis enrobés d'or dans un Emscope SC 500 (ELEXIENCE, Verrières le Buisson, France) et ont été observés avec un microscope électronique à balayage Philips SEM 505 (FEI Eindhoven, Pays-Bas) à 15 kV. (Figure 1), Les images numériques ont été obtenues avec un système de Microvision (Microvision Instruments, Evry, France).

II.4. L'extraction et dosage des protéines

II.4.1. Préparation des broyats

Les échantillons sont broyés dans l'azote liquide. Pour chaque génotype, le broyat obtenu est pesé puis réparti dans 2 tubes Eppendorf. Sur ces deux extraits biologiques, deux répétitions techniques par extrait ont été réalisés. Ces deux broyats sont ensuite stockés à -80°C.

II.4.2. L'extraction, dosage des protéines

La solution d'extraction E2D utilisée permet la dénaturation et la solubilisation de la majorité des protéines des couches à aleurones. A partir de la poudre provenant d'un broyat des CA de 10 grains, deux répétitions sont réalisées avec 500 µL de tampon d'extraction contenant: (7 M Urée, Chaps 4%, la Thiourée 2 m, 1,2% (Amersham Biosciences) et 1% IPG buffer pH3-10 (Amersham Biosciences). Les échantillons sont laissés surnageant de chaque extrait est récupéré et son volume mesuré. Un aliquot de 5 µl est prélevé pour le dosage des protéines. Les échantillons sont ensuite stockés à -80°C.

II.5. L'électrophorèse bidimensionnelle

L'électrophorèse bidimensionnelle (E2D), définie pour la première fois par O'Farrell en 1975, permet de séparer les protéines après leur extraction et solubilisation dans des détergents non-ioniques et zwiterrioniques. Comparativement aux techniques de chromatographie, l'E2D est encore la méthode la plus largement utilisée dans l'analyse protéomique pour séparer de très nombreuses protéines (Rabilloud et al., 2010). L'électrophorèse bidimensionnelle est constituée en étapes successives : l'isoélectrofocalisation (IEF) et la migration SDS-PAGE. En première dimension (IEF), les protéines sont séparées selon leur point isoélectrique. Un dépôt de 150 µg de protéines par extrait est réhydraté pendant une nuit de manière passive sur des bandelettes ou « strips » appelés IPG immobilised pH gradient, de 24 cm et contenant un gradient de pH 3-10 immobilisé. Les strips sont placés dans une cuve d'isoélectrofocalisation Multiphor II (Amersham Biosciences, Uppsala, Suède). L'IEF est effectuée à 20°C pour un voltage total de 90 kVh. Suite à l'étape de l'IEF, les protéines sont réduites pendant 15 minutes dans un tampon d'équilibration (Tris HCL, pH 8.8, urée 6M, glycérol 30%) contenant 2% de DTT, puis alkylées pendant 15 minutes dans ce même tampon contenant à la place du DTT, 2.5% de iodoacetamide. La coloration des protéines est réalisée au bleu de Coomassie selon le protocole de Rabilloud et al 2000). Les gels sont fixés dans une solution contenant 30% d'éthanol (v/v) et 2% d'acide orthophosphorique pendant une nuit. Ils sont ensuite rincés deux fois dans une solution contenant de l'acide orthophosphorique à 2% durant 20 minutes. La solution de coloration au Bleu de Coomassie Colloïdal G250 préparée à 0.2%.

II.6. Analyse statistique des images

Les profils protéiques ont été acquis à l'aide d'un Scanner G-800 (GE Healthcare, Uppsala, Suède). Les images obtenues avec une résolution en 300 dpi ont été analysées par le logiciel Same-Spots (Nonlinear Dynamics, Newcastle, UK, software version 3.2). Ces spots peuvent ensuite être excisés afin d'être identifiés par spectrométrie de masse. Pour conclure à une différence significative dans le volume des spots, l'ANOVA est

mesurée avec une probabilité d'erreur p inférieure à 0,05, une différence dans le ratio des volumes (Fold) supérieure à 1,8 et une détection de faux positifs avec une valeur q inférieure à 0.05

II.7.Spectrométrie de masse

Les spots protéiques significativement différents entre les génotypes d'une même espèce ou entre les espèces sont identifiés après analyse d'images puis prélevés directement sur les gels en 2 exemplaires. Les protéines ont été hydrolysées par une enzyme la trypsine (Promega, Madison WI, USA) selon Nadaud et al. 2010. Les spots sont lavés 30 min sous agitation sur vortex (600 tr/min) dans 100 µl de NH_4HCO_3 25 mM / 5% acétonitrile (ACN). Après élimination du surnageant, une nouvelle étape de rinçage est réalisée dans 100 µl de 50% NH_4HCO_3 25 mM / 50% ACN. Les spots sont déshydratés dans ACN 100% pendant 10 min puis séchés 5 min au Speed-vacuum.

II.7.1. Identification des protéines

Plusieurs types de spectromètres de masses existent reposant principalement sur deux types d'ionisation : L'ionisation MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation) qui repose sur l'utilisation d'une matrice. Cette matrice va permettre l'absorption d'énergie apportée par un laser et L'ionisation ESI (Electrospray Ionization) qui repose sur l'émission en phase gazeuse d'ions préformés en solution sous l'effet d'un champ électrique. Les molécules chargées sont introduites dans un capillaire et sous l'effet d'un champ.

II.7.2. Analyse des banques des données

Les données obtenues (liste de masses et/ou séquence en acides aminés des peptides de l'échantillon) sont ensuite analysées et comparées à celles présentes dans les banques de données (notamment NCBI, uniprot). Les listes de masses obtenues expérimentalement sont comparées à l'aide d'algorithmes aux listes de masses théoriques des peptides obtenues par digestion *in silico* des protéines présentes dans les bases de données. La même procédure est utilisée dans le cas des comparaisons de séquences en acides aminés avec les séquences protéiques présentes dans les bases de données.

II. Résultats et Discussion

III.1. Images microscopiques des couches à aleurone des espèces de blé tendre et blé dur

Afin de valider la méthode de dissection manuelle effectuée sous la loupe binoculaire, il convenait de vérifier la pureté des CA obtenues. L'image de CA observée par le microscope électronique à balayage nous a permis d'évaluer la pureté des tissus d'aleurone récupérés et de valider la procédure de dissection dont l'identité a été établie à partir de leurs compositions histologiques (Antoine et *al*, 2004 ; Surget et Barron, 2005) (Figure 1). Dans cette étape, les parties du grain qui sont difficiles à disséquer se situent entre le péricarpe externe et la couche à aleurone. Le mode de dissection diffère selon les caractéristiques des génotypes de blé utilisés dans notre cas. Des caractéristiques morphologiques ont été observées sur les CA des cultivars (longueur, largeur, forme de cellule et le mode de dissection). La CA de *T. aestivum Chinese Spring (*TaC) a été relativement facile à disséquer. *T. aestivum Chinese Spring* (TaC) et *T. durum Mexicali (*TdM) ont des cellules de CA larges avec un péricarpe intérieur épais (hyalines et testa) permettant la dissection facile.

III.2. Détection et identification des spots pour la comparaison *T. aestivum* (Ta) et *T. durum* (Td)

Les images des gels d'électrophorèse bidimensionnelle ont révélé 1258 spots pour les génotypes de Ta et 1109 spots pour les génotypes de Td. Ces images ont été utilisée pour des analyses qualitatives (Présence/Absence) et quantitatives. Sur l'ensemble de toutes les comparaisons, il a été détecté 339 spots significativement différents

(qualitativement et quantitativement). Parmi eux, 30,8% se différent entre les génotypes de Ta et 56.5% entre les génotypes de Td, et seulement 12,7% se différent entre les représentants de Ta et Td. Parmi les spots comparées deux par deux qui sont significativement différents dans les génotypes Ta et dans les génotypes Td, 47 et 77 spots ont été identifiés respectivement par spectrométrie de masse MALDI-TOF et LC-MS/MS suivie d'une interrogation de bases de données (Figure 2). Dix-huit spots identifiés ont varié entre les deux espèces Ta et Td. Ces protéines ont été classées en trois voies métaboliques et huit catégories fonctionnelles. La plus grande catégorie était composée des protéines de réserve de type globulines, représentée par 29 et 43 spots respectivement présentes dans les comparaisons intra-spécifiques de trois génotypes de Ta (TaA, TaCS et TaC) et trois génotypes de Td (TdM, TdJ et TdB), et de 9 spots observés dans la comparaison inter-spécifique Ta et Td. Les autres catégories observées concernaient des protéines du métabolisme énergétique, des protéines de stress / défense, des protéines de transport, des protéines impliquées dans le repliement d'autres protéines et la transduction du signal.

III.3. Sur les principales différences intra spécifiques

Trois cultivars d'origine génétique très différente ont été comparés deux à deux au sein de chacune des espèces pour appréhender la diversité intra- spécifique pour les protéines de la CA. Ce nombre de trois cultivars est certes peu élevé mais donne déjà une indication des potentialités de différences du protéome de la CA pour chacune des trois espèces. Ainsi on constate que sur les 339 spots significativement différents (qualitativement et quantitativement) entre blés tendres (Figure 2). Les protéines qui variaient quantitativement et qualitativement au sein de chacune des espèces appartiennent majoritairement au groupe des protéines de réserve de type globulines mais sont aussi constituées des protéines du métabolisme cellulaire: glycolyse, repliement des protéines, transport, signalisation et aussi de celles impliquées dans la réponse au stress et au métabolisme des xyloses.

III.4. protéines de réserve de type globulines

Les globulines sont les protéines de réserve présentent dans la CA des trois espèces. L'approche protéomique a permis d'identifier et de caractériser trois types de globulines. Les Glo-3, Glo-3B et Glo-3C qui dominent dans toutes les espèces ; elles représentent la majorité des protéines identifiées. Ces globulines correspondent aux 7S-globulines, dont les gènes ont déjà été identifiés dans les espèces de blé hexaploïdes, tétraploïdes et diploïdes (Loit et al, 2009 ; Jerkovic et al, 2010). Les trois espèces des globulines observées dans les analyses de la CA se répartissent dans deux classes de PM la catégorie la plus élevée est entre 45 kDa et 75 kDa et la seconde de PM plus faible de 20 à 30 kDa (Figure 2). Cette dernière classe ne semble pas correspondre aux gènes identifiés et pourrait soit résulter de l'expression de pseudo-gènes (gènes partiellement tronqués),

Les globulines sont très différentes parce qu'elles résultent, nous l'avons vu, de l'expression de plusieurs gènes présents sur le génome A mais vraisemblablement aussi dupliqués sur les génomes B et D. Il a en effet été constaté que ces globulines (de type Glo-3, Glo-3B et Glo-3C) avaient des niveaux d'expression plus élevés dans le *T. aestivum* (AABBDD) que dans le *T. durum* (AABB). De plus ces protéines de réserve ne semblent pas avoir de fonction enzymatique propre, du moins connues à ce jour. Les mutations n'ont donc pas été contre-sélectionnées pour conserver une fonction enzymatique. Elles ont donc, comme les protéines de réserve de l'albumen (gliadines et gluténines) accumulé des mutations, révélées par leur diversité intra spécifique très élevée, qui n'altèrent pas leur structure et leur fonction de réserve d'acides aminés nécessaires à la synthèse de nombreuses enzymes. Ces globulines sont majoritairement présentes dans les vacuoles, ou structures globulaires, qui renferment avec les globulines une abondante quantité d'acide phytique (en moyenne estimée à 152 mg g^{-1} MS de CA, Barron *et al,* 2011) et, en plus du phosphore, également des éléments tels que Zn, Fe, Na, Mg et Al (Regvar *et al,* 2011). A l'aide des séquences des globulines il est possible de rechercher si ces protéines sont porteuses de sites putatifs de modifications post traductionnelle telles que des phosphorylations. L'analyse des séquences des globulines de type 3 à l'aide du logiciel NetPhos (*www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/)* nous permet d'examiner si les serines,

thréonines et tyrosines sont potentiellement phosphorylées. La figure 28 ci-contre nous indique que les globulines elles mêmes sont peu porteuses de sites de phosphorylation. On relève de nombreux sites de de méthylation. Les globulines de type 3B seraient potentiellement trois fois plus méthylées, hydroxylées et beaucoup plus ADP ribosylées que les globulines de type 3. Les globulines de type 3C pourraient être totalement phosphorylées et cinq fois plus que les globulines de type 3 et 3B. Ces observations sont obtenues par l'analyse bio informatique des séquences des globulines et prédiction virtuelle qu'il conviendrait par la suite de confirmer par analyse chimique et spectrométrie de masse.

Conclusion

L'analyse protéomique des protéines de réserve ont eu lieu entre différentes espèces de blé hexaploïde et tétraploïdes. Le nombre de Ta avaient en moyenne 19% de spots par rapport à Td. Également des différences intra-spécifiques ont eu lieu entre les génotypes : 2,2% à 3,3% des points pourraient être sensiblement différents à la fois qualitativement et quantitativement entre les génotypes de la Ta et 4% à 5,4% entre les génotypes du vaccin Td. La plupart des protéines différences eu lieu dans la protéine de stockage importante (globulines). Dans notre étude, la globuline protéine de stockage se trouve dans toutes les espèces. Cette approche nous a permis d'identifier et caractérisé trois globulines (Glo-3, Glo-3B et 3C-Glo) de la CA dans le grain de blé mûr. Glob-3 a été présent dans toutes les espèces de blé étudiées; Glo-3B (HMW et LMW) chez toutes les espèces, tandis que Glo-3C de petits MW (38 kDa), a été exprimé uniquement dans AL de TAC et de TDM. La différence de pI et MW suggèrent que ces globulines ont subi des modifications post-traductionnelles. La moitié des globulines ont montré une diminution significative de la globuline intensité des TAC par rapport à la TDM et un tiers des globulines dans TdM diminué lorsque nous avons comparé à la TSA.

Références bibliographiques

Antoine C, Lullien-Pellerin V, Abecassis J, Rouau X : Intérêt nutritionnel de la couche à aleurone du grain de blé. *Sciences des aliments2002,* 22, 545–556.

Antoine et al., 2003 C. Antoine, S. Peyron, F. Mabille, C. Lapierre, B. Bouchet, J. Abecassis and X. Rouau, Individual contribution of grain outer layers and their cell wall structure to the mechanical properties of wheat bran, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (2003), pp. 2026–2033.

Antoine et al., 2004 C. Antoine, S. Peyron, V. Lullien-Pellerin, J. Abecassis and X. Rouau, Wheat bran tissue fractionation using biochemical markers, *Journal of Cereal Science* 39 (2004), pp. 387–393.

Barron, C., Surget, A., Rouau, X., 2007. Relative amounts of tissues in mature wheat (*Triticum aestivum* L.) grain and their carbohydrate and phenolic acid composition. *Journal Cereal Science* 45, 88–96

Betschart, A.E., 1988. Nutritional quality of wheat and wheat foods. In: Pomeranz, Y., Editor, 1988. *Wheat: Chemistry and Technology*, American Association of Cereal Chemists, St Paul, MN, pp. 91–130

Jerkovic,A., Kriegel, A.M., Bradner, J.R.., Atwell, B.J., Roberts, T.H., Willows, R.D., 2010. Strategic Distribution of Protective Proteins within Bran Layers of Wheat protects the Nutrient-Rich Endosperm. *Plant Physiology* 152, 1459-1470.

Loit, E., Melnyk, C.W., MacFarlane, A.J., Scott, F.W., Altosaar, I., 2009. Identification of three wheat globulin genes by screening a *Triticum aestivum* BAC genomic library with cDNA from a diabetes-associated globulin. *BMC Plant Biology* 9-93. DOI:10.1186/1471-2229-9-93.

Lopez-Bellido, L.; Fuentes, M.; Castillo, J. E.; López-Garrido, F. J. Effects of tillage, crop rotation and nitrogen fertilization on wheat-grain quality grown under rainfed Mediterranean conditions Field Crop Res. 1998 57 265 276

McMasters, M.M., Hinton, J.J.C., Bradbury, D, 1971. Microscopic structure and composition of the wheat kernel. In: Wheat: Chemistry and Technology, second ed. St Paul, MN. pp. 51–113.

Nadaud, I., Girousse, G., Debiton, C., Chambon, C., Bouzidi, M.F., Martre, P., Branlard, G., 2010. Proteomic and morphological analysis of early stages of wheat grain development. *Proteomics* DOI: 10.1002/pmic.200900792.

O'Farrell PH. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J Biol Chem* 1975 ; 250 : 4007-21.

Rabilloud T, Proteomics. 2002 Jan;2(1):3-10.Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: old, old fashioned, but it still climbs up the mountains.

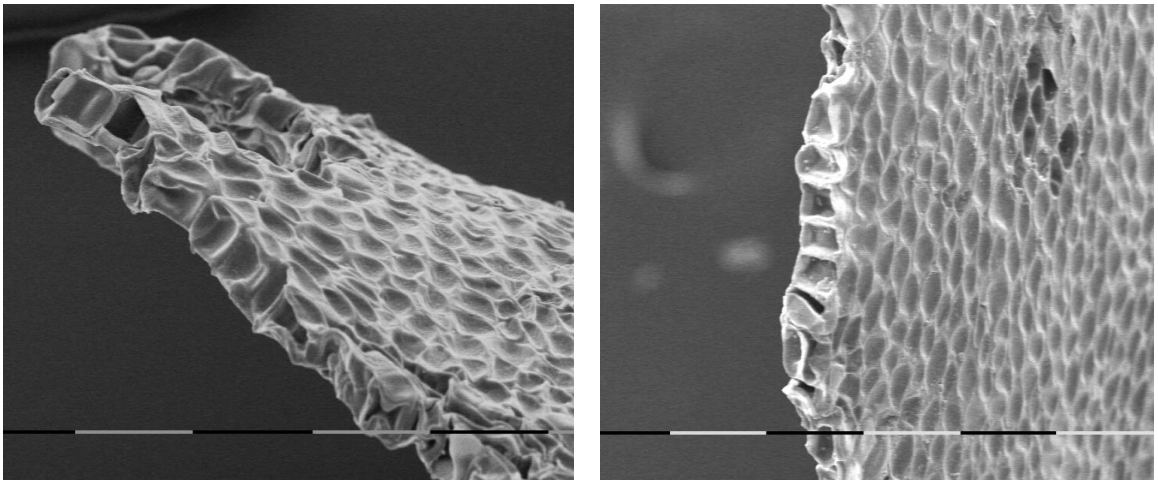
Rabilloud, T (ed), 2000. Proteome research: two-dimensional gel electrophoresis and identification methods. Springer, Berlin, 109–111.

Surget and C. Barron, Histologie du grain de blé, *Industrie des Céréales* 145 (2005), pp. 3-7.

Youna Hemery, Xavier Rouau, Vale´ rie Lullien-Pellerin, Ce´ cile Barron, Joe¨ l Abecassis. Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality Journal of Cereal Science 46 (2007) 327–347.

Tableau 1: Les différentes espèces et variétés cultivées en France

Année de culture **Espèce**	**2007**
Hexaploïde (6X)	*Chinese Spring* *Courtot* *Apache*
Tétraploïde (4X)	*Mexicali* *Joyau* *Bidi 17*



CA de Chinese Spring (6X)

(15 Kv x 221, échelle = 0.1 mm)

CA de Mexicali (4X)

(15 Kv x 221, échelle = 0.1 mm).

Figure 1: Vue au microscope électronique à balayage de la couche à aleurone chez le blé tendre (Chinese Spring), le blé dur (Mexicali). (Tension 15 KV, grossissement 221, échelle=100 microns)

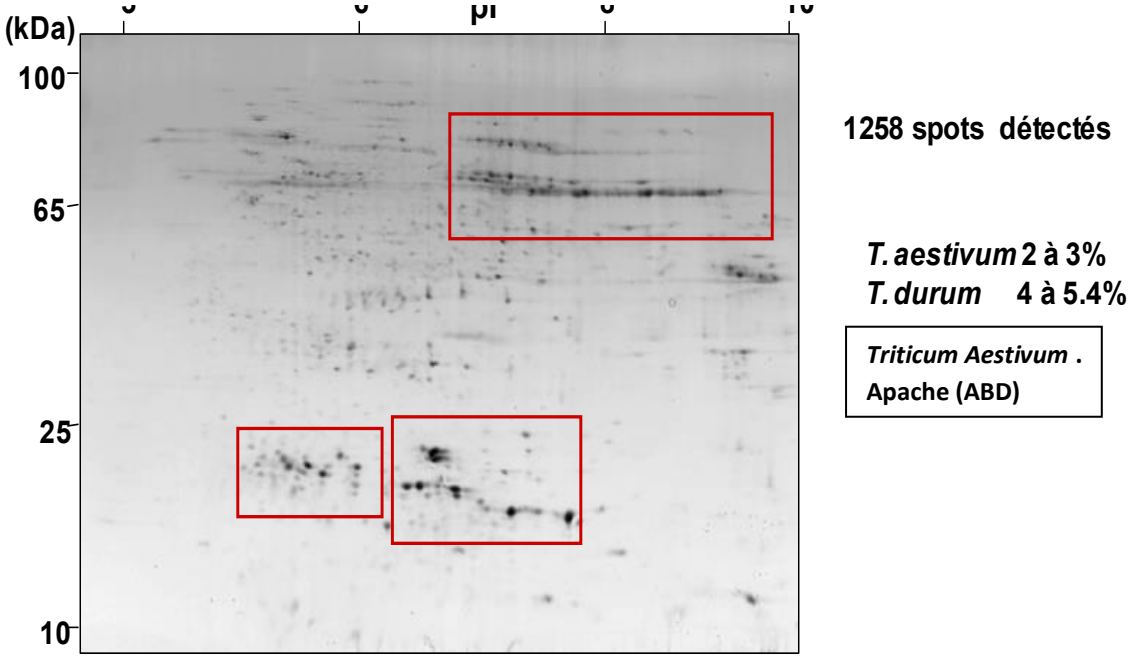


Figure 2 : Image d'un gel immobilisé pH3-10x SD-PAGE des protéines extraites de la CA de génotype Apache (TaA). les spots entourés numérotés sont significativement différents.

Contribution à l'étude de la qualité des produits à base de viande vendus dans le commerce par technique histologique

ZOUAOUI Khadidja[1], DAHMANE-ZOUAMBI Amina[2], HALBOUCHE Miloud[3], HOMRANI Abdelkader[1]

[1]Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie
[3]Laboratoire de Physiologie Animale Appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie.
[2]Ecole nationale supérieur vétérinaire d'Alger
khzouaoui93@gmail.com

Résumé

Ce travail était mené pendant la période 2015-2016 au niveau du laboratoire d'histologie de l'ENSV d'Alger sur des produits à bases de viande commercialisés: merguez ; saucisson à viande de bœuf; cachir ; pâté fromage. En cinq étapes suivies d'une analyse statistique, nous avons pu avoir une idée qualitative et quantitative sur les échantillons soumis à l'analyse d'où une grande importance de l'introduction de cette méthode dans les différents programmes de contrôle de qualité des produits agroalimentaires pour protéger la santé du consommateur Algérien. L'histologie alimentaire contrôle la qualité de la viande utilisée (fraiche, congelée….) identifie si l'industriel respecte les cahiers des charges lors de la fabrication. Cette analyse aide aussi l'industriel lors du réglage de ces machines et l'optimisation de ces recettes.

Mots clés: *histologie, produit carné, ingrédients, viande, contrôle, analyse.*

1. Introduction

Dans notre quotidien, la viande garde une place privilégiée dans notre alimentation car elle reste une source non négligeable de protéines et de fer. La viande (bovine ; ovine ; volaille ; poissons..) ainsi que les produits préparés à partir de cette base (charcuterie), constituent une partie non négligeable de notre alimentation quotidienne.

Connaitre la composition de ces aliments permet de protéger la santé du consommateur des produits avariés, et d'éviter les fraudes lié au non-respect des règles de fabrication (nature des ingrédients ...). Selon le Codex Alimentarius ; La viande est toutes les parties comestibles de tout animal d'abattoir abattu dans un abattoir et compris les abats comestibles.

Le terme «charcuterie» désignait à l'origine un produit à base de viande et d'abats d'origine animal. Anonyme 1

C'est chez les indo-germaniques, qu'on trouve les prémices de la charcuterie; ils utilisaient les estomacs et les viscères des animaux qu'ils remplissaient de petits morceaux de viande finement hachée, ainsi que du sang et de la graisse. (JUILLARD et *al* .,2004)

2. Matériel et methodes

2.1. Echantillonnage

Les échantillons sont des produits commercialisés à bases de viande : merguez ; saucisson à viande de bœuf; cachir ; pâté fromage.

D'autres prélèvements ont été réalisé dans le but d'enrichir la base de donnée déjà présente dans la collection du laboratoire d'histologie de ENSV d'Alger; il s'agit des ingrédients qui rentrent dans la composition de ces produits par exemples : fromages à tartiné ; pro-fromage; olives ; sauce béchamel ; pomme de terre ; betterave ; carotte.

Les prélèvements effectués ont été réalisé à partir d'un échantillonnage aléatoire fait au niveau des points de vente.

Matériels utilisés: Béchers ; lame à bistouri; pince; pipette ; porte lame ; lames et lamelles, étiquettes et un crayon ; chronomètre ; distributeur de paraffine ; cassettes ; microtome ; bain marie ; platine chauffante; microscope photonique.

Produits utilisés : Alcool à 50°, 70°, 90°, 95°, 100°; toluène; xylène ; hématine ; éosine ; résine ; eau physiologique. paraffine.Un produit d'origine carnée n'est rien d'autre qu'un ensemble de tissu biologique (animal et végétal) transformé et conditionné. Sur cette base nous pouvant utiliser les techniques histologiques appropriées selon l'échantillon prélevé. La préparation des lames comporte 5 étapes :

-Fixation

-Déshydratation

-Eclaircissement

-Infiltration/Imprégnation

-Inclusion ou enrobage

Les étapes sont suivies de manières rigoureuses, en se basant essentiellement sur une technique d'image en utilisant un microscope « *Leica* DM1000 » muni d'un appareil photo « camera optika 4083 B5 ».

Après la capture, le traitement des images se fait grâce au logiciel de traitement d'image et de morphométrie « Image J-référence IJ145-jdk6 » .Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel « SPSS21 **»**.

4. Résultat et discussion

Cachir « B »

Le choix de ce cachir, a été fait par rapport à l'engouement du consommateur pour ce produit. Il semble être dicté par le prix attrayant, qui est à la portée des petites bourses.

L'identification des ingrédients présents lors de l'observation au microscope photonique au grossissement (Gx4 ; Gx40); nous a permis d'énumérer les éléments suivants : tissu musculaire, pomme de terre, hydro colloïde, tissu adipeux, tissu conjonctif, végétaux.

Cette Liste n'est nullement en désaccord avec la législation, même si il y'a présence d'un parenchyme pulmonaire et d'un fragment de cartilage et quelques vaisseaux sanguins ; ces derniers figurent parmi les éléments tolérés.

Cependant, l'étude quantitatif révèle que la viande n'est observée que sur 3 images sous l'aspect de muscle striée squelettique et impacté de la mention « rare » ; alors qu'il doit être l'ingrédient principale.

La moyenne des surfaces occupées par la viande est de 3.83% et elle ne dépasse gère les 9.09% dans les champs les plus chargé par cet ingrédient et avec un minimum de 0.83%. Pour vérifier l'exactitude de la dispersion de la viande dans l'ensemble des prélèvements effectués sur le cachir « B», nous avons procédé à un test ANOVA qui révèle l'homogénéité de dispersion de celle-ci.

A noter que nous avons veillé à ce que l'échantillonnage soit aléatoire et rigoureux sur l'ensemble de notre étude. Les résultats obtenus montrent que la présence de viande était sensiblement la même avec un $P<0.05$.Même lorsque le test nous donne une dispersion non homogène la quantité de viande reste en deçà de ce qu'elle doit être en réalité. Ce constat nous a laissé penser à l'utilisation des flaveurs artificielles pour simuler le goût d'une viande.

Nous avons été surpris par la présence de figure correspondant à l'aspect histologique de la pomme de terre qui ne figurait pas sur l'étiquetage. Dans l'analyse quantitative, elle a pris la mention « très nombreux ». Elle remplace très probablement le soja ; car le prix de revient du cachir serait plus important si le fabriquant utilise ce dernier ingrédient. Le pourcentage occupé par la pomme de terre, sur les préparations était en moyenne de 80.79% ; non seulement ce produit ne devait nullement être présent mais en plus il constitue l'ingrédient prépondérant.

Ce qui conforte nos dires, ce sont les tests statistiques avec une distribution identique sur tout le produit et un P-value hautement significatif égale à 0.001.

Dans cette analyse ; l'image des hydro-colloïdes présentent en moyenne 9 images sur le même champ de lame avec la mention « très nombreux ». L'hydro colloïde représente l'aspect histologique des agents épaississants ou compactants à titre d'exemple: les farines de maïs. Les tests statistiques, effectués sur cet ingrédient, montrent qu'il occupe une surface moyenne de l'ordre de 15.39%.

Le tissu adipeux est un produit qui doit être présent car il confère à la préparation un goût et une texture recherchée par le consommateur sans pour autant dépasser une certaine mesure. Cependant notre analyse morpho métrique ne montre que deux images qui restent très négligeable du point de vue surface occupée. A noter que le tissu adipeux est très souvent attaché au tissu musculaire.

Les végétaux qui devaient être représenté par des images d'épices et de betterave non pas étaient détectés à l'exception d'une seule image d'un végétal représentant la couche externe d'une épice non identifiée.

La betterave en industrie agroalimentaire ; est utilisée en tant que colorant naturel. L'aspect externe du cachir « B » fessait penser à son utilisation en tant que tel ; d'autant plus que sur l'emballage elle a était reporté. Cependant aucune des observations histologiques n'a permis de l'identifier. Ceci laisse penser que le fabriquant a utilisé du colorant synthétique; Ex (rouge allura AC-25mg/kg).

L'oignon a été cité sur l'étiquetage mais aucune image n'a permis de l'identifier ce qui laisse penser aussi, que le fabriquant l'a substitué par des flaveurs d'oignon. Ce comportement est fréquent chez les industrielles lorsque le cout d'un ingrédient devient élevé sur le marché.

L'histologie indique l'existence d'un parenchyme pulmonaire et d'un fragment de cartilage. Bien qu'il soit toléré par la réglementation, sa présence est un indicateur d'une absence de rigueur dans le tri et le nettoyage des carcasses. Autre observation non des moindre, révèlent que la viande utilisée était congelée.

Les limites des techniques histologiques, ne nous ont pas permis de voir les images d'olives, car c'est un produit oléagineux, qui se dissout dans les alcools.

D'autres ingrédients présents sur l'étiquetage tel que : l'huile végétale, sels; extrait d'arômes, ainsi que les additifs alimentaires : stabilisants ; antioxydants ; sont non identifiables par cette méthode car ils se dissolvent soit dans le gras, l'alcool ou l'eau.

Cachir « C »

La sélection du cachir « C » ; tient compte de deux aspects le premier étant son cout faible par rapport au cachir « B » et le second c'est que le consommateur le considère moins bon aussi bien du point de vue goût que texture.

La procédure de détermination des ingrédients reste toujours la même. Les observations au microscope photonique se font au grossissement (Gx4 ; Gx40); laisse apparaitre les ingrédients suivants : tissu musculaire, pomme de terre, hydro colloïde, tissu adipeux, tissu conjonctif.

D'autres ingrédients présents sur l'étiquetage tel que : l'huile végétale, sels; extrait d'arômes, ainsi que les additifs alimentaires : stabilisant ; antioxydants; sont non identifiable par cette méthode car ils se dissolvent soit dans le gras, l'alcool ou l'eau.

Sur l'étiquetage la liste des ingrédients est conforme à la réglementation en vigueur. L'étude quantitative révèle que la viande est présente sous forme de plusieurs images de muscle striée squelettique largement fragmenté et impacté de la mention présent mais en petite quantité : « rare » bien qu'il soit l'ingrédient principale.

La surface occupée par la viande était en moyenne de 7.12% ne dépasse gère 8.66 % dans les champs les plus chargés en viande. Sur certaines parties les images de muscle strié squelettique étaient absentes. Pour vérifier l'exactitude de la dispersion de la viande dans l'ensemble des prélèvements effectués sur le cachir « C », nous avons procédé à un test ANOVA qui permet de vérifier l'homogénéité de l'éparpillement de la viande. A noter que nous avons toujours veillé à ce que l'échantillonnage soit aléatoire et rigoureux sur l'ensemble de nos prélèvements. Les résultats obtenus montrent que la présence de viande était sensiblement la même avec un $P<0.05$. Même lorsque le test nous donne une dispersion non homogène, la quantité de viande reste nettement très faible.

Il semble que le goût de la viande est procuré par des flaveurs artificielles dans ce cas aussi.

Nous avons remarqué la présence d'un tendon et d'une grosse artère élastique ; ces deux éléments sont tolérés et ne constituent point une fraude.

Sur ce produit aussi, la pomme de terre, lors de notre analyse quantitative, a pris la mention « très nombreux ». Elle a remplacé très probablement le soja ; pour les mêmes raisons que le premier fabriquant, c'est une question de rentabilité du produit fini.

Le pourcentage occupé par la pomme de terre, sur les préparations était en moyenne de 69.04% ; non seulement ce produit ne devait nullement être présent mais en plus il constitue l'ingrédient principal. Ce qui conforte nos dires ce sont les tests statistiques avec une distribution identique sur tout le produit et un P-value hautement significatif égale à 0.001.

L' hydro-colloïde présent en moyenne 4 images sur le même champ de lame; nous l'avons affecté de la mention « nombreux ». Statistiquement, cet ingrédient est présent sur une surface moyenne de l'ordre de 23.84% avec un minimum de 10.46% et un maximum de 35.49%; ces chiffres restent très élevés puisque ces éléments devraient être des agents liants. Nous pensons que c'est cette quantité d'hydro colloïde qui lui donne cette texture que le client n'apprécie pas.

Le tissu adipeux n'était observé que rarement ; nous lui avons attribué la mention « très rare » d'où l'impossibilité d'une estimation statistique fiable.

Pâté fromage

Les pâtés à base de fromage sont considérés par le consommateur comme étant un produit qui facilite son quotidien, il trouve en lui deux produits en un seul (du fromage et du pâté); tout en ayant un prix attractif.

Les ingrédients énumérés lors de l'observation histologique nous a permis d'identifier : tissu musculaire ; pomme de terre, tissu adipeux, hydro colloïde, végétaux, tissu conjonctif, tissu osseux.

Cette Liste n'est nullement en désaccord avec la législation, même si il y'a présence d'un spicule osseux; ce dernier figure sur la liste des éléments tolérés.

Sur l'ensemble des lames la viande était « très rare », nous avons distingué en moyenne que deux images. La moyenne des surfaces occupées par la viande est de 0.99% et elle ne dépasse gère les 1.29 % dans les champs les plus chargés en viande et avec un minimum de 0.67%. Les résultats aussi bien de l'étude quantitative que qualitative nous ont incité à réaliser une analyse statistique afin de déterminer si ces résultats n'étaient pas le fruit d'un hasard. Il s'est révélé après le test ANOVA que le p-value était toujours supérieur à 0.05. Effectivement il existe une différence de concentration de viande d'un point de prélèvement à l'autre. Sur certains il n'existait aucune image de viande, alors que sur d'autre les images bien que nombreuses elles occupent des espaces très restreins (1.29% de la surface totale observée).Nous arrivons ici aussi à la même conclusion, le goût de la viande est celui des flaveurs artificielles.

91.58% ± 3.716 des surfaces observées étaient de la pomme de terre; notre premier constat c'est que non seulement cet ingrédient n'était pas sur l'emballage mais en plus il compose la quasi-totalité du produit ; avec un IC compris entre [87.86%- 95.29%].

Le test statistique montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les quantités, puisque le P- value hautement significatif est égal à 0.001.

Dix images d'hydro-colloïde sont présentes au moyenne sur un même champ, ce résultat qui qualitativement a reçu le label de « nombreux » reste tout de même contré entre les valeurs suivantes: une moyenne de 7.43% avec un intervalle de confiance compris entre [0.79%-14.37%].

Comme les deux cas précédents, Le tissu adipeux occupe une surface négligeable qui échappe au logiciel de calcule des surfaces, ce qui nous a obligé à lui donner la mention « rare ».

De la même façon les images d'épices, d'oignon et de betterave non pas étaient détectées à l'exception d'une seule image d'un végétal non identifié.

Effectivement, conformément à l'étiquetage le fromage utilisé était une préparation à base de fromage puisque les images observées étaient en adéquation avec les figures témoins de notre banque des données. La texture de ce pro fromage est semi soluble dans les liquides. C'est ce qui n'a pas permis de faire une plus grande investigation pour les identifier

Merguez

Les merguez et saucissons sont des produits typiquement méditerranéens. Actuellement leur préparation se fait en industrie et dans le commerce artisanal. C'est dans ce contexte que nous avons fait notre choix à savoir un produit vendu par un artisan et un autre se vendant dans les grandes surfaces.

Nous avons pris deux échantillons chez deux commerçants différents, afin d'avoir une meilleure visibilité des pratiques courantes dans la fabrication des merguez.

Pour le premier échantillon dénommer merguez «A», la viande qui est l'ingrédient principale occupe une surface de 59.66%± 21.88% et dans le merguez «B» elle occupe un espace de 74.18%± 11.56%.

Aussi bien l'échantillon «A» que «B» la distribution de la viande a été faite d'une manière homogène au sein du même produit avec un p-value hautement significatif égale à 0.001.

Nous avons également comparé la moyenne de la distribution de viande entre les deux produits; la comparaison par le test ANOVA révèle qu'il n'existe aucune différence entre les quantités de viande.

De la même façon nous avons comparé la quantité de tissu adipeux contenu dans l'échantillon «A» et «B». Dans le «A» elle occupe 4.78% ± 3.34% avec un IC égale à [1.44%-8.12%] ; alors que dans le «B» elle est de 11.25%± 9.30% avec un IC égale à [1.95-20.55%]. Dans un même échantillon ou lorsque en comparant les deux échantillons entre eux (test de Student pour une comparaison entre les points de prélèvement et le test d' « ANOVA » pour comparer les produits entre eux) la surface occupée par le gras est significativement différente avec un p-value égale à 0.046.

Les végétaux présents dans les deux échantillons «A» et «B» révèlent successivement les moyennes suivantes : 1.69%±0.7% et 3.62%±4.52%, le test statistique au sein du même produit donne ces résultats : le premier produit ; le fabriquant a respecté les mesures de dispersion et le p-value été hautement significatif, contrairement au produit «B» où le p-value égale à 0.209 ce qui explique la non répartition homogène.

Pour avoir des résultats plus précis, nous avons comparé les deux produits. Les résultats obtenus sont un p-value égale à 0.025 indiquant qu'il n'existe pas de différence entre les surfaces occupées par le végétal.

De la même maniéré nous avons fait l'analyse histologique sur les même échantillons «A» et «B», afin d'étudier la quantité du tissu fibreux (tissu conjonctif) et sa répartition. Les résultats pour le merguez «A» :5.64 % ± 4.54% avec un IC compris entre [1.1%-10.18%],et pour le Merguez «B» :

7.57% ±5.65%. La distribution du conjonctif est hautement significatif pour les deux produits «A» et «B» avec un p-value respectif de 0.003 et de 0.012, ce qui explique l'homogénéité dans la distribution.

Tous ces résultats nous ont permis de conclure que le produit «A» a été préparé d'une manière plus minutieuse puisque la viande utilisée est de bonne qualité avec un bon malaxage de tous les ingrédients (végétaux, tissu adipeux , tissu fibreux…) , contrairement au produit «B» où le fabriquant a non seulement négligé la procédure de préparation pour la majorité des ingrédients, mais en plus il a utilisé une viande issu d'un animal âgé ; traduite par la présence d'une grande quantité de collagène. Avec une viande congelée ayant un aspect de fibres musculaires éclatées par les cristaux qui s'accumulent dans le sarcoplasme.

5. Conclusion

L'analyse histologique des produits préparés est une méthode d'étude agroalimentaire, elle représente le seul moyen ; qui permet le contrôle des aliments à base de viande par une observation directe des lames au microscope optique même à faible grossissement. Elle a la capacité de mettre en évidence les tissus d'origine animale puisqu'il s'agit de tissu musculaire (striée squelettique, cardiaque, ou musculaire lisse), de tissus conjonctif, de tissus adipeux… etc. Egalement permet de reconnaître les structures végétales (soja, riz, blé mais, épices…). Elle peut même identifier les produits non tolérés, des produits interdits et aller jusqu'à détecter les intrusions de fragments infime de métal, de verre et autres agents étrangers dans la mesure des limites de la technique histologique.

Signalons aussi que cette méthode possède des limites; elle ne permet pas :

- D'identifier les composants solubles dans l'eau ou les graisses.

- D'identifier les ingrédients les plus fragiles ayant subi des traitements technologiques extrêmes.

Ce constat ne signifie nullement un handicap, mais seulement une limite, qui peut être surmonté par la mise en place d'une complémentarité avec le laboratoire de biochimie alimentaire.

Cependant, le laboratoire d'histologie alimentaire nous a permis de constater l'importance de cette méthode qui doit être développée dans l'avenir et normalisée comme c'est le cas en France grâce aux services qu'offrent le laboratoire histalim ; et un laboratoire du même type en Islande.

6. Références bibliographiques

Anonyme 1, Gouvernement du Québec ; ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation ; direction générale de la qualité des aliments et de la sante animale. Alimentation les charcuteries Page 1.

Juillard A ., Claude J ., Fentz ., 2004 : l'encyclopédie de la charcuterie.

Histalim ., 2008 : DA-R5-04 révision 3,fiche technique d'analyse histologique de Composition.

Changements induits par la salinité dans les paramètres anatomiques de *Phaseolus vulgaris* L. au stade plantule

Tahri M[1], Arbaoui M[2]., Chadli R[3].

[1] Laboratoiire de d'Agronomie, Département d'Agronomie, Faculté SNV, Université de Mostaganem
[2] Département de Biologie, Faculté SNV, Université de Mostaganem
[3] Département de Biologie, Faculté SNV, Université de Mostaganem

Résumé

Nous recherchons l'influence de quatre doses de NaCl+$CaCl_2$ (0, 50, 100 et 200 meq.l^{-1}) sur l'anatomie des tiges et des racines de jeunes plantules d'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivées dans trois types de sable de granulométrie différente, appartenant à trois stations différentes dans la wilaya de Mostaganem (Ben Abdel Malek Ramdane, Sidi Lakhdar et Achaacha), le substrat de culture est obtenu avec 93% de sable et 7% de bentonite. Après exposition des plantules au stade 4-5 feuilles au stress salin, l'anatomie des tiges et racines est très variable selon le type de sol utilisé (présence ou absence de la bentonite). Ainsi, le sol mélangé à la bentonite donne de bons résultats par rapport à un sol non bentonisé. Les plantules issues des trois stations montrent une grande adaptabilité vis-à-vis de la salinité. L'effet dépressif de NaCl sur les plantules s'est traduit par des modifications anatomiques (une réduction du nombre des vaisseaux et un épaississement des parois cellulaires et la racine présente de gros vaisseaux comparativement à la tige) selon le type de substrat de culture utilisé. La réaction de la plante peut s'expliquer comme un mode d'adaptation à la salinité, car, il s'agit d'une tolérance progressive à la salinité, qui s'est traduite par des changements dans les paramètres anatomiques pris en considération.

Mots-clés : Anatomie, Bentonite, Salinité, *Phaseolus vulgaris* L.

I. Introduction

Le taux élevé de sel dans les sols ou les eaux d'irrigation est une préoccupation environnementale majeure et un problème sérieux pour l'agriculture dans les régions arides et semi-arides. Par ailleurs, l'excès de sel dans le sol affecte la germination, la croissance, la floraison et la fructification à des degrés variables (Delgado *et al*., 1994 ; Cordovilla *et al*., 1995).

Les plantes répondent aux contraintes de l'environnement par de nombreux changements, révèlent le caractère multifactoriel des mécanismes de tolérance et d'adaptation aux stress abiotiques. Les plantes réagissent en mettant en œuvre des mécanismes physiologiques (Parida et DAS, 2005) et biochimiques (Brugnoli et Lauteri, 1991) impliquant une activité enzymatique (Chaffei *et al*., 2004). Ainsi, par la synthèse de composés organiques ayant un rôle d'osmoprotecteurs ou de régulateurs osmotiques.

Des modifications morphologiques et anatomiques au niveau de la plante sont capables de minimiser les effets indésirables du stress salin (Poljakoff-Mayber, 1988).

En effet, pour atténuer l'effet de la toxicité dans les milieux hautement concentrés, les plantes, aussi bien les halophytes que les glycophytes, développent plusieurs mécanismes pour assurer leur cycle de croissance et de développement. Certaines espèces utilisent le mécanisme d'exclusion des sels en excès (Zid et Grignon, 1991 ; Alem et Amri, 2005) ou les compartimentations vacuolaires dans la vacuole.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet de la salinité sur la plante de *Phaseolus vulgaris* L. cultivée dans deux substrats différents avec ou sans bentonite stressée avec quatre concentrations de sels ($NaCl+CaCl_2$). Cependant, une étude anatomique des tiges et des racines sous microscope optique est adoptée.

II. Matériels et Méthodes

2.1. Étude anatomique des tiges et des racines

Après chaque traitement, les plantules sont déterrées et débarrassées du substrat par un rinçage à l'eau distillée. Les organes (tiges et racines) sont soigneusement séparés au moyen d'une lame de rasoir puis sectionnés en pièces de 1 à 2 cm de long. Seuls les échantillons des parties médianes sont pris en considération. Des coupes transversales sont effectuées à « mains levée » sur des tiges et des racines au moyen d'une lame de rasoir. Des coupes fines d'une épaisseur moyennant les 20 µm d'épaisseur sont colorées par la technique de double coloration (vert de méthyle/rouge Congo). Les coupes sont d'abord traitées à l'hypochlorite de sodium à 8% pendant 15 mn. Après un rinçage soigneux à l'eau distillée, elles sont mordancées par l'acide acétique à 70% dilué, pendant 2 mn, puis colorées au vert de méthyle à 1% pendant 5 mn ; ce dernier colore en vert les parois lignifiées. Les pièces sont ensuite lavées à l'eau distillée et colorées au rouge Congo à 2% pendant 15 mn. Ce colorant met en évidence la cellulose qui apparait en rose ou en rouge.

Technique de la double coloration.

Les coupes sont ensuite lavées à l'eau distillée et montées dans une goutte d'eau entre lame et lamelle avant d'être observées d'abord au microscope ordinaire, ensuite sur un autre microscope menu d'un dispositif permettant une bonne prise de vue et la prise de photos. Les coupes sont conservées soit dans des piluliers contenant de l'eau distillée soit dans une goutte de baume de Canada placée entre lame et lamelle. Une fois les coupes colorées, elles sont observées par un microscope de type Optica menu d'appareillage de haute définition en prise de photo microscopique ; d'une photo tube ayant servi pour la prise des micrographies.

III. Résultats

3.1. Réponse anatomique des racines et des tiges de *Phaseolus vulgaris* L. stressées à la salinité

L'interprétation des résultats est basée sur deux traitements, le premier concerne les photos de l'anatomie des tiges et des racines de la tomate cultivée dans le substrat sans bentonite, le deuxième concerne des histogrammes issus des données statistiques des tiges et des racines de la tomate cultivée dans un substrat avec bentonite.

Xylème racinaire

Les résultats obtenus montrent l'influence de la salinité sur la variation du diamètre des vaisseaux du xylème racinaire. Après 21ème jour de croissance, les racines de la variété de tomate cultivée dans les trois stations (BMR, SLK et ACH) affichent respectivement un diamètre du xylème chez le témoin de (27.15, 23.01 et 26.31 µm), sous l'influence de 50 meq de NaCl+CaCl2 de (17.65, 19.15 et 20.83 µm), sous 100 meq de (13.42, 9.68 et 19.08 µm) et enfin, sous 200 meq (8.83, 7.38 et 16.37 µm) (Tableau 1).

Les valeurs affichées par les trois stations montrent l'influence de la salinité sur le diamètre du xylème des racines de la tomate (Tableau 1). Aussi, nous constatons que les plantes cultivées dans la station SLK ont souffert par rapport à la station BMR qui occupe la deuxième place, cependant, la station ACH a donné des diamètres du xylème plus important que les autres stations.

Tableau 1. Test de signification de Fisher (P = 5%) du **diamètre** (µm) des vaisseaux du **xylème racinaire** au cours du développement des plantes de l'haricot sous le stress au NaCl + $CaCl_2$ sans bentonite pendant 21 jours.

Stations	**Témoin**	**50 meq.l^{-1}**	**100 meq.l^{-1}**	**200 meq.l^{-1}**	**M + σ**
BMR	27.15±1.47	17.65±3.45	13.42±5.70	08.83±2.33	16.76±3.98
SLK	23.01±2.11	19.15±1.05	09.58±1.88	07.38±1.67	14.78±1.67
ACH	26.31±2.16	20.83±2.34	19.08±2.67	16.37±2.75	20.64±2.48

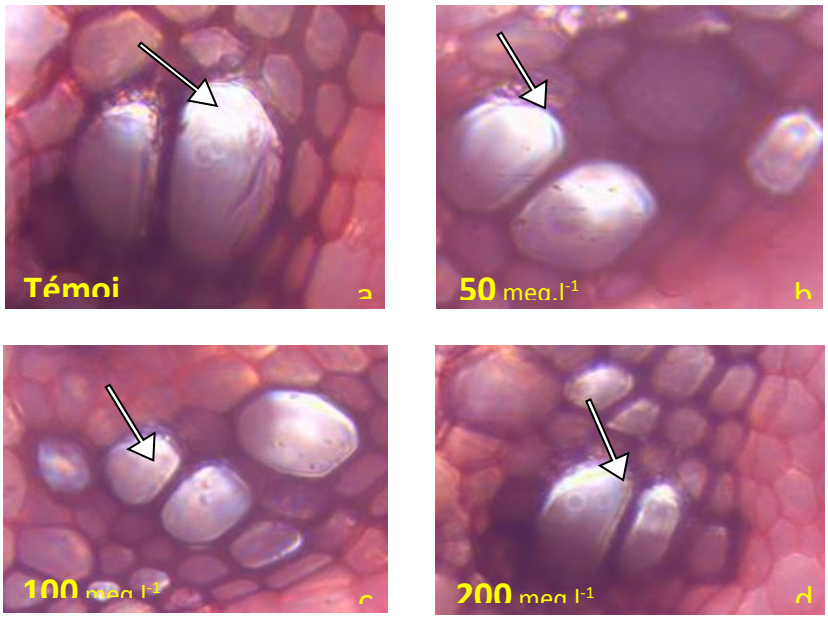


Fig. 1. Anatomie des racines de *Phaseolus vulgaris* L. agées de 21 jours (Station BMR). Les flèches indiquent les vaisseaux du xylème (X40).

Après deux semaines de stress, sous hautes concentrations (100 et 200 meq.l^{-1} de NaCl + $CaCl_2$), les plantes présentent un diamètre très réduit comparativement aux plantes témoins. Aussi, il enregistre une nette régression, ce diamètre continue à se rétrécir considérablement (Fig. 1d) par rapport au xylème observé chez le temoin (Fig. 1a).

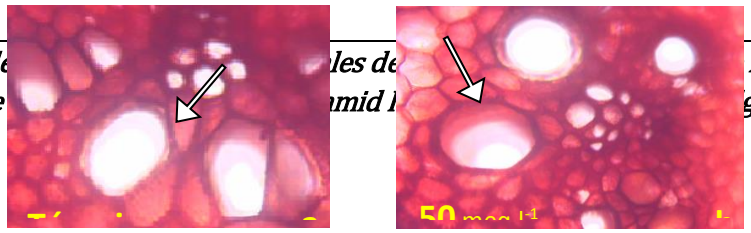


Fig. 2. Anatomie des racines des (*Phaseolus vulgaris* L.*)*. Âgée de 21 jours (Station SLK). Les flèches indiquent les vaisseaux du xylème (X40).

Les observations des coupes anatomiques des racines des plantules issues de la station SLK enregistrent des valeurs fluctuantes selon la concentration de sels utilisée (Fig. 2), ainsi, sous l'influence de 50 meq.l^{-1} de NaCl + $CaCl_2$ est moins affectée que celui du témoin, en revanche, sous 100 et 200 meq.l^{-1} de NaCl + $CaCl_2$, il est significativement différent comparé au témoin. Nous observons aussi, une lignification des cellules parenchymateuses et une réduction du nombre des éléments du xylème (Fig. 2). En effet, si la capacité d'adaptation au stress de 50 et 100 meq.l^{-1} NaCl + $CaCl_2$ reste très proches respectivement 20.83 et 19.08 µm, au contraire celles traitées à 200 meq.l^{-1} de NaCl + $CaCl_2$ est significativement différentes des témoins (16.37 contre 26.31 µm) (tableau 1).La nature du sol d'ACH semble assurée aux plantules une certaine résistance puisque les résultats obtenus affichent des diamètres nettement supérieurs que ceux obtenus avec le sol de SLK et BMR (tableau 1).

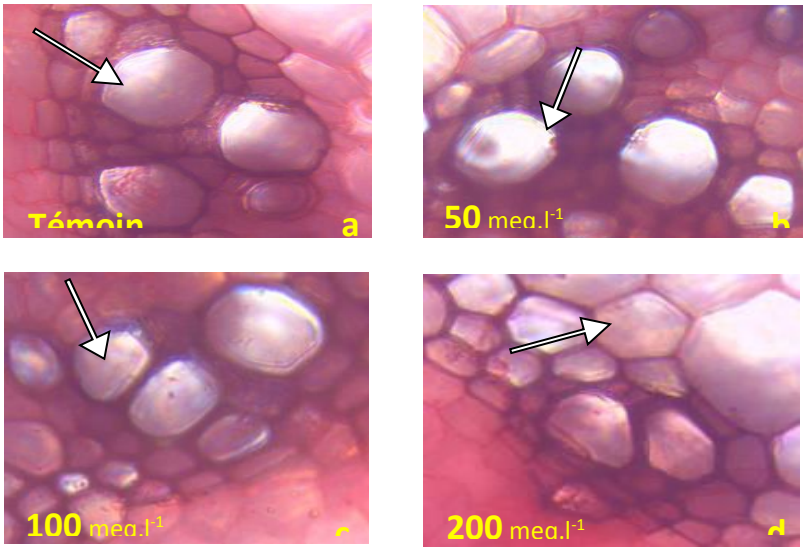


Fig. 3. Anatomie des racines de *Phaseolus vulgaris* L. âgées de 21 jours (Station ACH). Les flèches indiquent les vaisseaux du xylème (X40).

Chez les plantules de la station ACH, le diamètre des vaisseaux des plantules traitées au NaCl+$CaCl_2$ varie selon les concentrations (Fig. 3). Avec l'augmentation de la salinité, les différentes photos montrent qu'il y a une diminution du nombre des cellules par faisceaux. De plus, nous notons qu'il y a une absence ou tout au moins un retard dans la mise en place des tissus vasculaires secondaires. La salinité modifie la structure anatomique de la racine et conduit à une diminution du nombre des cellules par faisceau du xylème et du nombre d'assises du parenchyme cortical.

Réponse du xylème caulinaire

Le tableau 2 enregistre des valeurs du diamètre des vaisseaux du xylème caulinaire de la tomate, ainsi, les tiges issues des plantes de tomate cultivée dans les trois stations (BMR, SLK et ACH) affichent respectivement un diamètre qui varie de 20.95, 23.11 à 22.07 µm chez le témoin, entre 18.5, 20.93 et 19.87 µm sous l'influence de 50 meq, de (13.53, 16.47 et 18.27 µm à 100 meq et enfin, entre 8.87, 10.11 et 14.47 µm sous 200 meq de NaCl+$CaCl_2$. Ces chiffres affichés par les trois stations montrent l'influence de la salinité sur le diamètre du xylème des racines de la tomate. Nous constatons que les plantes cultivées dans la station SLK ont souffert par rapport à la station BMR qui occupe la deuxième place, cependant, la station ACH a donné des diamètres du xylème plus important que les autres stations. Cependant, nous enregistrons le même effet de la salinité sur la réduction diamètre. L'anatomie des tiges nous offre des modifications structurales au niveau des éléments du xylème. Chez les témoins et les plantules stréssées à 50 meq.l^{-1} NaCl + $CaCl_2$, le diamètre des cellules du xylème varie autour les 20 µm (Tableau 2).

Tableau 2. Test de signification de Fisher (P=5%) du **diamètre** (µm) des vaisseaux du xylème **caulinaire** au cours du développement des plantes de le haricot sous le stress au NaCl + $CaCl_2$ sans bentonite pendant 21jours.

Stations	**Témoin**	**50 meq**.l^{-1}	**100 meq**.l^{-1}	**200 meq**.l^{-1}	**m + σ**
BMR	20.95±1.87	18.50±1.37	13.53±3.88	08.87±1.90	15.46±2.25
SLK	23.11±1.77	20.93±2.13	16.47±2.15	10.11±2.06	17.65±2.02
ACH	22.07±3.07	19.87±1.37	18.27±2.12	14.47±2.03	18.67±2.14

Après 21eme jour de croissance, les observations effectuées sur l'anatomie des tiges montrent une diminution du nombre des cellules par vaisseaux ainsi que le diamètre des cellules avec l'augmentation de la salinité. Les fortes concentrations de sels (100 et 200 meq de NaCl+$CaCl_2$) enregistrent nettement l'effet de la salinité (Fig. c,d de 4, 5 et 6), par contre, la comparaison des trois stations indique que les plantules cultivées dans le substrat de la station d'ACH ont un diamètre du xylème de la tige est légèrement supérieur que celui des autres stations de notre expérience.

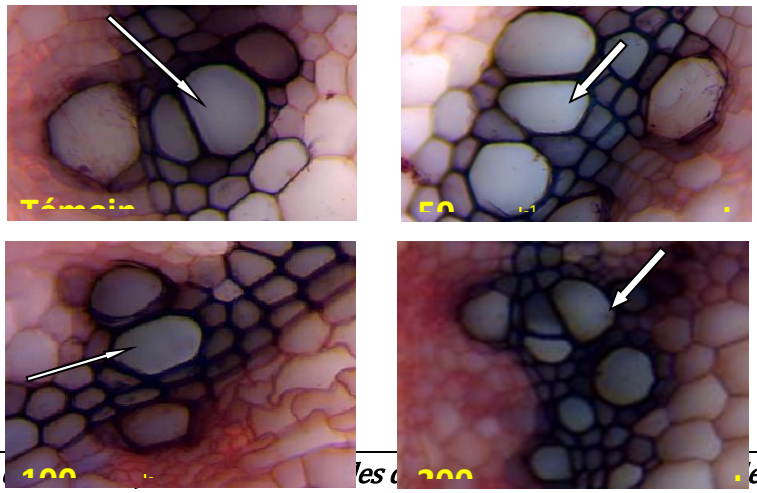


Fig. 4. Anatomie des tiges de *Phaseolus vulgaris* L. âgées de 21 jours (Station BMR). Les flèches indiquent les vaisseaux du xylème (X40).

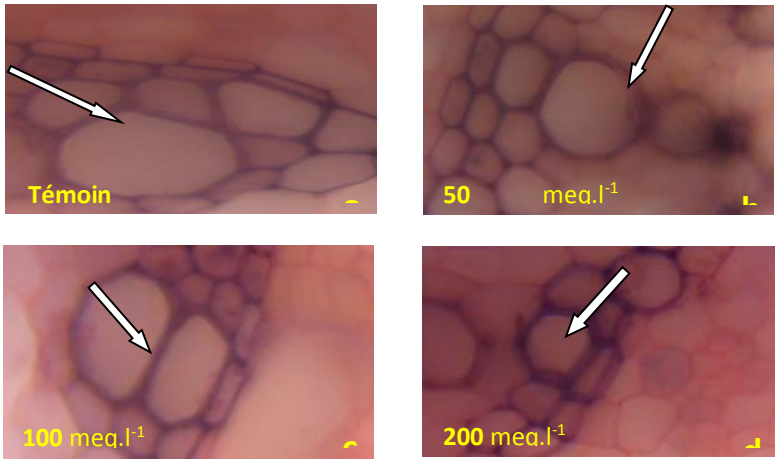


Fig. 5. Anatomie des tiges de (*Phaseolus vulgaris* L.). Agée de 21 jours (Station SLK). Les flèches indiquent les vaisseaux du xylème (X40).

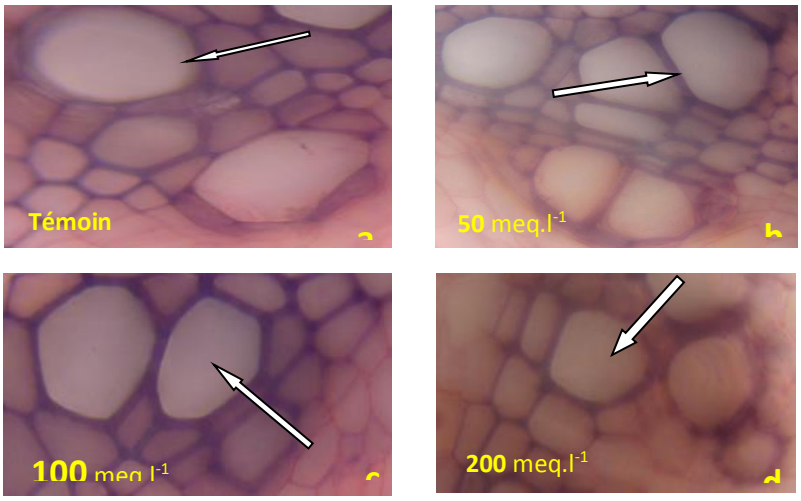


Fig. 6. Anatomie des tiges de (*Phaseolus vulgaris* L.). Agée de 21 jours (Station ACH). Les flèches indiquent les vaisseaux du xylème (X40)

2.2. Variation du diamètre du xylème racinaire et caulinaire (µm) des plantes stressées à la salinité (NaCl + $CaCl_2$) avec apport de la bentonite

L'analyse des coupes transversales montre que les modifications structurales des vaisseaux du xylème varient selon le mode de traitement apporté aux plantules de *Phaseolus vulgaris* L. ainsi que la nature de sol amendé en bentonite. Les racines représentent de légères modifications structurales au niveau du tissu du xylème ; aux fortes concentrations de sels (200 meq.l^{-1} de $NaCl+CaCl_2$), les cellules du xylème présentent une légère réduction dans leur diamètre, ainsi que les épaississement pariétal.

Les résultats obtenus montrent que quelque soit le traitement apporté ; la racine présente de gros vaisseaux comparativement à la tige. Au niveau de la tige, les résultats montrent bien l'action du sel et la présence de la bentonite sur le tissu conducteur comparés aux témoins (fig. 7, 8 et 9). Au fort grossissement ; les mêmes tiges illustres nettement et considérablement un relâchement dans l'agencement de leur vaisseaux conducteurs et notamment de leurs tissu du xylème. Cette réaction se traduit par une réduction dans le nombre des gros vaisseaux et l'épaississement de leurs parois et ceci suivant le traitement apporté.

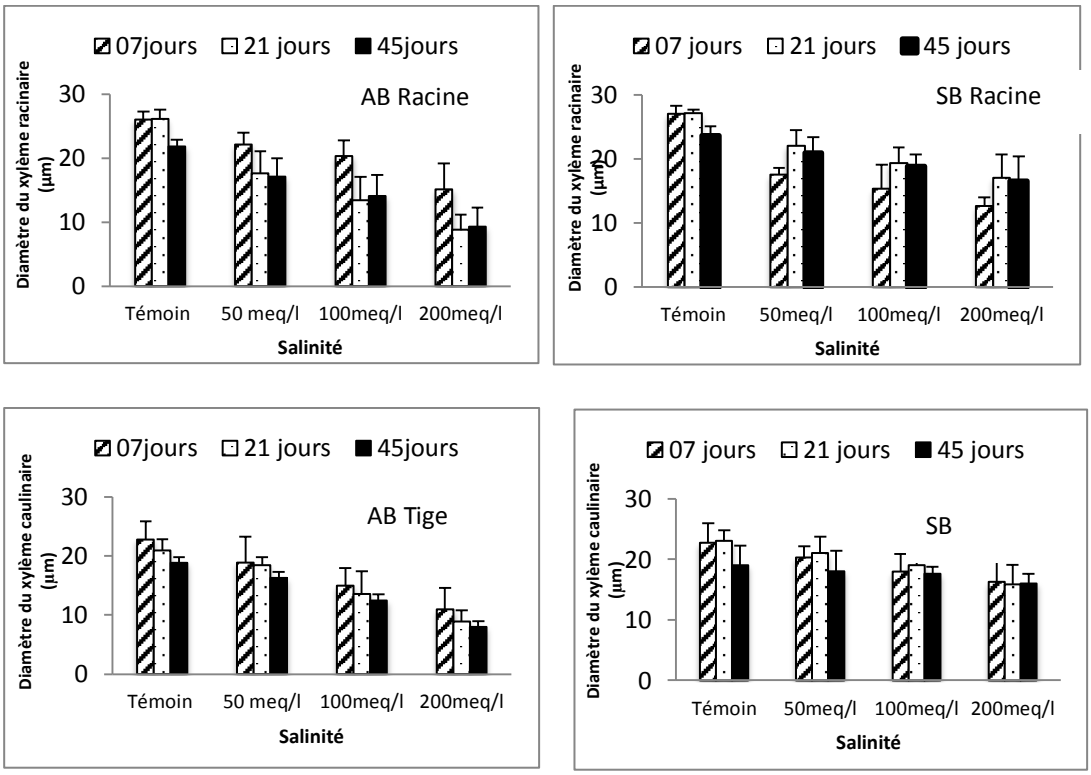
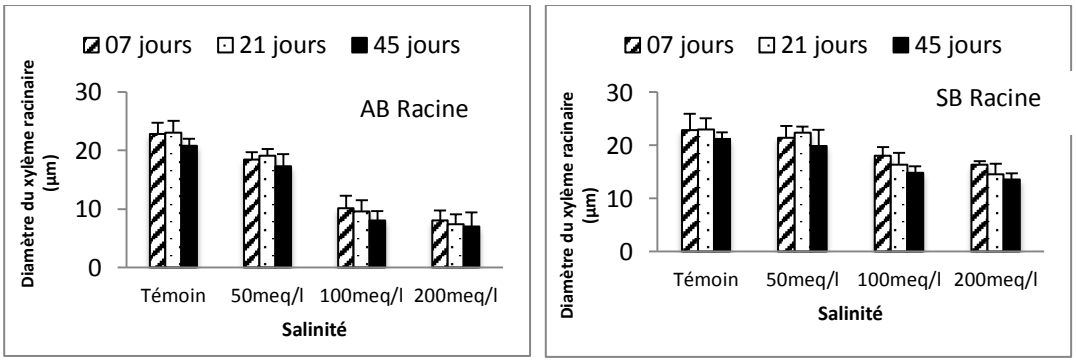


Fig. 7. Variation du diamètre du xylème racinaire et caulinaire : station Ben Abdelmalek Ramdane (BAR). **AB** : Avec Bentonite, **SB :** Sans Bentonite.



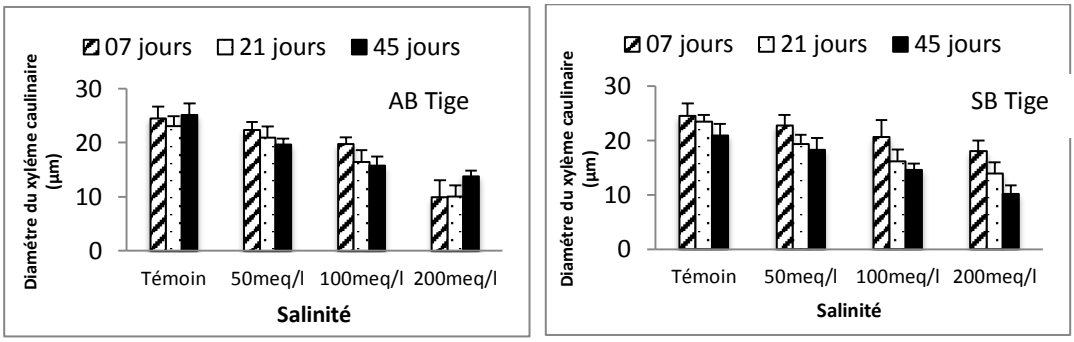


Fig. 8. Variation du diamètre du xylème racinaire et caulinaire : station Sidi Lakhdar (SLK). **AB** : Avec Bentonite, **SB :** Sans Bentonite.

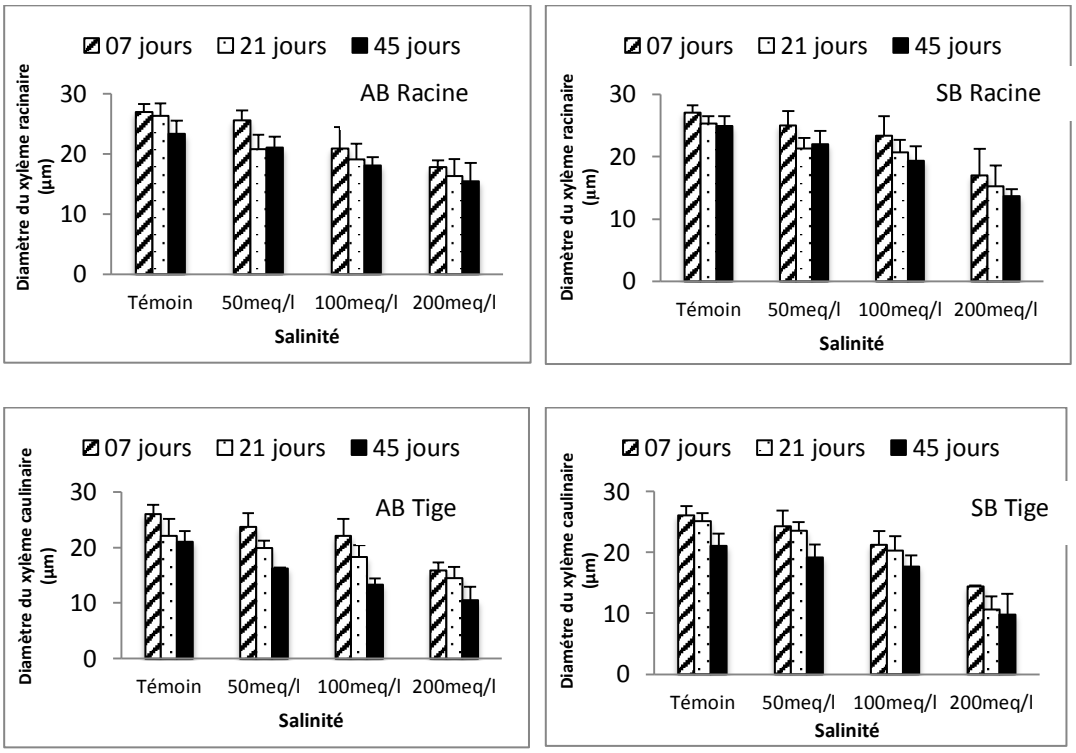


Fig. 9. Variation du diamètre du xylème racinaire et caulinaire : station Achaacha (ACH). **AB** : Avec Bentonite, **SB :** Sans Bentonite.

Discussion

L'analyse de l'anatomie des tiges et des racines des plantules soumises à un stress salin fait ressortir plusieurs faits intéressants, il s'agit d'abord du comportement de la plante étudiée (le haricot) au stress salin progressive (0, 50, 100 et 200 meq.l^{-1} de NaCl+$CaCl_2$) traduite par les paramètres anatomiques pris en considération (diamètre des vaisseaux du xylème racinaire et caulinaire) et les caractéristiques édaphiques à savoir (avec ou sans bentonite).

Les observations montrent une réduction du diamètre du xylème racinaire et caulinaire s'affiche nettement chez les plantules stressées par rapport aux témoins, selon Zhu (2002), il y aurait une réaction de rétablissement par rétrécissement des parois des vaisseaux conducteurs à cause du stress salin. Cette réaction de compensation était de courte durée, car les plantules n'ont pas parvenue à prolonger leur résistance sous 200 meq.l^{-1} de NaCl+$CaCl_2$ considéré comme un stress salin sévère, ce dernier s'est avéré plus néfaste dans le substrat

sans bentonite que dans le substrat avec bentonite. Les effets de la salinité sur la croissance des plantes varient en fonction du type de salinité, de la concentration du sel, de l'espèce, de la variété, de l'organe de la plante, du stade végétatif (Levigneron *et al.*, 1995) et du substrat de culture. Avec l'amendement du substrat de culture avec la bentonite a permis de voir une alimentation ionique correcte de la plante par les racines placées dans un milieu témoin, et élimine totalement les effets inhibiteurs du sel sur la croissance, c'est donc le sel du milieu qui perturbe l'alimentation minérale de la plante (Arbaoui, 2016). En plus, la bentonite met plus d'éléments nutritifs et d'eau à la disposition de la culture que le substrat sableux, d'autres, à cause du lessivage lié à la perméabilité du sable qui retient moins d'éléments nutritifs que le mélange sable bentonisé (Arbaoui, 2016).

Nous notons, une nette amélioration du diamètre des vaisseaux du xylème la croissance des racines et la tolérance à la salinité du haricot cultivée sur le substrat mélange avec la bentonite, nous rappelons ici, du rôle profond de $CaCl_2$ dans l'atténuation de l'effet du stress salin chez les plantes du haricot et son utilisation comme un appui efficace dans les cultures, le calcium apporté par la solution nutritive et le substrat bentonisé. En effet, l'apport de Ca^{2+} au système racinaire par la bentonite et la solution saline, peut contrarier l'effet néfaste de Na^{+} (Arbaoui, 2016).

Conclusion

Ce travail nous a éclaircit sur le rôle de la bentonite dans l'amélioration des sols sableux et dans la diminution de l'effet néfaste de la salinité dans la région de Mostaganem. En revanche, l'amélioration de la résistance de la culture du Haricot vis-à-vis de la salinité des sols reste un objectif difficile à atteindre. Par ailleurs, les résultats obtenus constituent une banque de données intéressante et contribuent forcément à l'enrichissement des travaux visant à créer et améliorer les capacités de tolérance de la culture du haricot au stress salin.

Références bibliographiques

Alem, C., & Amri, A. (2005). Importance de la stabilité des membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l'orge. *Reviews in Biology and Biotechnology*, *4*(1), 20-31.

Arbaoui, M., (2016). Effets du Stress Salin sur des Plantules de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Cultivées sur Substrat Sableux amendé en Bentonite. Thèse de doctorat. Soutenue le 01/12/2016. Université ABB Sénia. Oran.

Brugnoli, E., & Lauteri, M. (1991). Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (Gossypium hirsutum L.) and salt-sensitive (Phaseolus vulgaris L.) C3 non-halophytes. *Plant physiology*, *95*(2), 628-635. DOI: https://doi.org/10.1104/pp.95.2.628

Chaffei, C., Pageau, K., Suzuki, A., Gouia, H., Ghorbel, M. H., & Masclaux-Daubresse, C. (2004). Cadmium toxicity induced changes in nitrogen management in Lycopersicon esculentum leading to a metabolic safeguard through an amino acid storage strategy. *Plant and cell physiology*, *45*(11), 1681-1693. https:// doi: 10.1371/journal.pone.0115279

del Pilar Cordovilla, M., Ligero, F., & Lluch, C. (1995). Influence of host genotypes on growth, symbiotic performance and nitrogen assimilation in faba bean (Vicia faba L.) under salt stress. *Plant and Soil*, *172*(2), 289-297. https://doi: 10.1007/BF00011331

Delgado, M. J., Ligero, F., & Lluch, C. (1994). Effects of salt stress on growth and nitrogen fixation by pea, faba-bean, common bean and soybean plants. *Soil Biology and Biochemistry*, *26*(3), 371-376. https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90286-0

Levigneron, A., Lopez, F., Vansuyt, G., Berthomieu, P., Fourcroy, P., & Casse-Delbart, F. (1995). Les plantes face au stress salin. *Cahiers Agricultures*, *4*(4), 263-273.

Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, *60*(3), 324-349. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010

Poljakoff-Mayber, A. (1988). Ecological-physiological studies on the responses of higher plants to salinity ad drought. *Sci. Rev. Arid Zone Res.*, *6*, 163-183.https://doi.org/10.1007/s40011-014-0386-8

Zhu, J. K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual review of plant biology*, *53*(1), 247-273. DOI:10.1146/annurev.arplant.53.091401.143329

Zid, E., & Grignon, C. (1991). Test de sélection précoce pour la résistance des plantes au stress. Cas des stress salin et hydrique. *L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides*, 91-104.

Etude de la biodiversité entomologique dans des vergers d'agrumes de la commune de Mazagran (Mostaganem).

HAFFARI Faouzia, MERZOUG Aicha, BOUALEM Malika

Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, 27000, Algérie
haffari@yahoo.com

Résumé

L'étude de la biodiversité entomologique des agrumes dans la commune de Mazagran wilaya de Mostaganem a été menée sur trois mois, de février à avril 2017. Cette étude nous a permis de relever la présence de 73 espèces d'insectes appartenant à des familles et espèces différentes ainsi qu'avec des régimes alimentaires différents. 30 familles, 10 ordres et 49 genres ont été identifiés dont 24 espèces sont phytophages : il s'agit de *Parlatoriaziziphii*, *Dialeurodescitri*, *Aphisgossypii* et *Toxopteraaurantii*. 25 espèces prédatrices dont 13 espèces de Coccinellidae (*Adaliadecempunctata, Rodoliacardinalis, Clitostethusarcuatus, Chilocorusbipustulatus*…etc) ; 14 espèces de parasitoïdes et 6 espèces de mycétophages ; 2 espèces d'omnivores et saprophages ; et une seule espèce xylophage et nécrophage.

Mots clés : Agrumes–Biodiversité entomologique –régime alimentaire–Mostaganem

Introduction

Les agrumes algériens subissent en coïncidant une productivité déclin, malgré les bonnes conditions pédoclimatique pour leurs développement (Anonyme, 2007). Ces citrus sont cible d'une large communauté des ravageurs (hémiptère, lépidoptère, coléoptère, diptère et thysanoptère) ; qui causent des dégâts et des pertes importants à la santé du verger (Quilici et al., 2003).

Méthodologie

L'échantillonnage est réparti dans la ferme expérimentale de Mazagran. Ce site a été fondée en 1980 avec une superficie totale utilisable de 66,99 hectare. La zone d'étude est caractérisée par un climat méditerranéen, dans l'étage bioclimatique semi-aride. Nos échantillons sont prélevés dans 3 vergers d'agrumes, on sélectionne 30 arbres : 5 citronnier et 5 oranger à chaque verger. 450 feuilles par échantillonnage, à raison de 3 feuilles dans les cinq orientations (nord, sud, milieu, est et ouest) par arbre. Chaque 10 jours on fait le prélèvement durant 3 mois. Au laboratoire, les feuilles sont observées sous loupe binoculaire puis l'identification les espèces inféodées à l'aide des clés de déterminations.

Résultats

Tableau 1: Quelques espèces inventoriées et leurs régimes alimentaires

Famille	Genre/Espèce	Régime alimentaire
Coccinellidae	*Chilocorusbipustulatus*	Prédateur
	*Rhyzobius*sp	
	*Symnus*sp	
Curculionidae	*Hypoborus ficus*	Xylophage
Tipulidae	*Tipula*sp	Ravageur
Diaspididae	*Parlatoriaziziphi*	Déprédateur
Aphididae	*Toxopteraaurantii*	
Coccidae	*Coccus hesperidium*	
Enthocoridae	*Anthocorisnemorallis*	Prédateur
Aphelinidae	*Encarciaberlisie*	Parasitoïde
Braconidae	*Aphidius matricariae*	
Trichogrammatidae	*Trichogramma*sp	
Coneiopterygidae	*Conwentiza psociformis*	Prédateur

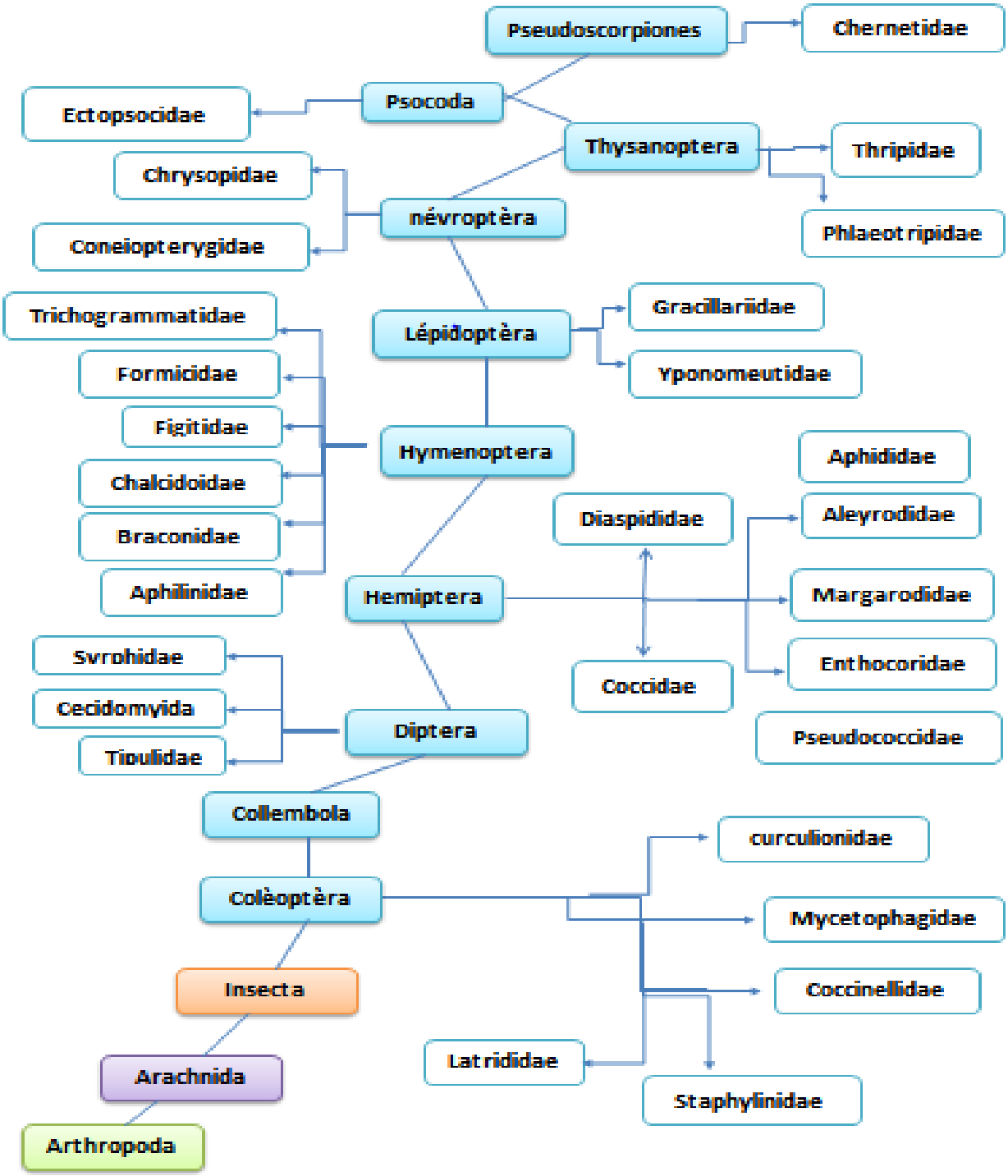


Figure 1: L'arbre systématique de la faune inféodé des agrumes dans la région Mazagran-Mostaganem (originale, 2017).

Conclusion

Les agrumes présentent en plus des insectes ravageurs, une faune auxiliaire qui peut jouer un rôle important en limitant les pullulations des principaux insectes nuisibles. Les espèces inventoriées suivent huit régimes alimentaires différents (prédateur, défoliateur, parasitoïde, mycétophage, omnivore, saprophage, xylophage et nécrophage).

Références

Anonyme. (2007): Citrus mealybug. Center for UrbanEcology and Sustainability, university of Minnesota. (16 August 2012).

Quilici, S., Vincenot, D., Franck, A., (2003) : les auxiliaires des cultures fruitières à l'île de la Réunion. Editions Quae,

Etude morphologique et phylogénétique du mouflon à manchettes (*Ammotraguslervia*) au niveau de la réserve de chasse de Tlemcen

DEROUICHE Louiza[1], RAHMOUNI Rafiq[2], BOUHADAD Rachid[1]

[1]Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, faculté des sciences biologique, Bab Ezzouar, Alger. [2]La réserve de chasse de Tlemcen.

derouiche_fatma@yahoo.fr

Résumé

Le mouflon à manchettes (*Ammotraguslervia*) est un ongulé classé à l'échelle mondiale comme espèce vulnérable. La réserve de chasse de Tlemcen est une des structures qui a pour but de protéger, de conserver et développer cette espèce en ex-situe, mais la problématique c'est qu'elle n'a pas l'historique de sa provenance ; partant de ce constat, nous avons mis en valeur notre étude qui se subdivise en deux volets. Le premier a porté sur une étude morphométrique ciblant les 42 individus adultes dont 18 ont été importé des Émirats Arabes Unis et 24 développé en Algérie ; cette étude a été axé sur 18 variables dont 15 quantitatives et 3 qualitatives. Les données recueillies furent soumises à une étude statistique analytique par le logiciel R qui nous a démontré par l'analyse en composante principale et la classification ascendante hiérarchique que les deux populations sont distinctes l'une de l'autre sans séparation significative puisque le travail a été mené sur la même espèce. En plus on a pu identifier des sujets spécifiques de chaque population qui peuvent être utilisés comme des reproducteurs. Quant au deuxième volet c'est une étude phylogénétique ciblant la population d'Algérie seulement dont l'analyse moléculaire de 6 échantillons prélevés nous a permis l'obtention d'une séquence partielle d'ADN du cytochrome b. Nous avons récupéré par la suite les séquences nucléotidique du cytochrome b de la même taxonomie à partir de la base de données GenBank et traiter l'ensemble des séquences par le logiciel MEGA qui nous a signifié après alignement par la méthode ClustalW l'arbre phylogénétique par laquelle il s'est avéré que la population de mouflon de la réserve de chasse de Tlemcen est une sous espèce nord-africaine.

Mots clés : Mouflon, RCT, ÉAU, morphométrie, phylogénie, cytochrome b.

Introduction

L'Afrique du Nord-ouest est l'une des régions qui mérite d'être investiguée par des recherches écologiques car d'une part, elle constitue un carrefour biogéographique entre les régions paléarctique et afro-tropicale (Olson et *al*., 2001) et d'autre part, elle appartient à la région méditerranéenne, l'un des points chauds de la biodiversité les plus importants au monde (Myers et *al*., 2000). Etendue sur une superficie de 2 381 741 km², s'étalant d'Est en Ouest sur 1622 km et étirée du Nord vers le Sud sur près de 2 000 km, l'Algérie est l'un des pays les plus originaux de la région ouest paléarctique du point de vue géographique, climatique et écologique et, par voie de conséquence, elle est l'un des pays les plus riches en diversité biologique dans le bassin méditerranéen. La bioclimatologie et l'étendue de l'aire géographique de l'Algérie sont à l'origine de l'existence d'une diversité écosystémique importante. La combinaison de tous ces facteurs n'a fait qu'engendrer une variabilité encore plus grande des milieux qui se traduit par une diversité sur le plan : physionomie des formations végétales, habitats et biotopes, paysages et ressources naturelles (Abdelguerfi et *al*., 2009). Ce constat positif est cependant à nuancer, car la situation actuelle apparaît moins brillante. En effet, cette exceptionnelle richesse naturelle est depuis plusieurs décennies soumises aux pressions croissantes d'une société en plein développement, auxquelles s'ajoutent les aléas d'années de sécheresse. Elle subit donc des altérations souvent graves, et comme dans bien d'autres pays du pourtour méditerranéen, se trouve aujourd'hui sérieusement menacée. Le peuplement mammalien Algérien n'échappe pas à ces menaces ; en effet, l'Algérie compte actuellement 108 espèces de mammifère (Stork et Samways, 1995 ; Abdelguerfi et *al*., 2009). En matière de protection de la faune mammalienne, sur les 108 espèces de mammifères présentes en Algérie, 47 espèces sont protégées par la

législation algérienne soit 43,92% du total. Cependant, cette liste est également appelée à être revue en hausse (Abdelguerfi et *al*., 2009). Parmi les espèces protégées, une des plus remarquables est le mouflon à manchette (*Ammotraguslervia*) dont l'aire de répartition et l'effectif des populations se sont réduits suite à la dégradation des habitats et au braconnage. Le mouflon à manchette se trouve aujourd'hui localisé en petites populations dans la steppe et les milieux pré-désertiques (Benkheira, 2006). La conservation des différentes espèces de faune sauvage représente pour tout état un énorme travail. Elle demande beaucoup de temps, des moyens matériels et financiers et un personnel qualifié. Cependant, la survie d´une espèce animale ne doit pas être obligatoirement assurée in-situ. La conservation dans des conditions ex-situ (réserves biologiques, centres cynégétiques, aires protégées …) est souvent bénéfique à l'espèce et évite son extinction. La réserve de chasse de Tlemcen (Fig.1) fait partie de ces infrastructures qui s'occupent de la conservation de la biodiversité animale. Son objectif est de protéger et développer la faune sauvage et d'aménager le biotope des espèces qui y vivent.

Le mouflon à manchette fait partie de cette faune dont s'occupe la réserve de chasse de Tlemcen dans le but de développer cette espèce et faire des lâchers par la suite in-situ afin de renforcer les populations naturelles. La réserve de chasse de Tlemcen, après de longues années de travail a pu atteindre un nombre d'individus de mouflon à manchette qui dépasse la centaine. A cet effet le pré-lâcher de cette espèce demeure indispensable vu le nombre par rapport à la superficie. Néanmoins le problème qui se pose est que l'espèce reste méconnue génétiquement, d'où le retour de ces spécimens à la nature peu engendrer d'énormes problèmes sur la diversité biologique. De ce fait ce travail s'articule autour de deux principaux axes ; le premier est une étude sur les caractéristiques phénotypique et morphométrique, et ce à l'aide d'un profilage biométrique ; quant au deuxième ; une identification génétique du mouflon à manchette de la réserve de chasse de Tlemcen et l'étude d'une base de données de biologie moléculaire du mouflon à manchettes afin de positionner sur l'arbre phylogénétique la population de la réserve de chasse de Tlemcen par rapport à d'autres populations de mouflon déjà étudiées.

Matériel et méthodes

1. Présentation de la réserve de chasse de Tlemcen

La réserve de chassede Tlemcen se situe dans la partie nord de l'Algérie, à 26 km au sud-ouest de la ville de Tlemcen et à environ 10 Km du chef-lieu de la daïra de Sabra. La réserve faisant partie de la forêt domaniale de Hafir occupe la zone la plus élevée et la plus boisée des monts de Tlemcen. Elle est localisée entre une latitude de 34°43'45,27¨N à 34°47'28,22¨N et une longitude de -1°26'32,55¨E à -1°30'21,62¨N.Elle occupe une superficie de 2 156 Ha clôturée en Zimmerman sur un périmètre de 25.04Km. Elle présente comme limites :

- Au nord, les terres agricoles de la vallée de Sidi Ouriache,

- Au sud, les parties de crêtes et les versants sud de djebel Ras Moutas, jusqu'aux terres labourables d'El Menakher,

- A l'ouest, Djorf-El-Abiod, les versants de Djebel Boumedrer jusqu'aux pieds du versant ouest de Djorf-El Guelâa,

- A l'est, le sommet d'Ain-Djadj.

Elle figure parmi les quatre réserves d'importance capitale créées à travers le territoire national et actuellement opérationnelles (Zeralda, Djelfa, Mascara et Tlemcen) (RCT, 2018).

2. Etude morphologique

2.1. Matériels biologique

Notre étude a ciblé les populations de mouflon à manchette présente au niveau de la réserve de chasse de Tlemcen (Moutas) et qui se devise en une population localement développée depuis 2003 et une autre population importé d'Émirats Arabes Unis en 2016.

L'échantillonnage a été fait sur des individus des deux sexes, mâles et femelles, adultes âgés de plus de deux ans, tous les individus au moment de l'étude étaient sains.

Un total de 42 individus a été échantillonné dont 20 mâles et 22 femelles divisé en deux populations 24 d'Algérie (ALG) et 18 de l'Émirats arabes unis (EAU).

2.2. Matériel non biologique

- Un dispositif de capture et de contention d'animaux.
- Mètre ruban gradué de 200 cm pour les mensurations corporelles.
- Matériel de marquage (boucle d'oreille et pince).
- Fiche technique à remplir contenant les caractères morphologiques à étudier.
- Appareil photographique pour la prise des photos.
- Logiciel de statistiques et la science des données R (3.5.0).

2.3. Démarches expérimentales

2.3.1. Capture et contention d'animaux

Pour la population d'Algérie et celle des EAU, nous avons utilisé la même méthode de capture mécanique. A savoir un dispositif de capture a été construit sur une aire de 500 m^2 entouré par un grillage (type Zimmerman), d'une hauteur de 2 m couvert d'une bâche avec deux portails.Les mouflons qui se trouvent au niveau de l'enclos de reconstitution de Toriche de 40 Ha ont été rabattus et conduit vers l'enclos d'adaptation de 7 Ha. Une trentaine de sujets a été piégé à l'intérieur du dispositif de capture attiré par l'appât alimentaire (orge). De là on suit la capture et la contention des mouflons pour réaliser la capture individuelle à l'aide de filets de capture manipulés par un personnel qualifié. Pour la population d'EAU le noyau qui vit dans un enclos de 1 Ha les filets de capture ont été utilisés directement.

2.3.2. Collecte des données

-Les données qualitatives

A l'aide de l'examen visuel, 3 variables qualitatives ont été étudiées ; et sont comme suit :

Tableau I : Les variables qualitatives.

Caractère	Abréviation	Modalité
Age	Age	Estimé à la catégorie de denture
Sexe	Sexe	1= male ; 2= femelle
Couleur de la robe	CR	1= marron claire (MC) 2= marron foncé (MF)

-Les données quantitatives

A l'aide du mètre ruban, chaque animal a fait l'objet de 15 mensurations corporelles (Fig.1) selon le tableau (II) suivant :

Tableau II : Les variables quantitatives.

Mesure	Abréviation	Principe
Longueur du corps	Lcp	La distance horizontale depuis la pointe de l'épaule jusqu'à l'ischion.
Hauteur au garrot	HG	La taille depuis la partie inférieure du pied avant jusqu'au point le plus haut de l'épaule sur le garrot.
Hauteur au sacrum	HS	Distance du sacrum au sol.
Longueurs aux hanches	LH	Distance entre les pointes des angles de la hanche
Tour de poitrine	TP	La circonférence du corps derrière l'omoplate dans un plan vertical, perpendiculaire à l'axe longitudinal du corps.
Tour du canon antérieur	TCA	Tour du canon du pied avant.
Longueur de la queue	LQ	Distance entre le point d'attachement de la queue jusqu'à l'extrémité.
Tour de l'encolure	TL^2	La circonférence complète du tour de cou.
Longueur de l'encolure frontale	LLF	Distance entre les racines des cornes et le début du garrot.
Longueur de l'encolure distale	LLD	Distance entre la gorge et le début du sternum.
Longueur des cornes	LC	Longueur de la corne sur son côté extérieur, depuis sa racine jusqu'à la pointe.
Longueur des oreilles	LO	Longueur de l'oreille externe depuis sa base jusqu'à la pointe.
Longueur de la tête frontale	LTF	Du début du front jusqu'au mufle.
Longueur de la tête distale	LTD	Longueur de la bouche à la gorge.
Ecart entre les yeux	EY	Distance entre les yeux.

NB : Toutes les mesures sont en centimètres.

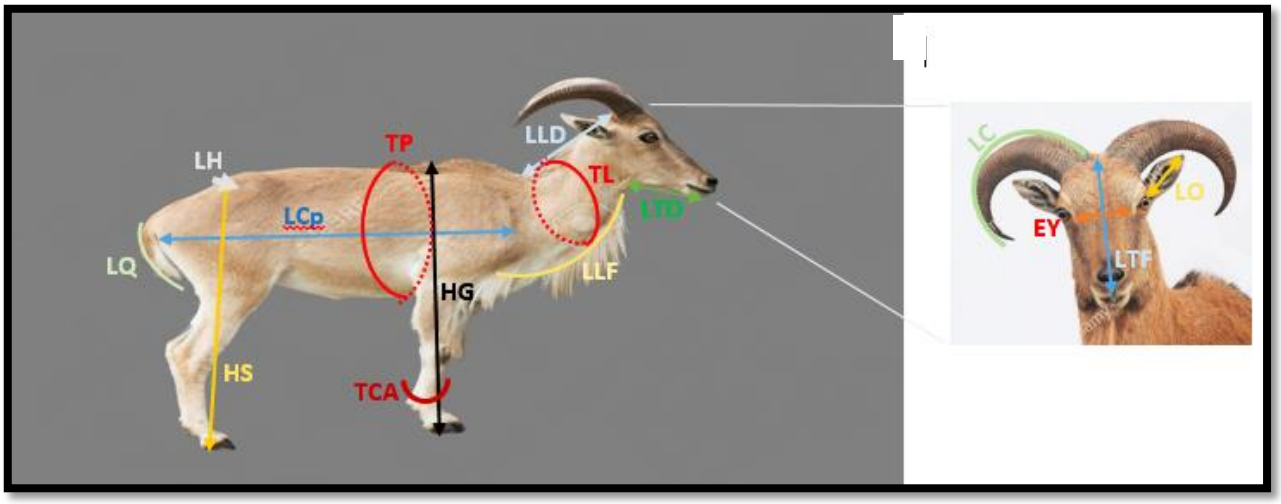


Figure 1 : Représentation graphique des variables quantitatives.

2.4. Traitement des données

Le traitement des données a été réalisé par le logiciel R (3.5.0). L'analyse statistique est menée en étapes suivantes :

- ✓ Avant d'entamer les tests statistiques, un test de normalité sur les valeurs de différents caractères a été réalisé avec le test de Shapiro Wilk.
- ✓ Une analyse descriptive des variables qualitatives et quantitatives : dans cette analyse on va s'intéresser à la moyenne, la médiane, minimum, maximum et l'écart type.
- ✓ La corrélation entre les variables quantitatives : avec le test de Pearson.
- ✓ Analyse en composante principale (ACP) : la méthode d'analyse en composantes principales permet de décrire des proximités entre des individus sur lesquels plusieurs caractères quantitatifs ont été mesurés (Pierre et *al.,*2011; Kassambara, 2017).
- ✓ Classification ascendante hiérarchique (CAH) : a pour but d'obtenir une représentation schématique simple d'un tableau rectangulaire de données dont les colonnes, suivant l'usage, sont des descripteurs de l'ensemble des observations, placées en lignes. L'objectif le plus simple du (CAH) est de répartir l'échantillon en groupes d'observations homogènes, chaque groupe étant bien différencié des autres (Roux, 2006).

3. Analyses moléculaires

3.1. Echantillonnage :

Les échantillons employés pour extraire l'ADN se sont composé de tissus (4 échantillons) et matériel fécal (2 échantillons) ; qui ont été conservé à l'alcool 96°.

3.2. Extraction, amplificationet séquençage d'ADN :

L'ADN génomique total a été extrait d'échantillons de tissus en utilisant le kit d'ADN EZNA Tissue (Omega Bio-Tek). Pour surveiller la contamination potentielle, nous avons inclus un contrôle d'extraction négatif à chaque session d'extraction. Nous avons amplifié un fragment du cytochrome b (cytb) avec les amorces BovidaeCyt b F et BovidaeCyt b R.

Les réactions en chaîne par polymérase (PCR) ont été effectuées dans des volumes de 15 µl avec 1,5 x PCR Buffer (Finnzymes), 1 µl de chaque dNTP (Bioline), 0,15 µl de chaque amorce, 0,25 µl de Phire®Hot Start DNApolymerase (Finnzymes), et 0,8 µl d'extrait d'ADN. Les conditions de cyclage thermique consistaient en une dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes, suivie par 55 cycles de 30 secondes à 94°C, 30 secondes à 55°C, 30 secondes à 72°C et une extension finale de 7 minutes à 72°C.

Les produits de PCR ont été purifiés avec un protocole Exo-SAP (Hanke et Wink, 1994) et séquencés chez Macrogen Inc. Les séquences ont été éditées, assemblées et alignées en utilisant Sequencher 4.7 (Gene Codes Corporation). Le résultat final obtenu est une séquence d'ADN partiel du cytochrome b de 376 pb

3.3. Utilisation des données de la GenBank :

Toutes les séquences étudiées du genre *Ammotragus* dans ce travail ont été téléchargés à partir de la GenBank.

Concernent l'out groupe c'est un cervidé (*Cervusduvaucelii*), il a été choisi en utilisant le web blaste (nucléotide blast) de la GenBank, il est identique à 89%.

3.4. Traitement des séquences d'ADN et l'obtention de l'arbre phylogénétique :

Pour réaliser une phylogénie, un bon nombre de programmes informatiques sont disponibles, pour traiter les séquences environ 92 paquets de phylogénie et 54 web server gratuits, nous avons choisi le logiciel MEGA version 5 (Tamura et *al*., 2011) ; le MEGA est conçu pour réaliser diverses analyses statistiques dans un programme et pour produire des résultats dans des sorties de publication-qualité (Kumara et *al*., 1994).

La construction d'arbres phylogénétiques a été faite par l'une des méthodes fondées sur les distances, la méthode UPGMA, basée sur l'hypothèse que les taux de mutation et donc les vitesses d'évolution sont identiques sur les différentes branches de l'arbre, en utilisant le modèle Kimura 2-paramètres.Les transitions et les transversions ne sont pas équivalentes en termes de proportions et leur fiabilité a été évaluée par le programme "Bootstrap" qui a été appliqué avec un nombre de répétitions égal à 1000. Les réplications sont ramenées en pourcentages et ils sont indiqués au niveau des nœuds.

Résultats et Discussion

1. Résultats et étude statistique

1.1. Statistiques descriptives

-Statistiques descriptives des caractères quantitatifs :

Avant d'entamer les statistiques descriptives il faut d'abord tester la normalité des distributions de chaque variable, cela va nous aider pour mieux établir les prochaines analyses.La normalité des distributions est analysée par le test de Shapiro-Wilk.

Le risque alpha (α) pour le test de Shapiro-Wilk est fixé à 0.05%, sachant que l'hypothèse nulle est que la population soit normalement distribuée, si la p-value est inférieure au niveau alpha choisi, alors l'hypothèse nulle est rejetée et si la p-value est supérieure au niveau alpha choisi, alors on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle et donc notre distribution tend à la normalité. Les résultats pour notre variable se trouvent dans le tableau III suivant :

Tableau III : Les résultats du test Shapiro-Wilk.

Variable	p-Value
LCp	0.70
HG	0.11
HS	0.72
LH	0.10
TP	0.32
TCA	0.01
LQ	0.12
TL	0.01
LLF	0.25
LLD	0.89
LC	0.02
LO	0.04
LTF	0.10
LTD	0.15
EY	0.09

D'après le tableau ci-dessus on peut conclure que les variables : **TCA** (Tour du canon antérieur) ; **TL** (Tour de l'encolure) ; **LC** (Longueur des cornes) ; **LO** (Longueur des oreilles) ne suivent pas une loi normale tandis que le reste des variables tend à la normalité à des degrés différents.

Les statistiques descriptives totales des mensurations sont représentées dans le tableau IV pour la population Algérienne et le tableau V pour la population de l'EAU.

Tableau IV: Analyse descriptive des mensurations corporelles chez la population Algérienne.

	Moyenne	Ecart-type	Médian	Min	Max
LCp	83,71	7,17	82,00	74,00	100,00
HG	89,71	7,64	88,00	78,00	107,00
HS	89,25	5,42	89,50	78,00	101,00
LH	16,96	1,97	17,00	12,00	21,00
TP	103,38	10,76	103,50	83,00	122,00
TCA	10,67	1,01	11,00	9,00	12,00
LQ	17,08	2,41	16,50	14,00	22,00
TL	49,25	8,55	47,50	36,00	66,00
LLF	36,50	4,71	36,00	28,00	49,00
LLD	30,71	3,56	30,50	26,00	38,00
LC	48,38	12,83	42,00	33,00	83,00
LO	13,33	1,61	13,00	11,00	17,00
LTF	27,96	2,12	27,50	24,00	32,00
LTD	17,92	1,74	18,00	14,00	21,00
EY	14,42	1,50	14,00	13,00	18,00

Tableau V: Analyse descriptive des mensurations corporelles chez la population des EAU.

	Moyenne	Ecart-type	Médian	Min	Max
LCp	74,50	7,60	74,00	59,00	90,00
HG	80,61	6,68	79,50	68,00	99,00
HS	82,94	7,14	80,50	72,00	101,00
LH	16,44	1,95	16,50	12,00	20,00
TP	88,28	9,44	89,00	72,00	111,00
TCA	8,56	1,04	8,00	7,00	11,00
LQ	18,22	2,02	19,00	13,00	21,00
TL	37,94	5,37	36,50	28,00	51,00
LLF	32,78	5,16	31,00	26,00	45,00
LLD	26,61	3,60	27,00	19,00	32,00
LC	33,56	9,83	37,00	18,00	56,00
LO	12,61	1,61	12,50	10,00	16,00
LTF	26,00	3,45	26,50	20,00	31,00
LTD	18,56	2,41	18,00	14,00	24,00
EY	12,39	1,75	12,00	10,00	16,00

Statistiques descriptives des caractères qualitatifs

Sexe : Le même nombre de femelles a été échantillonné pour les deux populations mais il représente 46% de la population d'ALG et 61% de la population de l'EAU par contre les mâles d'ALG représentent 51% et 39% pour la population d'EAU (Fig.2).

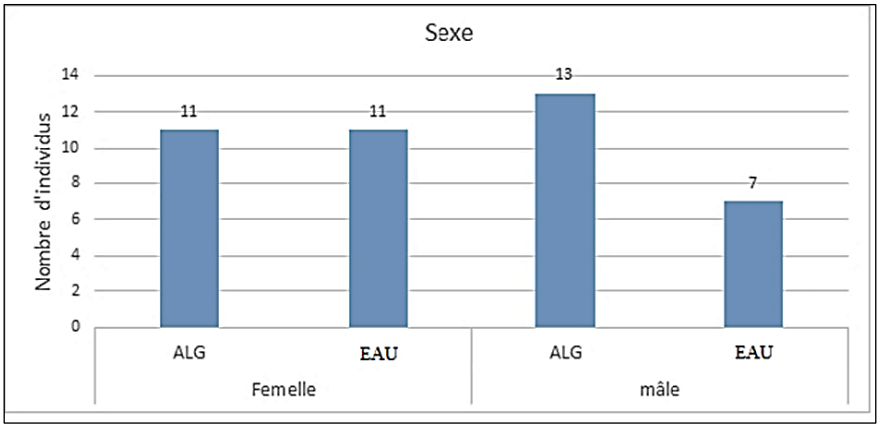
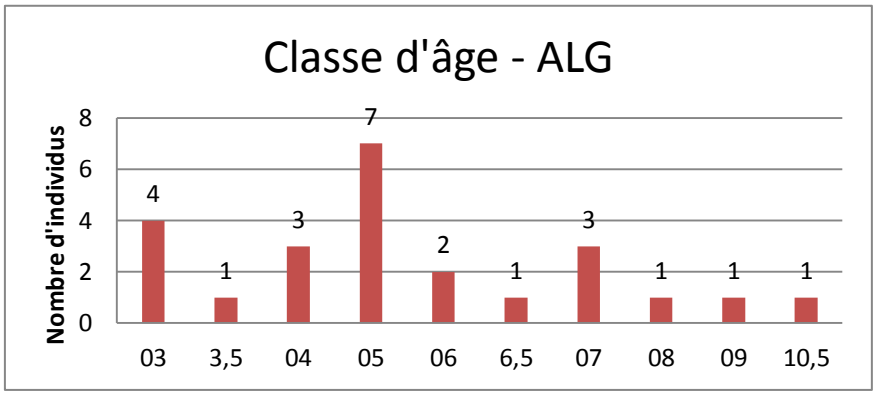


Figure 2 : Distribution de sexe dans notre échantillon.

Age : L'âge de la majorité des individus échantillonnés de l'ALG se situe entre 3 ans et 5 ans (Fig. 3).

Figure 3 : Distribution de l'âge dans notre échantillon de l'Algérie.



Par ailleurs dans la population d'EAU l'âge de la majorité des individusest de 3 ans (Fig.4).

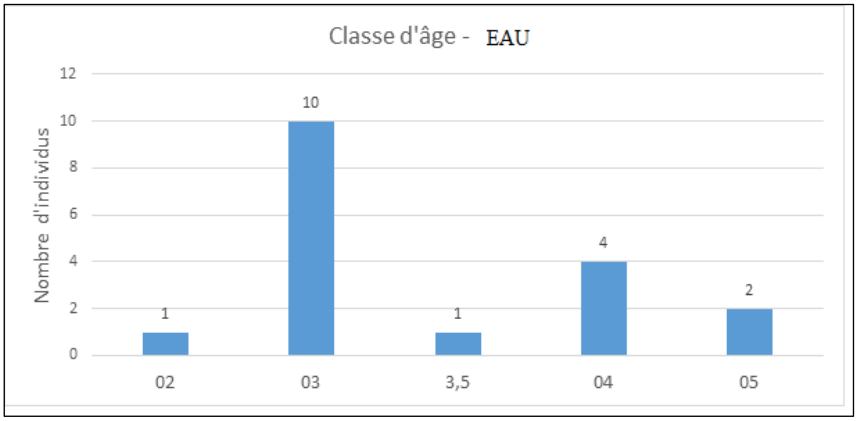


Figure 4 : Distribution de l'âge dans notre échantillon de l'Emirats Arabes Unis.

Couleur de la robe : La couleur claire de la robe est la plus dominante entre les deux populations el l'unique pour la population d'EAU tandis que la couleur foncée est présente seulement dans la population Algérienne et représente 50% de la population (Fig. 5).

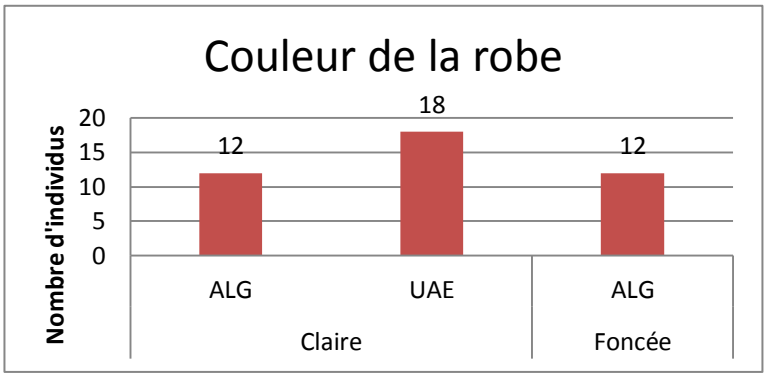


Figure 5 : Distribution de la couleur de la robe dans notre échantillon.

1.2. Analyse en composantes principales (ACP)

❖ **L'analyse en composantes principales des variables :**

La valeur α est fixée à 0.05.

Les valeurs propres mesurent la quantité de variance expliquée par chaque axe principal.Nous examinons les valeurs propres pour déterminer le nombre de composantes principales à retenir. Les résultats sont dans le tableau VI.

Tableau VI : Description des axes de l'ACP.

Composant (Axe)	Valeur propre	% variance	% variance cumulée
comp 1	9,28	61,87	61,87
comp 2	1,52	10,13	72,00
comp 3	1,09	7,26	79,26
comp 4	0,96	6,38	85,64
comp 5	0,55	3,70	89,34
comp 6	0,35	2,32	91,66
comp 7	0,33	2,19	93,86
comp 8	0,22	1,47	95,33
comp 9	0,16	1,04	96,36
comp 10	0,13	0,89	97,25
comp 11	0,12	0,80	98,06
comp 12	0,10	0,69	98,75
comp 13	0,08	0,56	99,31
comp 14	0,06	0,38	99,68
comp 15	0,05	0,32	100,00

On note que les trois premiers composants expliquent 79% de la variance ; et selon Jollife (2002) et Peres-Neto (2005) le nombre d'axes est déterminé par le point, au-delà duquel les valeurs propres restantes sont toutes relativement petites et de tailles comparables. De ce fait le nombre des axes qu'on a retenu est de deux et ce se sont l'axe 1 et l'axe 2. L'analyse en composante principale (ACP) a été réalisée, sur les variables étudiées. Les

résultats de cette analyse ont montré que ces variables ont représenté 72% de l'inertie totale sur les deux axes, ce qui est vraiment très intéressant sur le plan statistique.

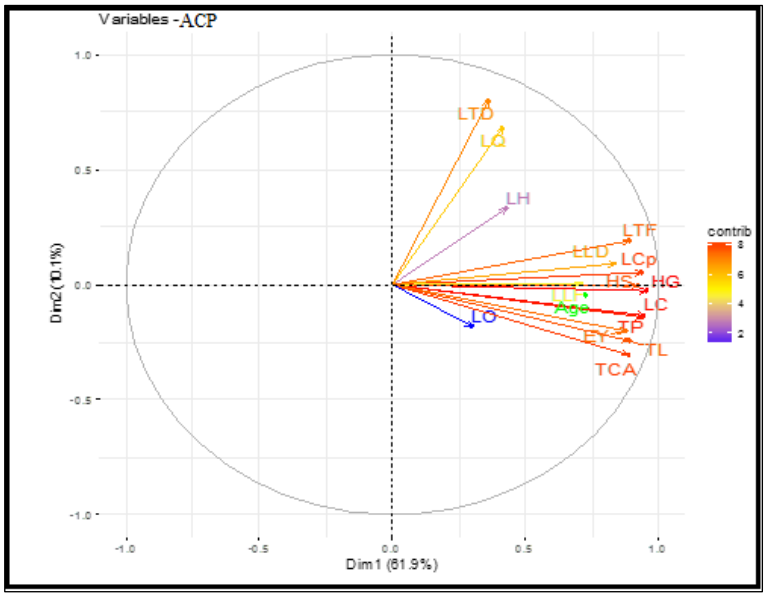


Figure 6 : Cercle de corrélation en fonction de la contribution de l'ACP.

Le graphique ci-dessus (Fig.6) est également connu sous le nom de graphique de corrélation des variables. Il montre les relations entre toutes les variables.

Selon Kassambara (2017)dans le cercle de corrélation :

- ✓ Les variables positivement corrélées sont regroupées.
- ✓ Les variables négativement corrélées sont positionnées sur les côtés opposés de l'origine du graphique (quadrants opposés).
- ✓ La distance entre les variables et l'origine mesure la qualité de représentations des variables. Les variables qui sont loin de l'origine sont bien représentées par l'ACP.

Les informations à noter de notre cercle de corrélation qui est présenté dans la figure 7 sont :

- ➢ Aucune corrélation négative n'est observée.
- ➢ Les variables **LC, HG, LCp, TP** et **TCA**sont les plus proches à la périphérie du cercle et donc le mieux représentées.
- ➢ Les variables **LTF, LLD, LCp, HS** et **HG** sont bien corrélées entre elles ; et elles sont bien corrélées avec l'axe 1 et forment un groupe.
- ➢ Les variables**, LC, TP, EY, TL** et **TCA** sont bien corrélées entre elles ; et elles sont bien corrélées avec l'axe 1 et forment un groupe.

- Les variables **LO** et **LH** sont les plus proches au centre ; corrèlent très faiblement entre elles et corrèlent faiblement avec les deux autres groupes.

- La variable **LTD** et **LQ** présente une faible corrélation avec toutes les variables mais il faut noter qu'elle présente une forte corrélation à l'axe 2.

En conclusion :

- Les variables **HG, LCp, HS, LC, TL, TP, LTF, LTD** et **TCA** présentent une forte qualité de représentation et les variables **LQ, LLD, LLF** et **EY** présentent une contribution supérieure à la moyenne .
- Tous les caractères (**LC, HG, LCp, TP, TCA, LC, TP, EY, TL,TCA)** des deux groupes sont corrélés positivement entre eu parce qu'ils sont contrôlé par un nombre de gêne important qui est en commun.

❖ **L'analyse en composantes principales des individus :**

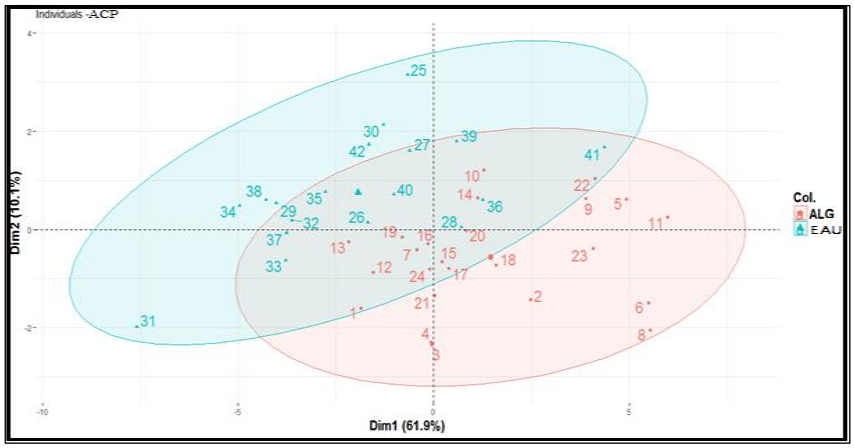


Figure 7 : Analyse des composantes principales (distribution des individus).

L'analyse en composantes principales des individus (Fig.7) a permis de distinguer nettement la population Algérienne de celle de l'EAU avec une zone de chevauchement entre les deux populations. La zone commune entre les deux populations indique qu'il y a un certain nombre d'individus qui se ressemblent ; ce qui est normale parce qu'on étudie la même espèce *Ammotraguslervia*.

1.3. Classification ascendante hiérarchique (CAH) :

La classification ascendante hiérarchique (CAH) de notre échantillon reflèteles mêmes résultats del'analyse en composantes principales des individus et elle a permis de distinguer trois classes (Fig.8) en se basant sur les différentes mensurations corporelles effectuées durant notre expérimentation.

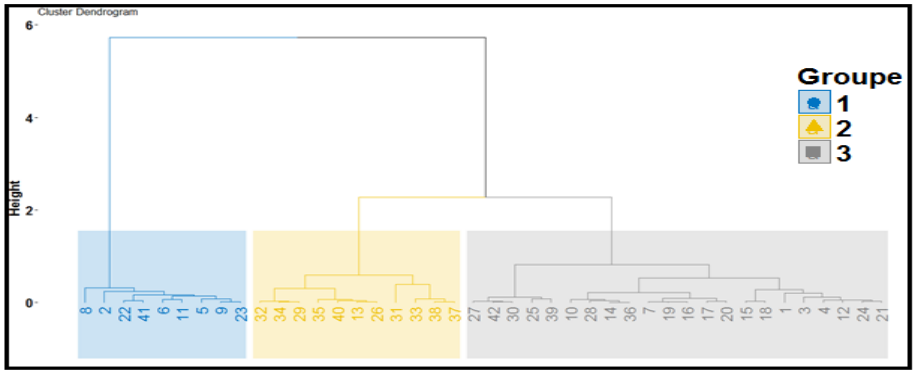


Figure 8 : Dendrogramme de la classification ascendante hiérarchique.

L'étude morphologique nous a permis de :

-Distinguer nettement les deux populations étudiées.
-Identifier les individus spécifiques qui représentent la sous espèce algérienne pour les utiliser comme des reproducteurs comme par exemple les mâles N° 2, 6 et 4.

2. Résultats et étude phylogénétique

2.1. Résultats de la GenBank

Notre étude est basée sur la reconstruction phylogénétique à partir de 48 séquences du genre *«Ammotragus »*récupérées auprès de la GenBank.

- ✓ 31 Séquences d'ADN génomique : ND1, Kcas, HBB, PRNP, HSP90AA1, *…etc.*
- ✓ 17 Séquences d'ADN mitochondriale majoritairement le cytb (11 séquences de cytb).

Notre choix s'est porté sur un gène mitochondrial, le cytochrome b (cytb), pour dresser notre arbre phylogénétique,parce que ce dernier est très largement utilisé dans les études de phylogénie et il est donc bien documenté pour de nombreux groupes de mammifères (Bradley et Baker, 2001 ; Delsuc et *al.,* 2003). Le cytb est un gène présent en de nombreuses copies dans la cellule,il est considéré comme clonal et rarement ou jamais soumis à la recombinaison ; il est transmis maternellement (hérédité cytoplasmique) (Gyllensten et*al.*, 1991), il a un taux de mutation plus élevé que les gènes nucléaires.

D'autre part l'étude des articles publiés sur ces gènes nous a permis d'identifier les pays d'où vientl'échantillon et par conséquent la sous espèce selon l'étude bibliographique.

Tableau VII : Les séquences d'ADN mitochondrial (cyt b) extraites de la GenBank pour le genre *Ammotragus* ; les séquences de la RCT et l'Out groupe.

N°	Locus	Gene	Pays	Sous espèce
01	/	(cytb)	RCT Algérie	/
02	KM582125	(cytb)	Nord-africains (Sénégal, Mauritanie, Maroc, Algérie,	*Ammotraguslervialerviaangusi,sahariensis,*

			Tunisie, Niger, Tchad, Trinité-et-Tobago)	*sahariensis)*
03	KM582124	(cytb)	nord-africains (Sénégal, Mauritanie, Maroc, Algérie, Tunisie, Niger, Tchad, Trinité-et-Tobago)	*Ammotraguslervialerviaangusi,sahariensis, sahariensis)*
04	KM582123	(cytb)	nord-africains (Sénégal, Mauritanie, Maroc, Algérie, Tunisie, Niger, Tchad, Trinité-et-Tobago)	*Ammotraguslervialerviaangusi,sahariensis, sahariensis)*
05	FJ207522	(cytb)	Musée de France	*Ammotraguslervia*
06	AF034731	(cytb)	Musée de France	*Ammotraguslervia*
07	EU878385	(cytb)	Soumission directe	*Ammotraguslervia*
08	FJ556577	(cytb)	Non publié	*Ammotraguslervia*
09	FJ556568	(cytb)	Non publié	*Ammotraguslervia*
10	EF466060	(cytb)	Jardin zoologique de Mansourah (Egypte)	*Ammotraguslerviaornata*
11	KU165683	(cytb)	Non publié	*Ammotraguslervia*
12	NC_009510	(cytb)	Jardin zoologique de Mansourah (Egypte)	*Ammotraguslerviaornata*
13	EU878386	(cytb)	Soumission directe	*Ammotraguslervia*
14	DL132334	(cytb)	Zoo municipal de Fukuoka (Japon)	*Ammotraguslervia*
15	KM582126	(cytb)	nord-africains (Espagne, Maroc, Algérie, Tunisie, Niger)	*Ammotraguslervia (lervia,sahariensis, angusi)*
16	AY607041	(cytb)	Out groupe	*Cervusduvaucelii*

La huitième N° FJ556577 et quinzième N° KM582126 séquence ont été expurgéesparce que pendant l'alignement on a remarqué qu'elles occupent une partie très minime de la partie des points de convergences.

2.2. Construction de l'arbre phylogénétique :

La construction de l'arbre phylogénétique (Fig.9) a été réalisée à l'aide du programme MEGA5. Nous avons choisi les séquences représentatives de cytb, en nous basant sur leurs origines géographiques.

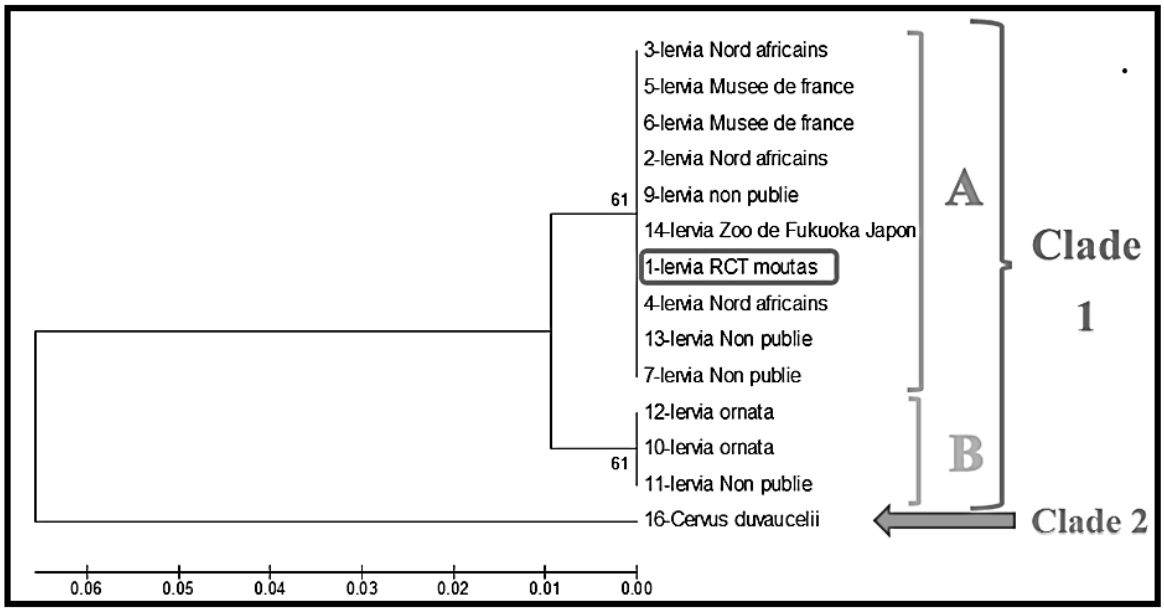


Figure 9 : Arbre phylogénétique reconstruit par la méthode UPGMA basé sur 14 séquences de cytochrome b de genre *Ammotragus*en utilisant MEGA5.

2.3. L'analyse de l'arbre phylogénétique

D'après l'arbre, les séquences de cytb se répartissent en 2 clades principaux :

-Clade 1 : Il comprend toutes les séquences d'*Ammotraguslervia* traitées et ce clade est subdivisé en deux sous-clades :

- Sous Clade A **:** Il renferme la sous espèces de notre population de la réserve de chasse de Tlemcen, celles des nord africains, du musée de France, du zoo de Fukuoka et les sous espèces non publiées.
- Sous clade B **:** Il correspond à la sous espèce *Ammotraguslerviaornata*et une séquence non publiée.

-Clade 2 : Il comprend l'out group utilisé (*Cervusduvaucelii*) qui est un cervidé de l'Inde et du Népal.

De manière générale, l'arbre obtenu montre que *Ammotraguslervia* est monophylétique, absence des nœuds signifie qu'il n'y a pas une séparation nette des sous espèces, donc elles sont des sous espèces très proches, à partir d'une matrice de séquences traitées (cytb) avec la méthode UPGMA.

On constate que le sous clade A est attribué à la sous espèces nord africains ; puisqu'il y a des séquences nord-africaines(Silva et *al*., 2014), et ceux du musée de France qui probablement ont été prise des pays coloniésde l'Afrique du nord, et surtout l'Algérie parce que selonKowalski(1991)l'*Ammotraguslervialervia* c'est la sous-espèce qui a été importée dans les jardins zoologiques européens à la fin du siècle dernier et de là aux zoos américains vers 1900. D'autre part, même les séquences non publiées et celle du zoo de Fukuoka (Japon) sont fort probablement du nord d'Afrique. De ce fait la séquence de la réserve de chasse de Tlemcen et puisqu' elle est dans le sous clade A c'est une sous espèce nord-africaine.

D'autre part le sous clade B est attribué à la sous espèce *Ammotraguslerviaornata* ; puisque les séquences composant ce clade sont originaires du jardin zoologique de Mansourah (Egypte)(Mereu et*al*., 2008 ; 2017).

Par contre le clade 2 est le groupe externe et sert de point de comparaison pour le groupe et permet spécifiquement d'enraciner la phylogénie.

L'étude phylogénétique nous a permis :

-D'affirmer les résultats d'étude morphologique par l'absence de nœuds ce qui signifie qu'il n'y a pas une séparation nette des sous espèces, donc elles sont des sous espèces très proches.
-D'identifier la population du mouflon à manchette de la réserve de chasse de Tlemcen comme étant une sous-espèce nord-africaine.

Conclusion

Dans la préssante étude, nous avons abordé l'aspect phénotypique et génotypique des mouflons à manchette*(Ammotraguslervia*) dans la réserve de chasse de Tlemcen ; 42 mouflons adultes ont été échantillonnés qui appartiennent à deux populations non apparentées l'une algérienne à 24 individus et l'autre importée des Émirats Arabes Unis en 2016 avec 18 individus.

L'étude morphometrique se caractérise en se basant sur 15 variables quantitatives et 3 variables qualitatives ; qui a été menée en premier lieu par l'analyse descriptive des variables et une étude des corrélations entre les variables quantitatives, suivie d'une analyse en composante principale et dernièrement une classification ascendante hiérarchique.L'analyse descriptive a révélé que les individus de la population d'ALG ont une corpulence plus grande que la population des EAU ; la couleur claire de la robe est plus dominante et unique pour la population des EAU.L'analyse en composante principale (ACP) a permis de distinguer les deux populations étudiées avec la présence d'une zone de chevauchement ce qui est normalement explicable puisqu'on étudie la même espèce. Aussi elle nous a permis d'identifier les individus spécifiques représentatifs de chaque sous espèce. La classification ascendante hiérarchique (CAH) a démontré les mêmes résultats de l'ACP et a permis de distinguer3 classes.

L'étude phylogénétique a été consacrée pour la population d'Algérie seulement par manque de données et moyens ; cette partie d'étude est menée en premier lieu par l'analyse moléculaire de 6 échantillons prélevés ; suivie par l'extraction et la récolte des données de la GenBank. En dernier lieu le traitement des séquences d'ADN du cytochrome b mitochondriale à l'aide du MEGA5, nous a donné l'arbre phylogénétique.Par l'analyse moléculaire ; après échantillonnage, extraction, amplification d'ADN et séquençage on a pu obtenir la séquence d'ADN partiel du cytb de 376 paires de base de la sous espèce de mouflon àmanchette de la RCT.

L'exploitation de la banque des gènes NCBI et la recherche pat taxonomie (*Ammotragus*) nous a permis d'identifier les 48 séquences nucléotidique de l'espèce et de conclure que le gène cytb est le plus étudié (14 séquences).

L'utilisation du logiciel MEGA et après l'introduction et l'alignement multiple des séquences par le programme ClustalW on a pu obtenir l'arbre phylogénétique qui se divise en deux clades ; le premier qui regroupe toutes les séquences d'*Ammotraguslervia*se subdivise à son tour en deux sous clade,dont le premier renferme les sous espèces nord-africaines à laquelle appartient notre population, par contre l'autre sous clade correspond à la sous espèce *Ammotraguslerviaornata* ; le deuxième clade comprend l'out groupe utilisé comme point de comparaison.

L'assemblage et la comparaison des deux études morphologique et phylogénétique nous a permis de déduire que :

- ✓ Les deux populations étudiées sont très proche ce qui a été révélé par l'analyse statistique (ACP et CAH).
- ✓ Les sujets des mouflons spécifique représentatifs de chaque population peuvent être utilisé comme des reproducteurs spécifiques de chaque sous espèce dont ils appartiennent.
- ✓ La population du mouflon à manchette algérienne de la réserve de chasse de Tlemcen est une sous espèce nord-africaine.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-Abdelguerfi A., Chehat F., Ferrah A., Yahiaoui S., 2009- Quatrième rapport national sur la mise en œuvre de la convention sur la diversité biologique au niveau national, 2009.

-Benkheira A., 2006- Special Naâma, Bull.n°5, D.G.F., PP : 14–15.

-Bradley R. D., Baker R. J., 2001- A Test of the genetic species concept: cytochrome-b sequences and mammals. Journal of Mammalogy, 82(4), 960–973.

-Delsuc F., Stanhope M. J., Douzery E. J., 2003- Molecular systematics of armadillos (Xenarthra, Dasypodidae): contribution of maximum likelihood and Bayesian analyses of mitochondrial and nuclear genes. Molecular Phylogenetics and Evolution, 28(2), 261–275.

-Gyllensten U., Wharton D., Josefsson, A., Wilson A. C., 1991- Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. Nature, 352(6332), 255–257.

-Jolliffe I. T., 2002- Principal Component Analysis, Springer Science & Business Media, New York, 487 p.

-Kassambara A., 2017- Practical Guide to Principal Component Methods in R: PCA, MCA, FAMD, MFA, HCPC, factoextra Volume 2 de Multivariate Analysis, STHDA, 169 p.

-Kowalski K., Rzebik- Kowalska B., 1991- Mammals of Algeria. Ed. Polish, Acad. Sci. Inst. Syst. and Evol.Mamma., 48–52.

-Kumar S., Tamura K., Nei M., 1994- MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software for microcomputers. Bioinformatics, 10(2), 189–191.

-Mereu P., Palici Di Suni M., Manca L., Masala B., 2008- Complete nucleotide mtDNA sequence of Barbary sheep (*Ammotraguslervia*) 19(3): 241–245.

-Mereu P., Multineddu C., Manca L., Masala B., 2017- The complete nucleotide mtDNA sequence of Barbary sheep (*Ammotraguslervia*) and a molecular dating of the evolutionary divergence within some major *Caprini* genera.

-Myers N., Mittermeier R. A., Mittermeier C. G., Da Fonseca G. A. B., Kent J., 2000- Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature403:853–858.

-Olson D. M., Dinerstein E., Wikramanayake E. D., Burgess N. D., Powell G. V. N., Underwood E. C., D'amico J. A., Itoua I., Strand H. E., Morrison J. C., Loucks C. J., Allnutt T. F., Ricketts T. H., Kura Y., Lamoreux J. F.,Wettengel W. W., Hedao P., Kassem K. R., 2001- Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth., BioScience51 : 933-938.

-Peres-neto P. R., Jackson D. A, Somers K. M., 2005- How many principal components? Stopping rules for determining the number of non-trivial axes revisited. ComputationalStatistics& Data Analysis, 49, 974–997.

-Pierre L. D. M., Remy D., Benoit L., 2011- Le logiciel R: Maîtriser le langage - Effectuer des analyses biostatistiques2em édition, Springer Science & Business Media, Paris, 674 p.

-RCT, 2018 - Rapport des activités du deuxième trimestre de la réserve de chasse de Tlemcen 2018.

-Silva T. L., Godinho R., Castro D., Abaigar T., Brito J. C., Alves P. C., 2014- Genetic identification of endangered North African ungulates using noninvasive sampling doi: 10.1111.

-Tamura K.,Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S., 2011- MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods.

Contribution a l'analyse virtuelle du stock exploitable de la Moustelle de fond *Phycis blénnoides* (Brünnich, 1768) de la côte occidentale algérienne par l'utilisation du logiciel VIT.

[1&2]Benghali Sofiane Mohamed el Amine, [1&2]Kherraz Ali

1. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, USTO-MB, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département du Vivant et de l'Environnement.

2. Laboratoire : Réseau de Surveillance Environnementale Faculté des Sciences, Université d'Oran1 Ahmed sofiane.benghali@univ-usto.dz

Abstract

The biology and population dynamics of the Greater fork beard, *Phycis blennoides* (Brünnich, 1768), a noble but poorly exploited species, were studied. The elements provided by its biological study and the monthly monitoring of the size frequencies were used to determine its spawning period, size of first sexual maturity, as well as the assessment of the state of its exploitation. The parameters of the von Bertalanffy equation for the whole population of *P. blennoides* of the Mostaganem coastal areas are: $L\infty$ = 39.64 (cm), K = 0.36 (year-1), t0 = -0.22 (year), $W\infty$ = 454.85 (g), Φ = 2.753. Growth parameters K and Φ are similar to other Mediterranean areas indicating average growth of the species in Mostaganem Bay.
The values of total mortality (Z = 2.114), natural mortality (M = 0.571), fishing mortality (F = 1.543) were determined and the latter seems concentrated on individuals with a size between 22 and 26 cm Lt.The total balanced biomass was estimated at 3.75 t and the yield per recruit analysis (Y / R = 25.244 g) based on current fishing effort showed that the stock is at its minimum operating limit.

Keywords: *Phycis blennoides*, reproduction, age, growth, exploitation, Mostaganem Bay, Western Mediterranean.

Résumé

La biologie et la dynamique de population de la moustelle blanche *Phycis blennoides* (Brünnich, 1768), espèce noble mais peu exploitée, ont été étudiées. Les éléments fournis par son étude biologique et le suivi mensuel des fréquences de taille ont été utilisés dans le but de déterminer sa période de ponte, sa taille de première maturité sexuelle, ainsi que l'évaluation de l'état de son exploitation.

Les paramètres de l'équation de Von Bertalanffy pour toute la population de *P. blennoides* des côtes mostaganémoises sont : L_∞ =39.64 (cm), K= 0.36 (an^{-1}), t0= -0.22 (an), W_∞= 454.85 (g), Φ= 2.753. Les paramètres de croissance K et Φ sont similaires aux autres secteurs méditerranéens indiquant une croissance moyenne de l'espèce dans la baie de Mostaganem

Les valeurs de la mortalité totale (Z=2.114), mortalité naturelle (M=0.571), mortalité par pêche (F=1.543) ont été déterminées et cette dernière semble concentrée sur les individus ayant une taille entre 22 et 26 cm Lt.

La biomasse totale équilibrée a été estimée à 3.75 t et l'analyse du rendement par recrue (Y/R=25.244 g) en fonction de l'effort de pêche actuel a montré que le stock est à sa limite minimale d'exploitation.

Mots-clés : *Phycis blénnoides*, reproduction, âge, croissance, exploitation, baie de Mostaganem, Méditerranée occidentale.

1. Introduction

Le programme VIT (1999-2011© Version 1.3, Lleonart & Salat, 1997) a été conçu pour la pêcherie méditerranéenne afin d'analyser les populations marines exploitées sur la base de données sur les captures, structurées par âges ou par tailles. Ce programme fonctionne avec des pseudo-cohortes. D'après les données de captures avec certains paramètres auxiliaires, le programme reconstruit la population grâce à des vecteurs de mortalité et l'analyse de production par recrue est basée sur la mortalité par pêche (F).

L'objectif principal du VIT est d'étudier la dynamique des populations d'un stock soumis à un effort de pêche. Plus précisément, le VIT s'efforce d'étudier le taux d'exploitation, l'interaction entre les engins de pêche et la réaction aux changements dans le mode d'exploitation, à travers la population virtuelle et l'analyse du rendement par recrue.

Dans le cas de notre étude, nous avons pris en compte les captures totales de la moustelle blanche de l'année 2016 (DPRH : Direction de la Pêche et des Ressources Halieutiques de la Wilaya de Mostaganem, 2016).

Outre les données mentionnées ci-dessus, il est nécessaire de saisir un certain nombre de paramètres déjà calculés précédemment:

- Rapport longueur-poids ($W=aL^b$).
- Pourcentage de maturité par rapport à la taille.
- Paramètres de croissance (L_∞, K, t0).
- Mortalité naturelle (M).
- Proportions des captures par l'engin de pêche.
- Mortalité par pêche (F).

2. Mortalité

La mortalité étant la disparition des individus durant un intervalle de temps donné. Plusieurs causes de diminution de l'effectif interviennent dans une population soumise à la pêche.

- d'une part, les captures résultant des activités humaines.

- d'autre part, la mort dite naturelle.

2.1. Estimation de la mortalité totale (Z)

La mortalité totale (Z) résultante de la mortalité par pêche (F) et de la mortalité naturelle (M), peut s'exprimer par l'équation :

$$\mathbf{Nt=N0\ e^{-Zt}.}$$

N0: nombre initial des Poissons à t=0;

Nt: nombre de survivants au temps t;

Z: mortalité totale;

t: temps.

Afin d'estimer Z, nous nous sommes basés sur l'analyse des fréquences de taille des captures selon la méthode de Jones & Van Zalinge (1981), méthode graphique qui trace le logarithme népérien de la prise cumulée en fonction du logarithme de la différence (L_∞-Li), Li étant la longueur de la classe i, la pente de la droite est Z/K (connaissant K la constante de l'équation de Von Bertalanffy), nous pouvons déduire Z.

2.2. Estimation de la mortalité naturelle (M)

En réalité, la mortalité naturelle englobe plus d'un seul phénomène naturel de mort physique pour les halieutes. En effet, dés qu'un animal sort de la zone où s'exerce la pêche que ce soit par migration, maladie, prédation, vieillesse ou décès, il est considéré comme mort.

Pour estimer tous ces facteurs, plusieurs méthodes empiriques peuvent être utilisées pour l'évaluation de M (Taylor, 1959; Rikhter & Evanof 1976) et font appel aux paramètres biologiques de l'espèce. Nous avons opté pour la méthode de Pauly (1980) qui se rapproche beaucoup de la réalité étant donné qu'elle utilise la température, variable physique mesurable. Ce même auteur a évalué les paramètres de croissance et de mortalité de 175 populations de Poissons vivant dans des eaux de températures moyennes, et il a pu établir la relation générale suivante avec un coefficient de corrélation élevé (r=0,85) :

$$\text{Log } M = 0{,}654 \text{ Log } K - 0{,}28 \text{ Log } L_\infty + 0{,}463 \text{ Log } T$$

K et L_∞: paramètres de l'équation de Von Bertalanffy.

T: température moyenne annuelle en degrés Celsius (C°).

2.3. Estimation de la mortalité par pêche (F)

Partant de la relation Z=M+F on déduit que F=Z-M.

4. Analyse virtuelle de la population de *P. blénnoides*

4.1. Rendement par recrue (Y/R)

Parmi les modèles d'évaluation des stocks, on distingue les modèles de production globale équilibrée qui font intervenir les biomasses et statistiques de pêche [modèle de Schaefer (1954, 1957) et Fox, 1970; *in* Sparre & Venema, 1996)] et les modèles analytiques ou structuraux qui se basent sur le concept de production par recrue, modèles développés par Beverton & Holt, (1957); *in* Sparre & Venema , 1996).

Selon Lleonart & Salat (1997), l'analyse de rendement par recrue Y/R permet une vision plus globale de la population étudiée. Le recrutement et le rendement correspondent respectivement au nombre initial d'individus, et le poids total de la capture. Ainsi, le rendement par recrue peut être obtenu en divisant la capture totale par le nombre de recrues calculées par la VPA.

5. Résultats

5.1. Estimation de la mortalité

5.1.1. Mortalité totale Z

Les valeurs de la mortalité totale (Z) estimée avec la méthode de la courbe de capture (Fig. 1) à l'aide du FISAT II (Gayanilo et *al*., 2005) sont mentionnées dans le (Tab. 1) :

Tableau 1 : Valeurs de la mortalité totale Z calculée pour *Phycis blennoides* de la baie de Mostaganem.

	Deux sexes	Mâles	Femelles
Z	2.114	3.416	2.305
r^2	0.952	0.961	0.975

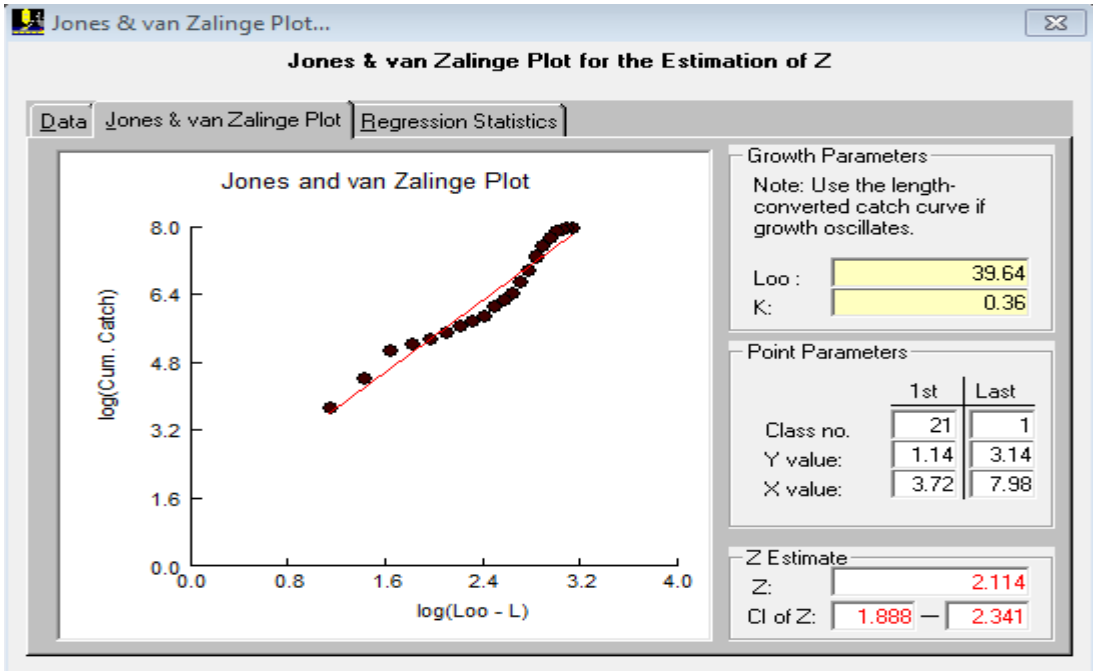


Figure 1. Courbe de mortalité totale (Z) de Jones & Van Zalinge (1981) des deux sexes chez *Phycis blennoides* (baie de Mostaganem).

5.1.2. Mortalité naturelle M

La méthode de Pauly (1980) employée pour l'estimation de la mortalité naturelle (Fig. 2) a donné les résultats mentionnés dans le Tableau 2:

Tableau 2 : Mortalité naturelle (M) de *Phycis blennoides* de la baie de Mostaganem

	Deux sexes	Mâles	Femelles
M	0.571	0.503	0.558

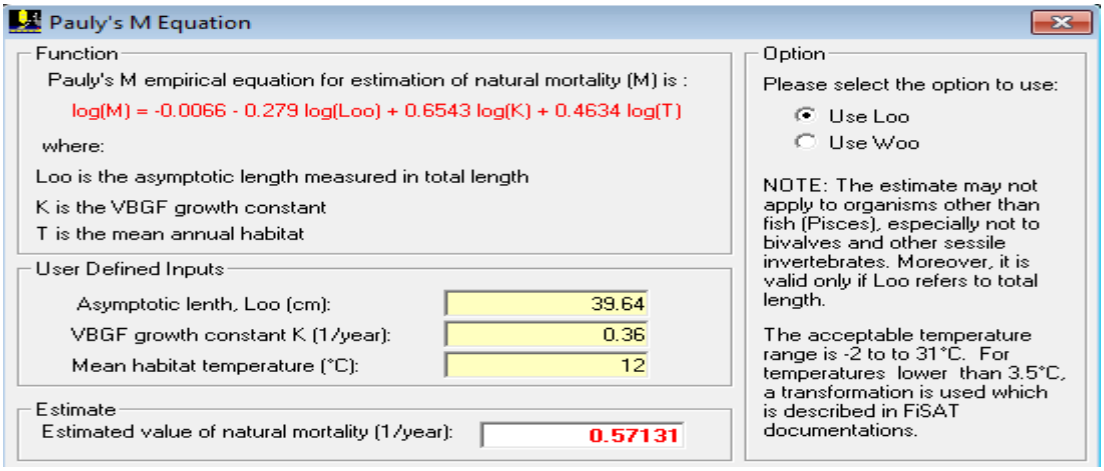


Figure 2 : Mortalité naturelle (M) établie selon la méthode Pauly (1980) chez *Phycis blennoides* de la baie de Mostaganem.

5.1.3. Mortalité par pêche F

L'estimation de la mortalité par pêche de la moustelle blanche est consignée dans le tableau 3.

Tableau 3 : Valeurs de la mortalité par pêche (F) de *Phycis blennoides* de la baie de Mostaganem.

	Deux sexes	Mâles	Femelles
F	1.543	2.913	1.747

5.2. Recrutement et sélection

La taille moyenne de recrutement L_r a été déterminée grâce à l'extrapolation du point 50% sur l'axe des abscisses et qui donne 21.23 cm Lt (Fig. 3) correspondant à 2 ans d'âge en se référant à l'équation de croissance de Von Bertallanffy obtenue pour l'espèce dans la baie de Mostaganem.

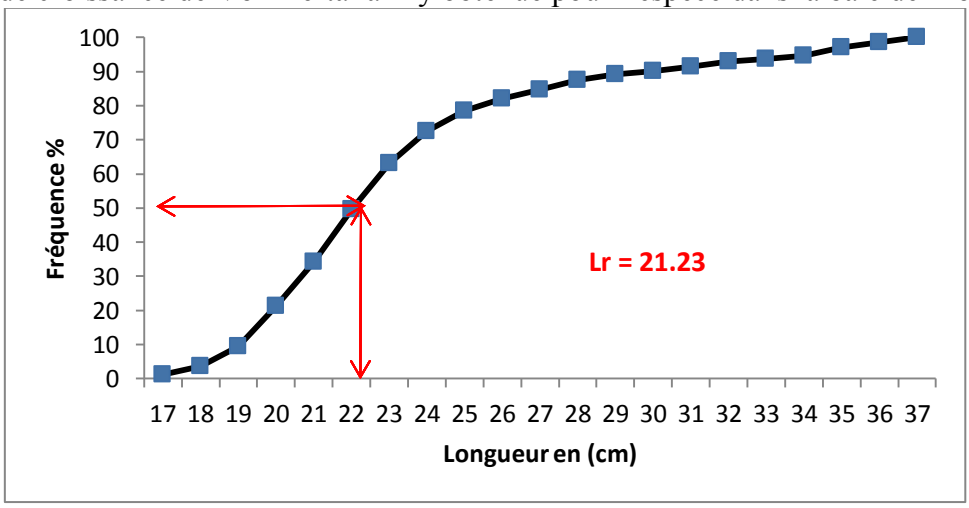


Figure 3. Courbe de recrutement chez les deux sexes de *Phycis blennoides* de la baie de Mostaganem

L'analyse de la distribution des fréquences de tailles montre que l'intégration des jeunes individus dans le stock exploitable semble importante pendant le mois de juin et juillet (Fig. 4).

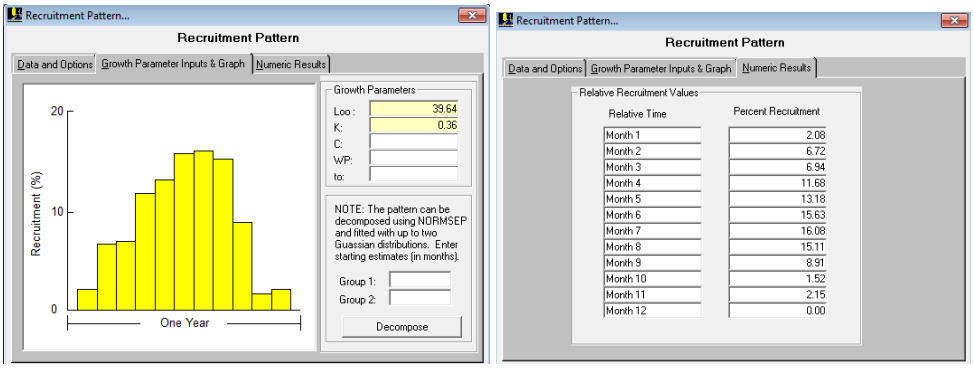


Figure 4. Probabilités de recrutement chez les deux sexes de *P. blénnoides* de la baie de Mostaganem données par le logiciel FISAT II.

La taille moyenne de sélection L_s ou taille de première capture semble être égale à 20.32 cm de Lt , 1.5 ans (Fig. 5) où 50% des individus peuvent être capturés.

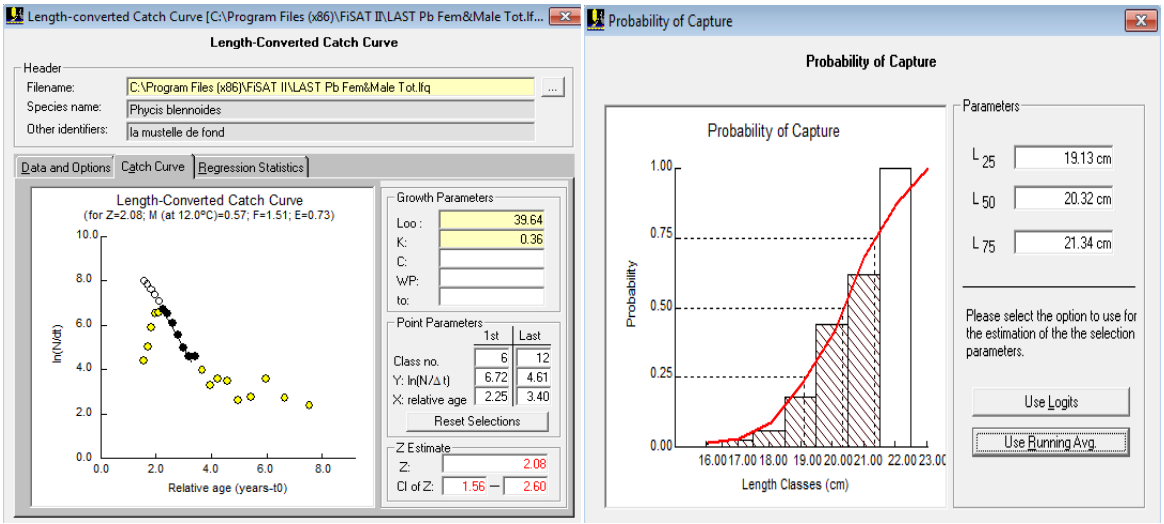


Figure 5. Probabilités de première capture de la moustelle blanche de la baie de Mostaganem

5.3. Analyse de population virtuelle (Virtual Population Analysis)

5.3.1. Données de capture de la moustelle blanche.

Les données statistiques des captures mensuelles de la moustelle blanche *Phycis blénnoides* (Brünnich, 1867) de l'année 2016 récoltées au niveau des services statistiques de la wilaya de Mostaganem, sont représentées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Production mensuelle du moustelle blanche *Phycis blennoides* (Brünnich, 1867) au port de Mostaganem de l'année 2016, (DPRH, 2016).

mois	Jan	fev	mar	avr	mai	jui	jul	aou	sep	oct	nov	dec
D	0.105	0.21	0.465	0.165	0.45	0.3	0.165	0.045	0.075	0.915	0.78	0.525

D : Débarquement en tonnes

5.3.2. Données d'entrée nécessaires pour la VPA

Les données nécessaires pour l'analyse virtuelle de population sont consignées dans le tableau 5:

5.3.3. Évaluation du rendement par recrue

Après traitement des données sur VIT, l'évolution du rendement par recrue (Y/R), la biomasse par recrue (B/R) et la biomasse du stock reproducteur SSB (Spawning Stock Biomass) en fonction du facteur d'effort de pêche de *P. blénnoides* pêché dans la baie de Mostaganem sont représentés dans la figure 6 et le tableau 6.

Tableau 5 : Données d'entrée du logiciel VIT (Virtual Populations Analysis) et de l'analyse de cohorte par la longueur et par l'âge de la population de *Phycis blennoides* de la baie de Mostaganem.

Lt (cm)	N	Clé âge longueur								
17	10	Age (ANS)	0	1	2	3	4	5	6	7
18	20	Lt (Cm)	3.02	14.09	21.81	27.20	30.96	33.59	35.42	36.69
19	50	**Equation de la croissance linéaire**								
20	100	**$Lt = 39.64\ (1-e^{-0.36(t+0.22)})$.**								
21	110									
22	130	**Relation taille poids**								
23	114	$W = 0.0036\ L^{3.1922}$								
24	80									
25	50	**Mortalités (an^{-1})**								
26	30	**Z = 2.114**								
27	22	**M = 0.571**								
28	24	**F = 1.543**								
29	14									
30	8	**Taille a la première maturité sexuelle**								
31	12									

32	12	**24.73**
33	6	
34	8	**Production annuelle**
35	22	**4.2**
36	12	
37	12	

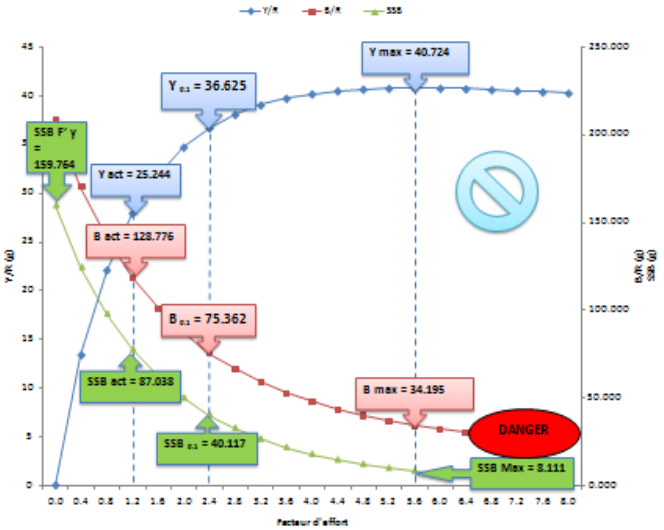


Figure 6. Évolution du rendement pondéral par recrue Y/R, par biomasse B/R et par SSB pour différentes valeurs du facteur d'effort de pêche de la moustelle blanche pêché dans la baie de Mostaganem.

Tableau 6 : Évolution du rendement pondéral par recrue Y/R, par biomasse B/R et par SSB pour différentes valeurs du facteur d'effort de pêche (F') de la moustelle blanche pêché dans la baie de Mostaganem.

Factor	Y/R	B/R	SSB
0.0	0	207.646	159.764
0.4	13.357	169.638	124.395
0.8	22.05	140.684	97.833
1.2	27.876	118.254	77.578
1.6	31.873	100.631	61.934
2.0	34.661	86.619	49.725
2.4	**36.625**	**75.362**	**40.117**

2.8	38.012	66.238	32.500
3.2	38.989	58.782	26.426
3.6	39.668	52.646	21.558
4.0	40.129	47.560	17.639
4.4	40.429	43.317	14.472
4.8	40.608	39.756	11.904
5.2	40.699	36.749	9.815
5.6	**40.724**	**34.195**	**8.111**
6.0	40.7	32.012	6.718
6.4	40.641	30.136	5.575
6.8	40.555	28.513	4.636
7.2	40.451	27.103	3.863
7.6	40.334	25.869	3.225
8.0	40.208	24.784	2.697
Pente a l'origine	**Biomasse vierge**	**Resolution**	**Facteur d'effort Max**
414.803	7889874.91	0.4	8

Il apparait de ces résultats (Tableau 6) que :

La biomasse du stock vierge est estimée à 7.89 t (facteur d'effort de pêche=0) Le facteur d'effort actuel (F'=1.2) correspond à un rendement par recrue égal à 25.244 g, une biomasse par recrue égale à 128.776 g et une biomasse du stock reproducteur égale à 87.038 g.

Le facteur d'effort (F'=5.6) correspond à un rendement par recrue maximal (MSY : Maximum Sustainable Yield ou production maximale équilibrée) égale à 40.724 g, une biomasse par recrue égale à 34.195 g et une biomasse du stock reproducteur égale à 8.111 g.

Le facteur d'effort ($F'_{0.1}$=2.4) correspond à un rendement par recrue égal à 36.625 g, une biomasse par recrue égale à 75.362 g et une biomasse du stock reproducteur égale à 40.117 g.

5.3.4. État d'exploitation de la ressource

Il ressort après traitement des données que la population de Phycis blennoides de la baie de Mostaganem est constituée comme suit (Tableau 7):

L'âge moyen des individus capturés varie ente 1.398 et 7.815 ans avec un âge moyen de 2.581 ans.

La taille moyenne des individus capturés varie de 17.498 à 37.424 cm avec une moyenne de 24.138 cm de Lt.

Le poids moyen des individus capturés varie de 30.195 à 348.954 g avec une moyenne de 151.568 g.

La taille moyenne du stock actuel est de 24.141 cm correspondant à un âge moyen de 2.616 ans et les captures les plus importantes touchent les individus compris entre 21 et 25 cm Lt avec un maximum pour la classe 23 cm (0.105 t).

Le nombre de spécimens recrutés en une année a été évalué à 291899 individus avec un maximum (n=37996) enregistré pour la classe de taille 17 cm de Lt, mais en se référant à la taille de recrutement (L_r=21.23 cm) longueur à laquelle, les jeunes poissons s'intègrent pour la première fois au stock exploitable, le nombre de recrues a été évalué à 22555.9 correspondant à une biomasse de 1422271.38 g.

La mortalité par pêche (F) analysée par classes de taille de *P.blénnoides* de la baie de Mostaganem montre une forte exploitation de la ressource entre la classe 5 et la classe 10, c'est-à-dire entre 21-26 cm de Lt avec un maximum (F=0.456) noté pour la cohorte 22 cm (Fig.7)

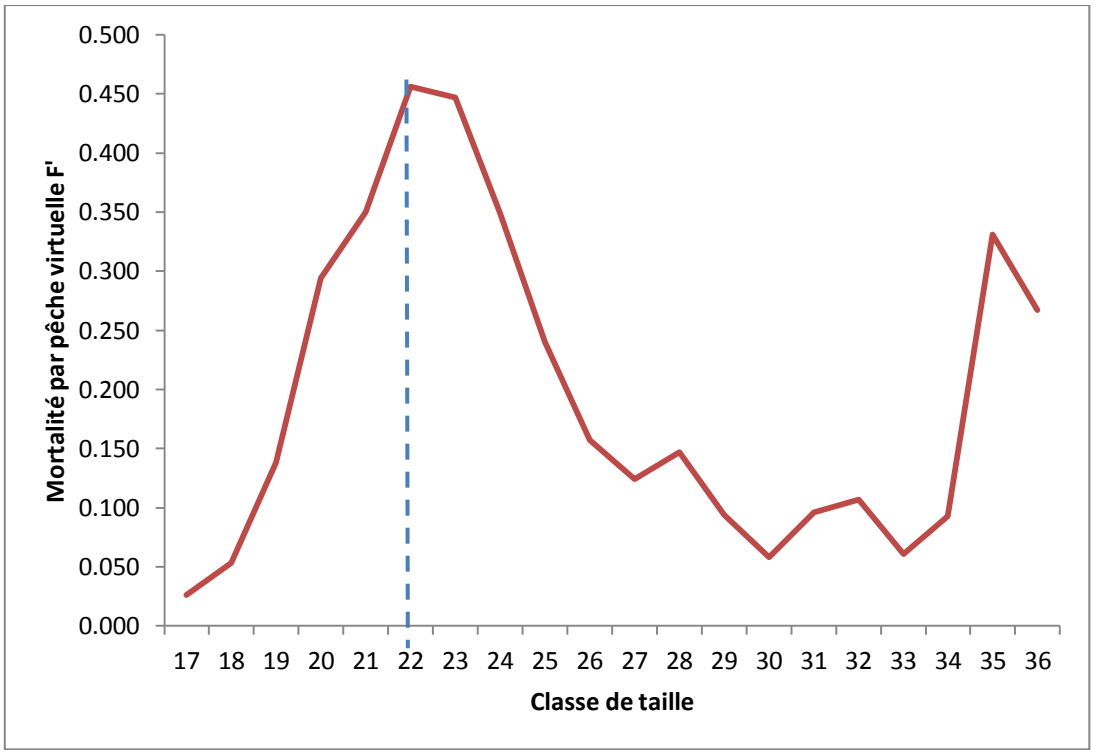


Figure 7. Mortalité par pêche (F) virtuelle par classes de taille chez Phycis blennoides de la baie de Mostaganem obtenue par analyse virtuelle de la population (VPA).

La biomasse exploitable $_{(Bmean)}$ est évaluée à 4.893 t et la biomasse du stock reproducteur (SSB) représente 3.307 t.

Tableau 7: Principaux résultats de l'analyse virtuelle de la population du Phycis blennoides de la baie de Mostaganem obtenus par le logiciel VIT.

Class	Catch in Weight	VPA-Numbers	VPA-Weight		VPA-Mortalities	
	Total catch	Initial number	Initial Weight	Mean Weight	Z	Total F
1	3568.99	**37996.83**	1044513.85	138710.93	0.597	0.026
2	8535.34	35255.51	1164999.54	160614.16	0.624	0.053
3	25273.9	32479.04	1277353.22	182530.71	0.709	0.138
4	59357.71	29450.86	1366267.75	201755.19	0.865	0.294
5	76102.18	25974.82	1410002.59	217182.04	0.921	0.350
6	**104089.1**	**22555.9**	**1422271.38**	228169.31	**1.027**	**0.456**
7	104993.24	19095.99	1389399.49	234969.95	1.018	0.447
8	84269.41	16026.56	1337339.92	241194.1	0.920	0.349
9	59918.62	13535.56	1288144.04	249295.61	0.811	0.240
10	40696.21	11540.53	1246124.18	259632.23	0.728	0.157
11	33619.55	9894.18	1206403	270783.46	0.695	0.124
12	41135.99	8438.43	1156729.72	279610.27	0.718	0.147
13	26810.36	7054.12	1082644.1	286588.67	0.665	0.094
14	17053.95	5879.17	1006393.35	293766.03	0.629	0.058
15	28385.77	4855.18	923658.33	296982.85	0.667	0.096
16	31386.32	3866.26	814696.36	293055.23	0.678	0.107
17	17302.12	2968.47	690666.1	285612.05	0.632	0.061
18	25344.49	2229.28	571016.57	272200.36	0.664	0.093
19	76337.91	1555.26	437343.52	230680.22	0.902	0.331
20	45512.47	846.64	260682.81	170775.19	0.838	0.267
21	49481.68	401.02	134865.4	98963.37	1.071	0.500
Current Stock Mean Age	2.616 an	Current Stock Critical Age	2.029 an	Virgin Stock Critical Age	2.743 an	e, D 37531

Current Stock Mean Length	24.141 cm	Current Stock Critical Length	22 cm	Virgin Stock Critical Length	26 cm	
Catch mean age	2.581 an	Turnover, D/Bmean	76.700	Mean Biomass, Bmean	4893071.92 g	
Catch mean length	24.138 cm	Number of recruits, R	37996.83	Spawning Stock Biomass, SSB	3307168.28 g	

L'âge et la longueur critiques pour le stock vierge sont respectivement 2.74 an et 26 cm de Lt, tandis que pour le stock actuel la biomasse maximale (1422271.38 g) s'observe à 22 cm de Lt avec un âge de 2.029 ans.

Le taux de renouvellement annuel ou « Turnover » de la ressource a été obtenue à partir du rapport entre la biomasse totale équilibrée (D) et la biomasse moyenne $_{(Bmean)}$ et a été estimé à 76.70% indiquant un bon taux de renouvellement du stock.

5.3.5. Biomasse totale équilibrée

La compilation de toutes les données introduites dans le logiciel VIT (Lleonart & Salat, 1997) nous a permis de donner un aperçu global sur l'état de cette ressource (Fig. 8).

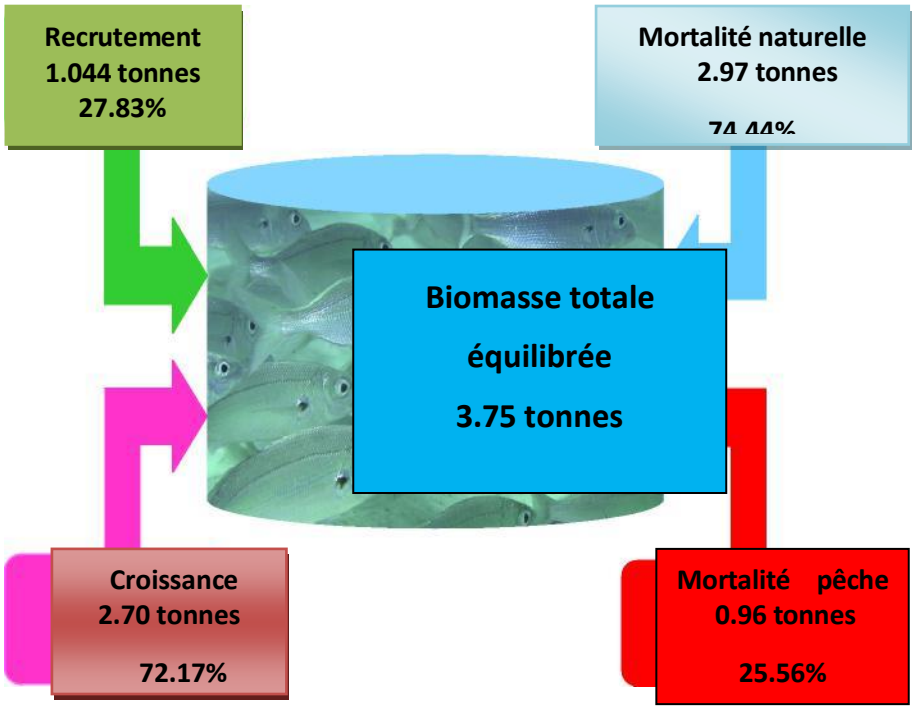


Figure 8. Schéma représentant l'état du stock de la moustelle blanche dans la baie de Mostaganem obtenue par analyse virtuelle de la population (VPA).

Les résultats de l'analyse de la population de la moustelle blanche de la baie de Mostaganem font ressortir les points suivants :

-la mortalité par pêche touche en majorité les individus dont la taille est comprise entre 21 et 26 cm.

-le rendement par recrue obtenu par l'effort de pêche déployé actuellement est égal à 25.244 g, alors qu'on pourrait avoir un rendement maximal (MSY=40.727 g) avec un effort moindre et cela nous laisse avancer que le stock du *Phycis blennoides* de la baie de Mostaganem est à sa limite minimale d'exploitation.

6. Discussion

La mortalité naturelle (M) de la moustelle blanche *P. blénnoides* a été évaluée à 0.571 ce qui est presque semblable aux résultats de Ragonese *et al.,* (2004) dans la Mer Tyrrhénienne Espagne, en revanche Campillo *et al.,* (1992) la notent à 0.7 dans le Golf du lion France, Cohen *et al*., (1990) à 0.22 en Mer Égée Grèce. Ces différences sont dues sans doute aux facteurs environnementaux qui diffèrent d'une région à une autre.

L'absence totale de travaux concernant la dynamique des populations de ce gadidé en Algérie nous laisse juste les résultats de nos travaux comme seule référence locale. Nous avons essayé de décrire la dynamique de ce Poisson au niveau de la baie de Mostaganem. Toutefois, il apparait après l'analyse des deux populations que la biomasse totale équilibrée D est de l'ordre de 19.53 tonnes dans la mer Égée en Grèce et elle n'est que de 3.75 tonnes dans la baie de Mostaganem et ces différences sont sans doute dues au biotope qui change et aux données d'entrée de l'analyse virtuelle (K, t0, L, Maturité, tonnage annuel, a, b....) ainsi qu'aux techniques et engins de pèches utilisés.

La mortalité par pêche (F) semble en étroite relation avec l'effort de pêche, car pour la baie de Mostaganem, elle est égale à 1.543 contre seulement 0.13 pour le golf du lion, 1.15 en mer Tyrrhénienne Espagne et 2.44 pour la Grèce en mer Egée (Tableau 8).

La biomasse totale à l'équilibre (Fig. 8) de la moustelle blanche de la région de Mostaganem a été estimée à (3.75 t), les gains sont représentés par l'apport de la croissance pondérale qui participe avec 72.17% (C=2.7 t), tandis que le recrutement n'apporte que (R=1.044 t) soit 27.83%. En contrepartie, les pertes sont représentées par la mortalité naturelle (M=2.97 t) soit 74.44% et la mortalité par pêche (F=0.96 t) soit 25.56 %.

Le taux de renouvellement calculé (turnover=76.70%) pour le stock de ce gadidé à Mostaganem est presque le même que celui trouvé par Ragonese (2004) travaillant sur la même espèce en Espagne (turnover=74.61%) indiquant un bon renouvellement annuel des deux stocks.

La capture par pêche est importante pour les individus compris entre 15 et 20 cm et les moustelles de la baie de Mostaganem semblent être capturés (L_s=21.23 cm) tardivement comparés à ceux du golf du lion en France qui sont capturés à 16.70 cm (Campillo et al., 1992).ou espagnoles 18.80 cm (Ragonese et al., 2004). Rappelons que le plateau continental occidental Algérien ne fait que 10 km de large (Rosfelder, 1955 ; Maurin, 1962 et Leclaire, 1972)

Tableau 8 Mortalité (totale, naturelle et par pêche) et taille de sélection(Lr), rendement par recrue, effort de pêche optimale et maximale, chez *Phycis blennoides* dans différentes régions

Localité	Auteurs	Z	M	F	Lr	F msy	F opt	Y'/R
Golf du lion France	Campillo et *al.*, 1992.	0.83	0.7	0.13	16.7	1.05	0.84	47.4
Mer Tyrrhénienne Espagne	Ragonese et *al.*, 2004.	1.71	0.56	1.15	18.8	0.84	0.66	45.3
Mer Égée Grèce	Cohen et *al.*, 1990.	2.84	0.22	2.44	23.1	0.63	0.48	42.6

Baie de Mostaganem	Présente étude	2.114	0.571	1.543	21.23	5.6	2.4	40.72

Conclusion

Selon Fisher, (1987), La moustelle blanche est une espèce dérmersale bentho-pélagique, elle vit sur les fonds vaseux ou sablo-vaseux entre 80 et plus de 1000 m. Mais elle est plus fréquente entre 400 et 800 m sur les côtes du Maghreb. En hiver, elle fréquente seul ou en petits groupes, les fonds sableux ou vaseux. En été, elle affectionne les failles sombres dans lesquelles elle se cache le jour. Les jeunes sont plus côtiers et vivant sur le plateau continental tandis que les adultes migrent le long de la période de ponte. Le faible taux de recrutement (27.83%), nous laisse conclure que l'activité du chalut dans la baie de Mostaganem est malheureusement focalisée sur des nurseries et des frayères non seulement de notre espèce, mais de plusieurs espèces démersales. Pour l'effort de pêche actuel dans notre zone d'étude (F'=1, F=1.543), le rendement par recrue est égal à 25.24 g il est inferieur a celui signalé par Ragonese (2004) qui le note à 45.3 g (F=1.15) en Mer Tyrrhénienne Espagne.

Pour exploiter la ressource de façon optimale et raisonnée, il serait préférable d'augmenter l'effort de pêche actuel si ce n'est de le doubler (F'=2.4, F=1.12) du facteur d'effort actuel, pour atteindre un rendement par recrue maximal (MSY : Maximum Sustainable Yield) égal à 40.72g. Ce même constat a été observé par Cohen (1990) sur la même espèce et aussi confirmé par les résultats obtenus par Nouar, (2001) ; Mouffok, (2008) travaillant sur la crevette *Aristeus antennatus* respectivement de la baie d'Alger et la baie d'Oran où cette diminution de l'effort de pêche améliorerait le rendement par recrue.

Références bibliographiques

BEVERTON, R.J.H., ET HOLT, S. J. (1957). - On the dynamics of exploited fish populations. *U.K. Min. Agric. Fish*., *Fish. Invest* (Ser. 2) 19 : 1-533.

BRUNNICH, M. T. 1768. Ichthyologia Massiliensis sistens piscium descriptiones eorumqve apud incolas nomina. Accedunt spolia maris Adriatici. - pp. 16 + 110 pp.. Hafniae & Lipsiae. (Roth & Proft).

CAMPILLO, A.C., MALDONADO, A., AND MAUFFRET, A., 1992. Stratigraphic and tectonic evolution of the western Alboran Sea: Late Miocene to Recent.*Geo-Marine Letters* 12:165–172. COHEN D. M., INADA T., IWAMOTO T., *et* SCIALABBA N., 1990 - FAO Species catalogue. Gadiform fishes of the world. *Fisheries Synopsis* 125/10: 442 pp.

FISCHER W., BAUCHOT M. L& SCHNIEDER M., 1987- Fiches d'identification des espèces pour les besoins de la pèche. Méditerranée et mer noire (*Révision 1. Zone de pèche. 37). FAO (Ed), Vertébrés, Volume II : 761-1530.*

FOX, W.W., 1970 - An exponential surplus yield model for optimising exploited fish populations. Trans. Amer. Fish. Soc. 99 (1) : 80-88.

GAYANILO JR FC, SPARRE P, PAULY P., 2005. FAO-ICLARM stock assessment tools (FiSAT II). Revised version. User's manual. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Available at http://www.fao.org/docrep/ 009/y5997e/y5997e00.htm.

JONES, R., ET VAN ZALINGE, N.P. 1981 - Estimations of mortality rate and population size for shrimp in Kuwait waters. *Kuwait Bull. Mar. Sci*., 2 : 273-288.

LECLAIRE L. 1972. — La sédimentation holocène sur le versant méridional du Bassin Algéro-Baléares (Précontinent algérien). Muséum national d'Histoire naturelle,Paris, 391 p. (Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle, Sér. C Sciences de la Terre (1950-1992) ; 24).

LLEONART, J., ET SALAT, J. (1997). - VIT : software for fishery analysis. User's manuel. En ligne : http//www.faocopemed.org/es/activ/infodif/vit.htm [cité en 1997].

MAURIN, C., ET LEE, J. P. (1960). - Note sur la présence de *Sardinella aurita* C. V. dans le golfe du Lion. *Congr. Sci. Mond. Biol. Sardine*, sept. 1959, EP 24, 1-6.

MOUFFOK, 2008- Eléments d'approche sur la reproduction, la croissance, la répartition, et la pêcherie de la crevette rouge, *aristeus antennatus* (Risso, 1816) de la frange côtière oranaise. *These de Doctorat*. *Univ Es-senia* ; Oran : 124 p.

NOUAR A. 2001. Bio-écologie de *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) et de *Parapeneaeus longirostris* (Lucas, 1846) des côtes algériennes. Rap. CIESM, 36 : 304.

PAULY, D. (1980). - On the interrelationships between natural mortality, growth parameters and mean environmental temperature in 175 fish stocks. *J. Cons. CIEM*, 39 (3) : 175-192.

RAGONESE, S S. GANCITANO, M. CAMILLERI, D. LEVI _ 2004 An integrated analysis of size at age data of *Sciaena umbra* L. 1758 (Oscteichthyes, Sciaenidae) of the central Mediterranean Sea Biol. Mar. Mediterr., 11 (2004), pp. 612-616.

RAGONESE, S., M. ZAGRA, L. DI STEFANO AND M.L. BIANCHINI. – 2001. Effect of codend mesh size on the performance of the deepwater bottom trawl used in the red shrimp fishery of the Strait of Sicily. *Hydrobiologia*, 449: 279-291.

RIKHTER, V.A., & EFANOV,V.N., 1976. On one of the approaches to estimation of natural mortality of fish populations. *ICNAF Res. Doc*.,76/VI/8:12p.

ROSFELDER, A. (1955). - Carte provisoire au 1/500.000ème de la marge continentale algérienne. Note de présentation. *Pub. Ser. Carte Géol. Algérie*, n° 5 : 57-106.

SCHAEFER, M.B., 1954 - Some aspects of the dynamics of of populations important to the management of the commercial marine fisheries. *Bull. I-ATTC*, 1 (2) : 25-56.

SCHAEFER, M.B., 1957 – A study of the dynamics of the fishery for yelliwfin tuna in the eastern tropical Pacific Ocean. *Bull. I-ATTC*, 1 (2) : 247-268.

SPARRE, P., & VENEMA, S.C., 1996. Introduction à l'évaluation des stocks des poissons tropicaux. Première partie: Manuel. FAO *Doc.Tech.sur les Pêches*, 306(1),Rome.401p.

TAYLOR, C.C., 1959, Cod growth and temperature. *J. Cons. perm. int. Explor. Mer,* 23(3): 366-370.

VON BERTALANFFY, L., 1938-A quantitative theory of organic growth. *Hum. Biol*., 10, 181-213.

Biodiversité fongique de l'eau de mer et de la moule d'aquaculture *mytilus galloprovincialis* (lamarck, 1819) de l'ouest algérien.

Benmessaoud Nadjet [ab], Ait Mohamed Amer Liliya [ab], Tikour Senouci [b]

(a) Laboratoire Réseau de Surveillance Environnementale LRSE, Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Oran1 Ahmed Ben Bella, Algérie.
(b) Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département Sciences de la Mer et de l'Aquaculture, Université Abdel Hamid Ibn Badis Mostaganem, Algérie.
bio_nadjet@yahoo.fr .

Résumé

L'objectif de ce travail est d'inventorier quelques micromycètes présents dans les zones de conchylicultures situées dans le littoral Ouest Algérien. Il s'agit de : Stidia, dans la wilaya de Mostaganem et de Kristel, dans la wilaya d'Oran. Ces deux sites, ont été choisis en raison de la présence de fermes conchylicoles. Deux types de prélèvements, ont été réalisés: le premier, concerne la moule, *Mytilus galloprovincialis* alors que le second concerne l'eau de mer. Deux échantillonnages, à deux mois d'intervalle, ont été effectués pour chaque type de prélèvement, pendant une durée de quatre mois (Avril 2018 - Juillet 2018). Un total de 139 souches ont été isolées, dont on a pu identifier, 10 genres différents : *Penicillium* spp. (28,78%), *Scopulariopsus brevicaulis* (10,07%), *Cladosporium* sp. (4,32%), *Alternaria* sp. (3,6%), *Ulocladium* sp. (1,44%), un genre de moisissure non identifié (9,35%), *Rhodotorula sp.* (9,35%) et trois autres genres de levures non identifiées (33,09 %). Les résultats montrent que, le site de Stidia, présente une microfonge plus importante que celle du site de Kristel, sur les prélèvements d'eau de mer ainsi que sur la moule « *Mytilus galloprovincialis ».* Selon la littérature, les genres fongiques à savoir, *Penicillium, Alternaria* et *Cladosporium* sont incriminés dans des pathologies humaines et animales.

Mots clés : Microfonge, micromycètes, conchylicultures, Stidia, Kristel, *Mytilus galloprovincialis,* eau de mer.

1. Introduction

La production et la consommation mondiale de mollusques bivalves ont significativement augmenté au cours des dernières années pour passer d'un total d'environ 10,7 millions de tonnes en 1999, d'origine tant sauvage qu'aquacole, à 14 millions de tonnes en 2006 (Statistiques des pêches de la FAO). La mytiliculture a pris naissance en Europe et s'y est développée de façon importante. Aujourd'hui, les principaux producteurs sont la Chine, l'Espagne, les Pays-Bas, la France, la Nouvelle-Zélande (FAO, 2009). D'une façon générale l'aquaculture a connu un fort développement dans les dernières décennies et en particulier la mytiliculture car elle demande souvent des investissements inférieurs à d'autres types d'élevage (Crawford et *al.,* 2003).
Le développement du transport par voie aérienne et maritime ainsi que celui des techniques de conservation ont de plus permis aux consommateurs de différentes parties du monde d'apprécier des mollusques bivalves produits dans des eaux lointaines. Ces développements de la distribution et du commerce ont à leur tour fait apparaître de nouveaux défis en matière de protection des consommateurs, en particulier en ce qui concerne la salubrité des mollusques bivalves par rapport aux micro-organismes pathogènes, surtout que la plupart des espèces de coquillages sont consommées de préférence vivantes ou crues.

Au niveau mondial, les principaux risques liés à la consommation de coquillages proviennent des contaminations microbiologiques des eaux dans lesquelles ils se développent. A la différence des poissons et des crustacés, les mollusques bivalves d'intérêt économique ne sont pas nourris avec des aliments composés. C'est l'eau qui joue le

rôle de source alimentaire. En effet, en raison de leur mode de nutrition par filtration de l'eau de mer, ces mollusques sont susceptibles d'être contaminés par des substances toxiques naturelles ou issues de pollutions anthropiques, présentes dans leur environnement. La consommation de ces organismes expose donc à un risque d'intoxication alimentaire non négligeable. Les premiers épisodes de toxicité sont apparus dans les années 1990 (Marcaillou-LeBaut et Amzil, 1995), et ils restent aujourd'hui encore d'actualité. Dans ce contexte, l'hypothèse d'une contamination par des toxines fongiques produites par des micromycètes se développant en milieu marin a été proposée. Différents travaux ont été entrepris afin d'éprouver cette hypothèse (Sallenave-Namont et *al.*, 2000 ; Grovel et *al*., 2002 ; Mohamed-Benkada et *al*., 2006 ; Ruiz et *al.,* 2007).

L'objectif du présent document est d'évaluer la qualité des zones de productions conchylicoles. Cette étude concerne donc, la recherche systématique de la microfonge présente dans les coquillages et plus précisément dans les moules « *Mytilus galloprovincialis »* en culture et dans leur environnement immédiat (eau de mer) provenant précisément de deux fermes conchylicoles situées dans le littoral Ouest Algérien, donnant un aperçu de la biodiversité de la flore fongique marine.

2- Matériels et méthodes

Afin d'étudier la présence de moisissures dans l'environnement marin, deux types de prélèvements ont été réalisés : le premier concerne la moule, *Mytilus galloprovincialis* le deuxième de l'eau de mer. Les prélèvements ont été effectués au niveau de deux sites différents : Stidia dans la wilaya de Mostaganem et Kristel dans la wilaya d'Oran à raison d'un échantillonnage tous les 2 mois dans chaque site pendant une durée de 4 mois (avril 2018 à juillet 2018).

Les échantillons d'eau de mer ont été placés dans des flacons stériles. Les moules ont été récoltées sans précaution particulière, elles ont été mises dans des sachets en plastique. L'ensemble des échantillons ont été stocké à 4°C. Le traitement au laboratoire pour l'isolement des champignons se fait le plus tôt possible.

2-1. Traitement et mise en culture des échantillons

Eau de mer : un volume de 5ml d'eau de mer a été étalé sur la gélose Sabouraud -Chloramphénicol à l'aide d'une pipette Pasteur incurvée en râteau dans une grande boite de pétri en verre (20 cm de Ø) (Matallah- Boutiba, 2009).

Moules : Les moules ont été lavés avec de l'alcool à 70 %, puis ont été bien rincées avec de l'eau distillé stérile. À leur ouverture, la chair a été récupérée et a été bien lavée à l'eau distillée stérile puis broyée. Après centrifugation du broyat à 2500 tr/ min pendant 15 mn, 1 ml du surnageant a été ensemencé sur le milieu Sabouraud-chloramphénicol (Mohamed-Benkhada, 2006).

Les boîtes sont ensuite placées dans un incubateur à 27°C jusqu'à l'envahissement total de la surface de la gélose (8 jours). Dès leur apparition, les colonies fongiques d'aspect macroscopique différent ont été isolées et repiquées sur des boites de pétri de 9 cm de Ø contenant le même milieu de culture «Sabouraud-Chloramphénicol). L'incubation se fait à 27°C pendant quelques jours (24h à 48h pour les levures et 8 jours pour les moisissures). Les souches pures obtenues sont identifiées.

L'identification des souches pures ainsi obtenues a été réalisée par des observations macroscopiques et microscopiques des colonies (Gari et *al.,* 2001). L'identification biochimique a été également utilisée pour la recherche des levures.

La fréquence des espèces : L'occurrence des espèces fongiques a été calculée selon Dajoz (1983) en utilisant la formule suivante: **Fo = Ta.100/TA**

Où : Ta = nombre d'échantillons dans lesquels un taxon s'est produit.

TA = nombre total des échantillons.

Les valeurs ont été considérées selon la classification suivante: < 10% = rares, 10-25% = de basse fréquence, 25 < 35% = fréquentes, 35 < 50% = abondantes, et > 50% = très abondantes.

3- Résultats et discussion

3-1. Répartition fongique globale

Tableau 1: Répartition fongique globale

	Sites de prélèvement			Stidia « Mostaganem » et Kristel « Oran »			
	Types de prélèvement			Eau de mer		Moule *Mytilus galloprovincialis*	
	Mois du prélèvement			Avril	Juillet	Avril	Juillet
Les espèces fongiques	Total	Pourcentage %	Fréquence %				
Penicillium spp.	40	28,78	100	13	6	13	8
Cladosporium sp.	6	4,32	62,5	3	0	2	1
Ulocladium sp.	2	1,44	25	0	0	2	0
Scopulariopsus brevicaulis	14	10,07	75	4	0	7	3
Alternaria sp.	5	3,6	62,5	2	0	2	1
Moisissure non identifié	13	9,35	75	4	6	3	0
Rhodotorula sp.	13	9,35	75	5	1	4	3
Levures non identifiées	46	33,09	100	18	8	13	7
Total	139	100	/	49	21	46	23

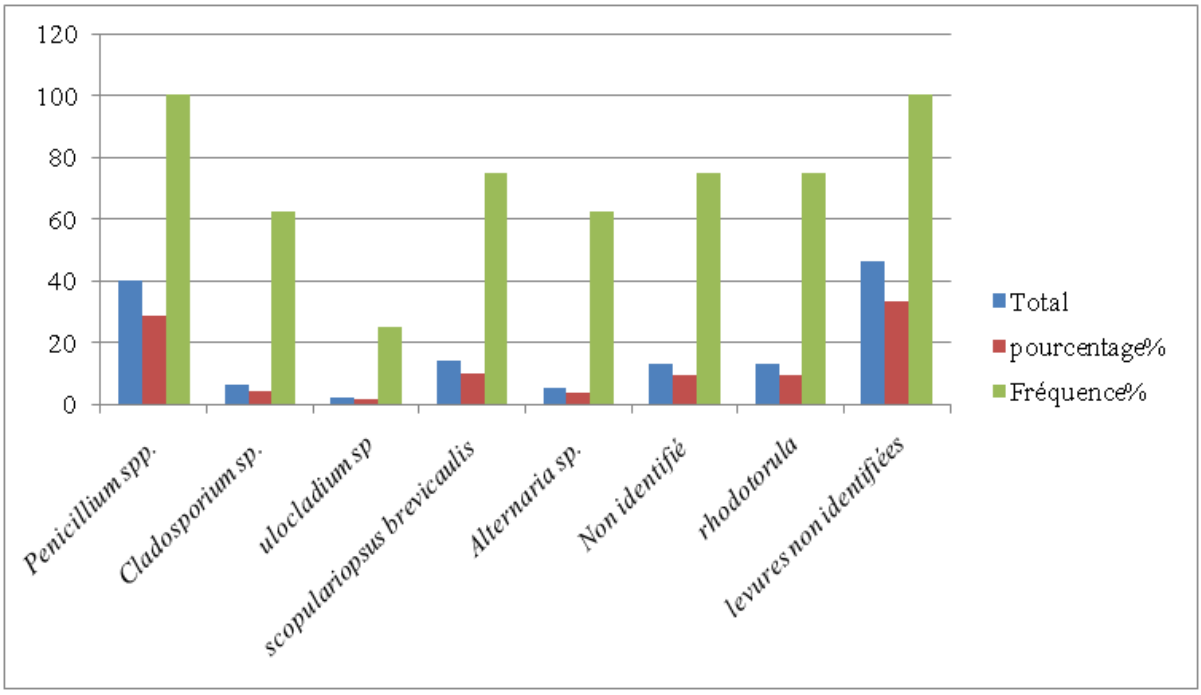


Figure 1 : Fréquence d'apparition des espèces fongiques dans les deux sites de prélèvement.

Les résultats représentés sur le tableau 01 et la figure 01 révèlent que les genres fongiques de fréquence d'occurrence la plus élevée est *Penicillium spp.avec* les levures non identifiées (Groupe 1 = 100 %), comme genres très abondants, ils ont été enregistrés dans 8 échantillons sur 8; *Scopulariopsus brevicaulis, Rhodotorula sp* et l'espèce de moisissure non identifiée (Groupe 2 = 75 %) étant des espèces très abondantes enregistrées dans 6 échantillons sur 8 ; *Cladosporium sp.* avec *Alternaia sp.* (Groupe 3 = 62,5 %) et comme étant aussi des espèces très abondantes, isolées dans 5 échantillons sur 8 ; *Ulocladium sp.* (Groupe 4 = 25 %) comme espèce à basse fréquence, a été enregistrée dans 2 échantillons sur 8 (Fig.01).

3-2. Répartition fongique en fonction des sites

3-2-1. Stidia « Mostaganem »

Tableau 2 : Répartition fongique dans le site de Stidia.

	Sites de prélèvement		Site de Stidia « Mostaganem »			
	Types de prélèvement		Eau de mer		Moule *Mytilus galloprovincialis*	
	Mois du prélèvement		Avril	Juillet	Avril	Juillet
Les espèces fongiques	Total	Pourcentage %				
Penicillium spp.	22	27,5	8	3	7	4
Cladosporium sp.	3	3,75	1	0	1	1
Ulocladium sp.	1	1,25	0	0	1	0
Scopulariopsus brevicaulis	9	11,25	3	0	4	2
Alternaria sp.	3	3,75	1	0	1	1
Moisissure non identifiée	6	7,5	2	3	1	0
Rhodotorula sp.	8	10	3	0	2	3
Levures non identifiées	28	35	11	4	8	5
Total	80	100	29	10	25	16

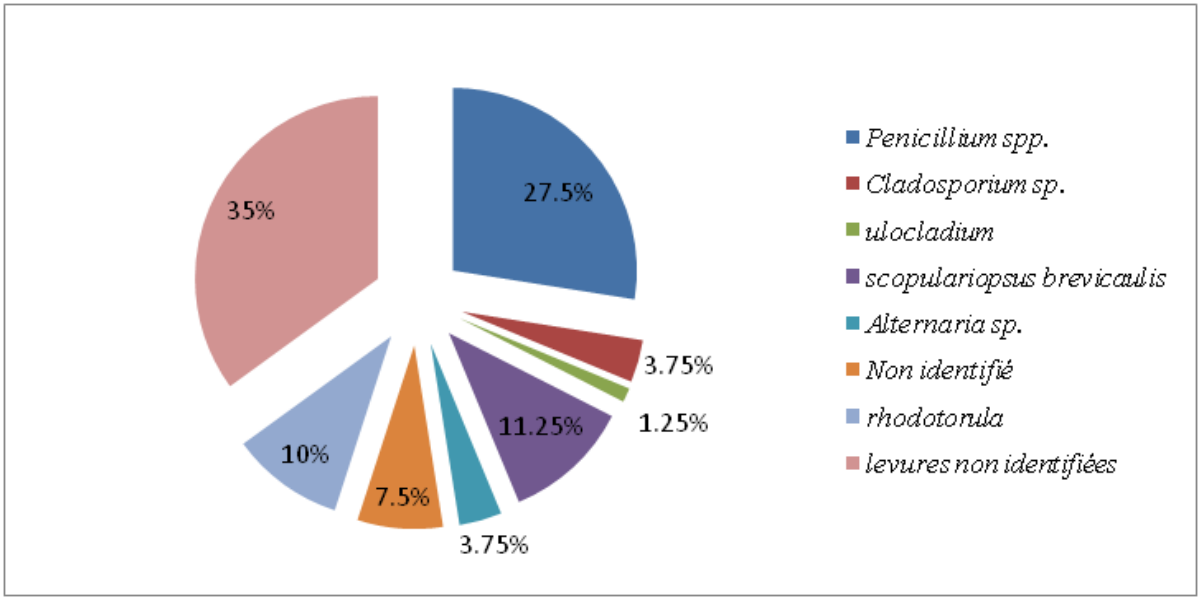


Figure 2: Répartition fongique dans le site de Stidia « Mostaganem ».

3-2-2. Kristel « Oran »

Tableau 3 : Répartition fongique dans le site Kristel « Oran ».

	Sites de prélèvement		Site de Kristel « Oran »			
	Types de prélèvement		Eau de mer		Moule *Mytilus galloprovincialis*	
	Mois de prélèvement		Avril	Juillet	Avril	Juillet
Les espèces fongiques	Total	Pourcentage %				
Penicillium spp.	18	30,5	5	3	6	4
Cladosporium sp.	3	5,08	2	0	1	0
Ulocladium sp.	1	1,69	0	0	1	0
Scopulariopsus brevicaulis	5	8,47	1	0	3	1
Alternaria sp.	2	3,39	1	0	1	0

Moisissure non identifiéé	7	11,86	2	3	2	0
Rhodotorula sp.	5	8,47	2	1	2	0
Levures non identifies	18	30,5	7	4	5	2
Total	59	100	20	11	21	7

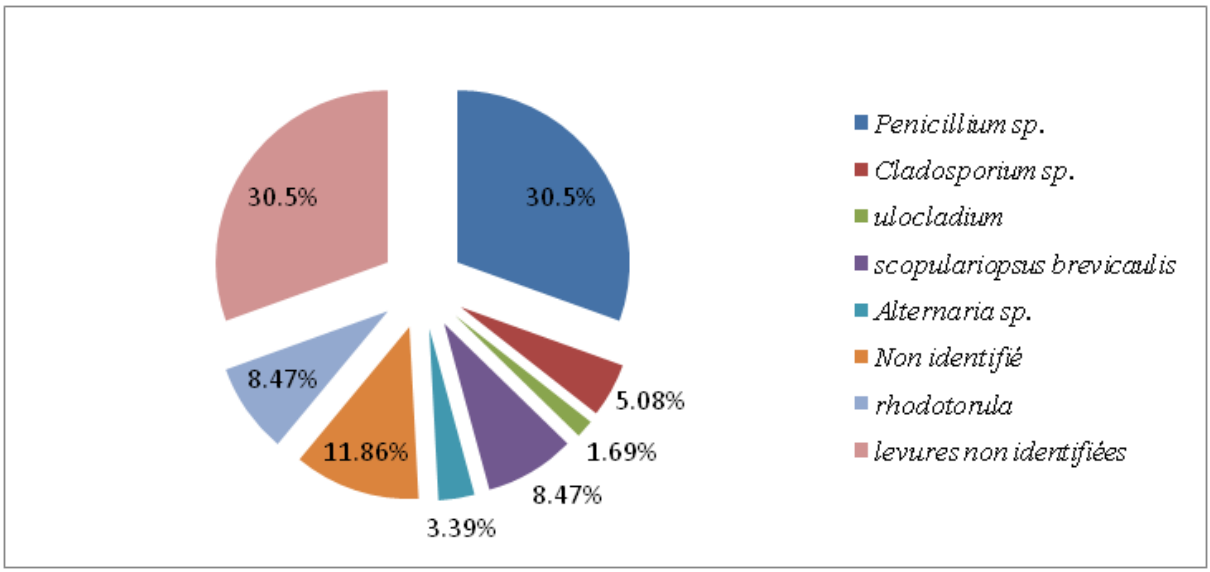


Figure 3: Répartition fongique dans le site de Kristel « Oran ».

Selon les résultats obtenus, on remarque que le plus grand nombre des champignons a été enregistré dans les échantillons recueillis à partir du site de Stidia « Mostaganem » avec un nombre de 80 souches par rapport au site de Kristel « Oran » dont le nombre fongique était de 59 souches seulement, et cela pour les deux types de prélèvement « Eau de mer et la moule *Mytilus galloprovincialis* » (Tableaux 02 et 03).

Le genre *penicillium* et les levures ont été révélés dans les deux sites étudiés Stidia et Kristel et dans les deux types de prélèvements. La présence dominante et continue du genre *Penicillium,* avec 40 isolats au cours de l'ensemble de la période d'étude choisie de quatre mois, peut être due au fait que ce genre peut survivre dans des conditions variées de température et de salinité, il constitue donc un genre résistant aux variations des états hostiles du milieu marin.

3-3. Répartition fongique en fonction de types de prélèvement

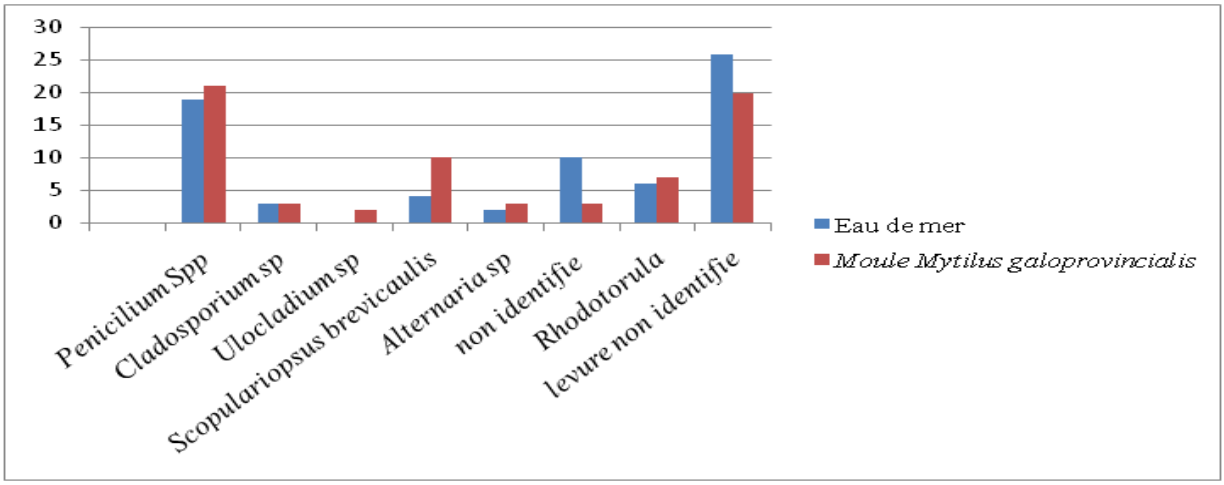


Figure 4: Répartition fongique en fonction de types de prélèvements.

En comparant la répartition des champignons dans les deux types de prélèvements, on déduit que c'est au niveau de la moule « *Mytilus galloprovincialis* » que le plus grand nombre d'effectifs a été constaté et cela presque pour toutes les espèces fongiques à part la moisissure non identifiée et les levures non identifiées, où leur nombre était plus important dans l'eau de mer. En ce qui concerne le *Cladosporium*, on remarque que le nombre fongique est identique pour les deux types de prélèvement. Pour *Ulocladium* sa présence était signalée uniquement dans la moule et absence totale dans l'eau de mer (Fig.04).

À la lumière des résultats issus des analyses effectuées sur nos échantillons, nous constatons que, d'une manière générale, le genre *Penicillium* est le plus abondant. Quant aux genres *Cladosporium sp.*, *Scopulariopsus brevicaulis, Alternaria sp.* et *Rhodotorula sp.,* sont fréquents mais moins importants. Pour ce qui est d'*Ulocladium,* il est même rare. Nous remarquons par ailleurs, en observant le nombre d'espèces isolées, une plus grande diversité de la faune fongique en Avril qu'en Juillet. Cela peut être du à la température sachant qu'en avril la température tourne au tour de 21°C et 32°C qui sont des températures adéquates au développement des espèces fongiques alors qu'en Juillet les températures sont plus élevées, en plus de ça le facteur salinité joue également un rôle dans la répartition fongique, car en ce mois d'avril 2018, des précipitations importantes ont été enregistrées dans les deux wilaya de Mostaganem et d'Oran et ce débit élevé des pluies ont un impact direct sur la salinité des eaux marines ce qui peux expliquer cette différence de répartition entre les deux mois de prélèvement, en plus les fortes pluies peuvent ramener et conduire une importante quantité de matière organique issue des différents rejets urbains ce qui peut avoir un impact directe sur la contamination fongique du milieu marin.

Sur le plan bibliographique, notons que la littérature révèle d'importantes études en rapport avec notre recherche, réalisées à travers différentes régions du monde et publiées entre les années 1990 et 2000. Une première étude concerne la flore fongique d'eau de mer et de sédiments prélevés en Mer du Nord. Les genres observés sont, par ordre décroissant : *Penicillium, Ulocladium, Scopulariopsis, Cladosporium, Trichoderma, Paecilomyces, Fusarium* et *Acremonium* (*Shaumann*, 1993). Une seconde étude est celle de *Matallah- Boutiba* réalisée en 2008 évoquant l'inventaire des espèces fongique des eaux marines du littoral occidental Algérien. Les genres observés sont, par ordre d'importance *Penicillium* 55,18%, *Aspergillus* 8,29%, *Muccorales* 6,63%, *Trichoderma* 5,80%,*Cladosporium* 3,73%, *Fusarium* 2,07%, *Pullularia* 1,24%, *Acremonium* 0,82%, *Alternaria* 0,82 %, *Verticillium* 0,82%, *Gliocladium* 0,41%, *Geotrichum* 0,41% et les non identifiés ou *Mycéliums* stériles 14,10%.En règle générale, les résultats de ces études montrent une similitude avec ceux issus de notre recherche. Dans la majorité des cas, les principaux genres sont cités. Il s'agit de : *Penicillium* et *Cladosporium,* pour lesquels les résultats sont les plus fréquents. Pour le reste, des différences minimes apparaissent d'une étude à une autre et s'expliquent soit par l'absence de certains

types de souches présentes dans notre zone d'étude, et que l'on ne retrouve nulle part ailleurs. A titre d'exemple, les genres *Alternaria* et *Rhodotorula* ne sont présents que dans les eaux algériennes; *Paecilomyces* est quasi absent en Mer du Nord est observé seulement en Algérie Mer du Nord.
Le fait de retrouver les mêmes genres représentés de manière sensiblement équivalente dans des lieux très éloignés les uns des autres et dans des prélèvements aussi différents, pourrait être une preuve supplémentaire de leur réelle implantation en milieu marin. Ces faits confirment les conclusions de *Khudyakova* et *al*. (2000), selon lesquels 98% des espèces fongiques trouvées dans le milieu marin sont marines facultatives, représentées surtout par les genres *Penicillium, Ulocladium, Scopulariopsis, Cladosporium et Alternaria.*
Par ailleurs, les genres répertoriés dans ce travail sont connus pour produire des mycotoxines. En effet, la souche *Penicillium*, est une espèce connue pour son importante production toxinique. Ainsi, un risque toxique réel existe, menaçant à la fois les mollusques et l'homme, consommateur de ces fruits de mer.

Conclusion : D'après nos résultats, l'eau de mer et les moules des deux sites (Stidia « « Mostaganem » et Kristel « Oran ») contiennent une grande diversité d'espèces fongiques. L'analyse de la nature et de la fréquence d'isolement des champignons selon les sites, types et les périodes de prélèvement, montre une prédominance de la contamination fongique au niveau de l'eau de mer. Le nombre de champignons isolés était plus élevé à Stidia « Mostaganem ».Pour la comparaison des types de prélèvements, on constate que la moule présente une plus grande diversité de la flore fongique que l'eau de mer.

Références bibliographiques

Crawford, C.M., C.K.A. MacleodI., M. Mitchell. 2003. Effects of shellfish farming on the benthic environment. Aquaculture 224: 117-140

FAO. 2009. Département des pêches et de l'aquaculture Statistiques de Pêches http://www.fao.org/

Gari- Toussaint, M., Piens, MA. 2001. (GRIF) (le groupe de recherche sur les infections fongiques)**. (2001).** Diagnostic de l'aspergillose et des autres infections invasives à champignons filamenteux en hématologie. Presse Méd, 30, 1912-1917.

Grovel, O., Pouchus, Y.F., Robiou du Pont, T., Montagu, M., Amzil, Z., Verbist, J. 2002. Ion trap MS(n) for identification of gliotoxin as the cytotoxic factor of a marine strain of Aspergillus fumigatus Fresenius. J. Microbiol. Meth. 48 (2-3), 171–179.

Khudyakova, Y.V; Pivkin, M.V. ; Kuznetsova, T.A. & Svetashev, V.I. 2000. Fungi in sediments of the sea of Japan and their biologically active metabolites. Microbiology,69 (5) : 722-726.

Marcaillou-LeBaut, C., Amzil, Z. 1995. Unexplained toxicity in molluscs found in the course of phytoplankton monitoring. Toxicon 33 (9), 1127.

Matallah- Boutiba, A. 2009**.** Inventaire des espèces fongiques des eaux marines du littoral occidental algérien. Thèse. Doct, Univ Oran, Algérie : 143p.
Mohamed-Benkada, M. 2006. Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : Substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Thèse en Pharmacie, Université de Nantes, France, 139p.

Sallenave-Namont, C., Pouchus, Y.F., Robiou du Pont, T., Lassus, P., Verbist, J.F. 2000. Toxigenic saprophytic fungi in marine shellfish farming areas. Mycopathologia 149 (1), 21–25.

Shaumann, K. 1993. Marine pilze. *In Mikrobiologie des meeresbodens.* Meyer -Reil LA und Koster R M. Gustav Fisher. 144- 195.

Etude du comportement morpho-biochimique de deux variétés de Haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivé dans un sol salé enrichi de bentonite

Hassani Abdelkrim, Sehari Mira, Kouadria Mostefa, koulali fatiha, Tahir fatiha

Faculté des sc. de la vie et la nature, laboratoire d'Agro-biotechnologie et de nutrition en zones semi-arides, Université Ibn Khaldoun, Tiaret; Algérie

abdelhass61@gmail.com

Résumé

L'objet de notre travail est de caractériser l'effet du stress salin sur deux variétés de l'espèce *Phaseolus vulgaris* L. qui est une plante sensible à la salinité. Pour étudier la réponse des deux variétés utilisées en situation de stress salin, nous avons analysés certains paramètres morphologiques et biochimiques de la plante afin d'identifier les bio-indicateurs de stress, les stratégies de tolérance et mettre en évidence des critères d'adaptation ainsi que le génotype qui pourrait être cultivé en condition de salinité sans que le rendement ne soit fortement diminué.

A cet effet et parmi les variétés de haricot utilisées localement, deux variétés ont étés testées à savoir "coco rose" et "djedida" qui ont étés soumises au stress salin à raison de 6g/l soit environ 100mM de NaCl additionné d'argile "bentonite" a 2 doses différentes (3.5 et 7%) par rapport au témoin 0g/l et sans bentonite jusqu'au stade fructification.

Selon les résultats obtenus, les deux variétés étudiées ont des réactions différentes vis-à-vis du stress salin. En effet, La biomasse de la partie aérienne de la variété "coco rose" est plus importante que celle de la variété "djedida" surtout en présence du NaCl.

D'autre part, la stratégie préconisée par la variété de haricot utilisée "coco rose" est d'accumuler plus de sucres solubles dans les feuilles ainsi que la réduction de la surface foliaire et une diminution du nombre de fruits. Par contre, il y a une accumulation plus importante de sucres solubles et de proline dans les feuilles de la variété "djedida" ainsi que des feuilles réduites, un système racinaire moins développé et le nombre de fruit nul ce qui démontre une grande sensibilité a l'excès de sel pour cette variété.

Enfin, l'ajout de bentonite réduit l'effet nocif de la salinité chez la plante.

Mots clés : variété - *Phaseolus vulgaris* - salinité - bentonite - proline - sucres - adaptation.

1. INTRODUCTION

La victoire sur la carence protéique dont souffrent des millions d'êtres humains, constitue une tâche capitale et urgente pour l'agriculture mondiale. Par ailleurs, ce sont les légumineuses qui sont les plus prometteuses vu leur abondance en acides aminés et en réserves énergétiquement riches. Cependant la croissance de la plupart des végétaux dépend de la présence, dans le sol, d'azote en quantité suffisante. A cet effet, les légumineuses, s'affranchissent partiellement de cette contrainte en s'associant à des bactéries du sol du genre rhizobium, capables de capter l'azote présent dans l'air qui l'échangent avec la plante contre de la matière organique, (Chowdhury, et al., 2011; Setia et Marschner, 2012). Or, parmi les contraintes qui limitent la production des légumineuses et la plupart des espèces végétales, la salinité des sols constitue un facteur important (Teakle et al.,

2007) qui génère une contrainte hydrique et réduit les surfaces cultivables en menaçant l'équilibre alimentaire mondial, en particulier, dans les zones arides et semi-arides ou les sols sont salés avec des ressources hydrauliques importantes mais saumâtres. Environ, des 20% de terres cultivées dans le monde, dont environ la moitié des sols irrigués, sont touchés par la salinité (Zhu, 2001; Bartels et Sunkar, 2005) à cause de l'accumulation des sels et tout particulièrement le NaCl provenant de l'eau d'irrigation (Bennaceur et *al.*, 2001; Mezni et *al.*, 2002) et de l'utilisation excessive des intrants chimiques. Dans cette optique, l'objectif du présent travail concerne l'étude du comportement d'une légumineuse cultivé, en l'occurrence le Haricot *(Phaséolus vulgaris)* associé à ses bactéries symbiotiques racinaires, dans un sol salé amendé en Bentonite. L'introduction de la bentonite sert à améliorer la réponse de la plante face au stress imposée en augmentant la capacité d'échange cationique (reguieg, 2007; reguieg et al, 2011).

2. Le Dispositif expérimental

Les graines germées au laboratoire, sont repiquées, en serre, dans des pots de 25 cm de diamètre et 40 cm de long remplis d'un substrat composé de sable, de fumier de vache et de terre (respectivement 3V/1V/1V) additionné de 3.5 et 7% de Bentonite en condition de serre soit une température diurne de 18°C ±3 et nocturne de 10°C ±3 ; une hygrométrie de 65 à 70% et une photopériode de 10h. La salinité est apportée à l'aide de solutions aqueuses à 100mM de NaCl. l^{-1}. L'irrigation est maintenue à la capacité au champ, (Fig.01).

Figure 1: photo du dispositif expérimental

3. Les paramètres analysés

- **La teneur relative en eau TRE ou RWC en % :** déterminée par la méthode de (Clarcke et Mc Caig, 1982) améliorée par Sangakkara et *al.*(1996) qui est calculée selon formule: ***TRE % = ((Pi – Ps)/ (Ppt - Ps)) x 100***

- **Le dosage de la proline** : réalisé selon la méthode de Troll et Lindsley (1955) améliorée par Lahrer et Magne cité par Leport, (1992). La densité optique est lue à 528 nm au spectrophotomètre UV 1200. Les valeurs obtenues sont reportées sur la courbe d'étalon construite à partir d'échantillon de proline à quantités connues (100, 200, 300, 400 et 500 mg de proline pure).
- **Le dosage des sucres solubles :** La concentration en sucres solubles est déterminée par la méthode de Dubois et al., (1956) et par la lecture de la densité optique mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (Biotech Engineering Management CO. LTD.(UK) UV- 9200) à λ = 490 nm. Enfin, les valeurs obtenues sont reportées sur la courbe étalon construite à partir d'échantillon de glucose à quantités connue exprimées en mg/100mg MF.
- **La surface foliaire:** estimée et mesurée par la méthode des analyses quantitatives réalisées par le traitement des photographies de feuilles de *pois chiche* avec le logiciel Image J (version 1.43u), software du National Institut of Health (NIH), des Etats-Unis.
- **le poids de la matière sèche de la partie aérienne et racinaire :**

– **Le poids sec aérien (g)** : les organes frais de la partie aérienne sont pesés puis mis dans des sachets en papier numérotés et étuvés à 80°C pendant 48 heures (tiges et feuilles) et enfin pesés à l'état sec.

– **Le poids sec racinaire(g)** : De même que le poids sec aérien mais la déshydratation se fait à 105°c pendant 24 heures avant de peser les échantillons secs.

- **Analyse statistique**: Les résultats obtenus sont traités par STATISTICA SOFTWARE (Stat32.exe) version 2.0, en analysant la variance et la matrice de corrélation. Les valeurs obtenues font l'objet d'une moyenne de trois répétitions avec un intervalle de confiance calculé au seuil de 5%.

3. Interprétation des résultats des paramètres analysés

Tableau 1: Analyse de la variance des paramètres biochimiques.

Variables	Effet variétal (F2)		Effet salin (F2)		Interaction F1*F2	
	Test F	P	Test F	P	Test F	P
TRE	10.818	**0.006**	2.936	0.059	3.992	**0.023**
Proline	4.556	**0.054**	2.014	0.149	0.924	0.498
Sucre	14.386	**0.003**	4.716	**0.013**	2.775	0.068

4.1. La teneur relative en eau (TRE)

Dans l'essai conduit en situation de stress salin et sol à bentonite, l'analyse de la variance (tab.01) montrent des résultats très significatifs du paramètre "TRE". En effet, on note l'influence de la variété (p=0,06%), une légère influence de la salinité (p=5,9%) et celle de leur interaction avec P=2,3% sachant que le seuil d'erreur admis est de 5%. Par ailleurs, les moyennes numériques, montrent une variation de ce paramètre en fonction de la dose de sel utilisé pour les variétés Djedida et Coco rose qui sont respectivement 74,16 et 80,2 à 0g/l et de 60,77 et 82,9 à 6g/l.

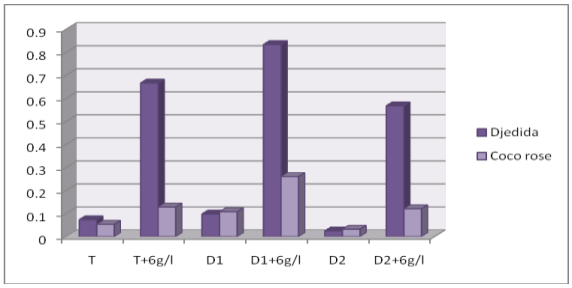
4.2. La proline

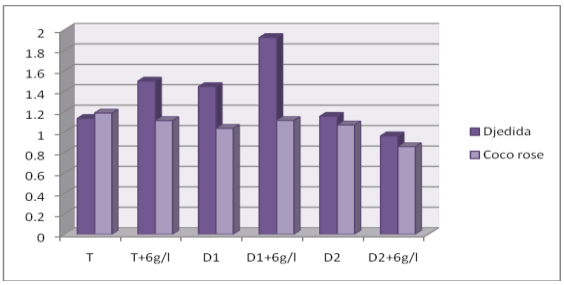
Les résultats obtenus au cours de cette expérimentation (tab.01), mettent en évidence une variation significative (p=0,054) entre la variété et ce paramètre mais la variation n'est pas significative concernant l'effet de la salinité car p=14,9%, ni de l'interaction "salinité-variété" car p=49,80 %. Cependant les résultats moyens varient entre 0.116 pour variété coco rose et 0.337 obtenus pour djedida. Par ailleurs, l'accumulation de la proline est plus importante au niveau des plantes soumises à 100mM de NaCl additionnée de bentonite où on a enregistré 0,81 et 0,26 $mg.g^{-1}$ de MF respectivement, pour les génotypes "Djedida" et "Coco rose" contre 0,69 et 0,13 $mg.g^{-1}$ de MF en sol salé sans bentonite.

4. 3. Les sucres solubles

D'après Le tableau 01, l'analyse de la variance montre une influence hautement significative de la salinité sur le taux de sucres solubles dans les feuilles avec p=0.013 ainsi que celle de la variété (p=0,003) mais non significatifs

concernant l'interaction entre la salinité et la variété (p=0,068). Par ailleurs, les résultats moyens sont compris entre 1.353 pour la variété djedida et 1.062 pour la variété coco rose, (Fig. 03b).





«a» **«b»**

Figure 3: Histogramme comparatif du taux de proline «a» et des sucres solubles «b» .

4. 4. La surface foliaire

Les résultats obtenus (tableau 02), montrent un effet très significatif de la salinité (p=0.004) sur ce paramètre, de même pour le facteur "variété" (p=0.001) mais pas d'influence pour l'interaction génotype*salinité avec probabilité de p= 0.473. Par ailleurs, la figure 04a, montre une différence remarquable entre les deux variétés, car les valeurs fluctuent entre 20.56cm² obtenu par Djedida et de 33.62cm² par Coco rose. En effet, les deux génotypes présentent une régression de la surface foliaire sous différents traitements appliqués avec chez la variété "Djedida", 30,38 cm² et 44,23 cm² la variété "Coco rose" chez les plants témoins contre 12,14 cm² et 29,55 cm² en sol salé avec bentonite soit des réductions respectives de 40% et 66%.

4.5. Le Poids sec aérien

L'étude de l'analyse de la variance, (Tab.02) montre un effet significatif du facteur salinité p=0.001 mais non significatif pour le facteur génotypique de même que pour l'interaction avec des probabilités de p=0.147 et p=0.579.

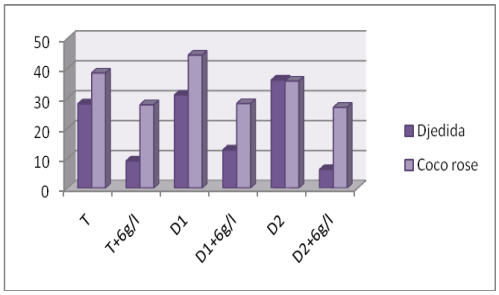
Tableau 2: Analyse de la variance des paramètres morpho-physiologiques aériens.

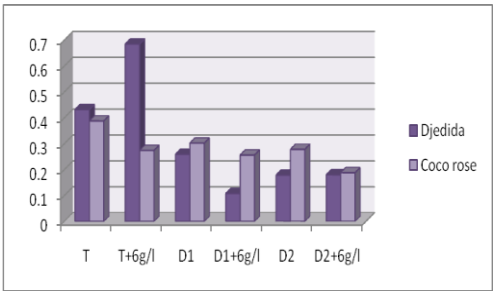
Variables	Effet variétal F1		Effet salin F2		Interaction F1*F2	
	Test F	P	Test F	P	Test F	P
SF	17.512	**0.001**	6.273	**0.004**	0.972	0.473
P.S.R	0.148	0.707	3.459	**0.036**	0.507	0.766
PSA	2.402	0.147	9.237	**0.001**	0.787	0.579
Rapport **(P.s.r/P.s.a)**	0.882	0.772	1.341	0.312	0.874	0.527

4.6. Le poids sec racinaire

Les résultats affichés (tableau 02), montrent une influence significative de la salinité (p=0.036). Par contre le facteur variétal et l'interaction ne sont pas significatifs avec respectivement p=0.707 et p=0.766.

4.7. Le rapport (P.S.R/P.S.A)





«a» **«b»**

Figure 4: Histogramme comparatif de la surface foliaire (a) et du rapport PSR/PSA (b)

Les résultats du tableau 02 ne sont pas significatifs pour ce paramètre. Toutefois, le rapport MSR/MSA diminue significativement pour les deux génotypes testés (Fig.4b) ou on constate que la partie souterraine est plus sensible à l'effet de stress salin que la partie aérienne. La diminution de la croissance de l'appareil végétatif chez les plants testés, est observée surtout en cas de traitement salin sans l'ajout de bentonite (0, 66 à 0,33) et le ratio Racines/ Tiges a régressé du témoin vers les traitements salins, (Fig.04b)

5. Discussion

La salinité est un phénomène complexe qui conduit souvent à un stress osmotique du à la diminution des quantités d'eau disponible au niveau de la rhizosphère (Belkhodja M et Bidai Y, 2004).), suite à la réduction de l'aptitude des plantes à absorber l'eau (Bartels et Sunkar, 2005; Hassani et al, 2008*)*. Par conséquent, cela provoque une baisse de croissance de la plante stressée et sa productivité en biomasse végétale (Tester et Davenport, 2003).

A travers la lecture des relations établies entre les paramètres physiologiques et la salinité (Tab.03), il ressort que la teneur relative en eau est corrélée négativement avec la salinité appliquée au stade fructification avec r = -0.712**, Cela signifie qu'à ce stade, les besoins en eau sont plus importants et c'est une phase végétative critique pour la plante. Cette situation s'explique par le fait que le statut hydrique de la plante se trouve régi par la capacité de prélèvement d'eau du sol et les mécanismes développés pour limiter les pertes d'eau. Cette relation semble évidente et confirmée par de nombreuses études dans ce domaine (Dib, 1992). Dans ces conditions, on remarque que la variété Djedida à une faible TRE égale à 60.77% et 82.86% pour Coco rose. L'accumulation des composés organiques (osmolytes) mise en évidence chez plusieurs espèces végétales soumises à la contrainte saline, varie dans de larges proportions suivant l'espèce, le stade de développement et le niveau de la salinité.

Par ailleurs, l'accumulation de la proline constitue un véritable mécanisme de tolérance à la salinité (Hassani et al, 2008) sous l'effet de la contrainte "halohydrique" car il y'a inhibition de l'oxydation de la proline (Belhassen, 1993), ce qui favorise une accumulation de cet amino-acide.

Par ailleurs, la matrice de corrélation a permis de dégager des relations significatives entre les paramètres aériens et le traitement salin. En effet, la corrélation hautement significative négative entre la salinité et la surface foliaire, poids sec aérien avec respectivement r= -0.589** et r = -0.724**. D'autre part, on a remarqué que la surface foliaire a subi des variations importantes en particulier pour la variété djedida qui a affiché une réduction importante (33.77cm^2 à 0g/l et (9.35cm^2 à 6g/l et qui est due probablement à son degré d'adaptation à la situation saline, surtout après l'examen de son système racinaire qui présente un bon développement.

Tableau 3:**Corrélations stress salin et les paramètres physio- biochimiques**

	Situation saline	TRE	Proline	Sucres	Surface foliaire	PS racine	PS aerien	PSr/PSa
Situation saline	1							
TRE	-0.088	1						
Proline	0.445*	-0.232	1					
Sucres	-0.035	-0.157	0.381	1				
Surface foliaire	-0.589*	0.628	-0.651**	-0.325*	1			
PS racine	-0.712**	-0.235	-0.398*	-0.066	0.616**	1		
PS aerien	-0.724**	0.156	-0.576**	-0.137*	0.608**	0.815**	1	
PS r / PS a	-0.272	-0.176	-0.278	-0.082	-0.190	-0.528*	0.468*	1

Le tableau 03, montre un effet corrélatif de la salinité hautement significatif et négatif sur le poids sec aérien (r=-0.724**), qui signifie que lorsque l'intensité du stress augmente, ce paramètre diminue. D'une manière générale, la diminution de la croissance de la partie aérienne, constitue une forme d'adaptation morphologique des plantes face a la contrainte saline, en effet Bartels et Sunkar, (2005), Hassani et al, (2008) signalent que sous l'effet du stress salin les plantes peuvent manifester des formes d'adaptation par un faible allongement des organes, un raccourcissement des tiges et une diminution de la surface foliaire. D'autre part, le tableau de la matrice des corrélations totales (Tab.03), démontre une relation plus ou moins importante du rapport PSR/PSA et la situation saline (r = -0.272) cela signifie que ce rapport varie dans le sens contraire du gradient salin.

(a) **(b)** **(c)** **(d)**

Figure 05 : l'effet du Na Cl et la bentonite sur la 2ème variété du haricot (Coco Rose) [Témoin non stressé (a), Témoin stressé par la salinité (b), salinité + Dose 1 de Bentonite (c), Dose 2 de Bentonite (d)]

Conclusion

La salinité est un phénomène complexe qui conduit au un stress osmotique du à la carence de l'eau disponible au niveau de la rhizosphère suite à la réduction de l'aptitude des plantes à absorber l'eau. Par conséquent, cela provoque une baisse de croissance de la plante stressée et sa productivité mais qui semble plus tolérante par l'adjonction de bentonite au substrat. En conclusion, il ressort de notre étude que la variété de Haricot coco rose réagit à l'excès de sel en réduisant sa surface foliaire et en maintenant une teneur en eau par

contre pour la variété de Haricot "Djedida", c'est l'inverse. Nos résultats montrent que les génotypes étudiés ont des réactions différentes vis à vis des concentrations croissantes en NaCl. Le rapport (MSR/MSA) est faible mais la matière sèche racinaire est relativement élevée par rapport à la matière sèche aérienne qui a diminué dans les traitements à forte concentration de sel. Enfin, il semble qu'un amendement de 3,5 à 7 % en Bentonite des sols salés, peut améliorer la tolérance des plantes cultivées en sols salés.

Références bibliographiques

- Bartels D and Sunkar. R., 2005. Drought and Salt Tolerance in Plants. Critical Reviews in Plant Sciences, Volume 24: pp 23–58,
- Belhassen E, Dominique T, Monneveux P. 1995. L'adaptation génétique face aux contraintes de sécheresse. *Cahiers Agricultures*; 4 : 251-61.
- Belkhodja M et Y.Bidai., 2004. Réponse de la germination des graines d'*Atriplex halimus* L. sous stress salin. Revue Sécheresse, N°4, vol.15,331-335.
- Benaceur, M , Rahmoun, C., H. Sdiri, M. Medahi, M. Selmi, 2001. Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production de grains de blé. Secheresse, 12 (3): 167-174.
- Chowdhury, N., P. Marschner, R. Burns 2011. Response of microbial activity and community structure to decreasing soil osmotic and matric potential Plant Soil, 344 (2011), pp. 241–254
- Clarck J, Mc Caig, 1982. Excised leaf water retention capability as an indicator drought résistance of Triticum, Journal of Plant Science 62: 571-578.
- Dib. A; T. Monneveux P. Araus E.L., 1992. Adaptation à la sécheresse et notion d'idéotype chez le blé dur: caractères physiologiques d'adaptation. Agro N° 12, pp 381-393.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Pebers P.A and Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem*., 28, p: 350-356.
- Hassani A, Dellal A, Belkhodja M, et Kaid-Harch M, **2008.** Effet de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez L'orge (Hordeum Vulgare). European Journal of Scientific Research; Vol.23 N°1; pp.61-69
- Leport L, 1992. Accumulation de proline associée aux contraintes environnementales et à la floraison chez le colza (Brassica napus L). Thèse D'état. 156 p. Rennes,
- Mezni M, Albouchi E. Bizid et M.Hamza, 2002. Effet de la salinité des eaux d'irrigation sur la nutrition minérale chez trois variétés de luzerne pérenne (*Medicago sativa*).Agro.,22,283-291
- Reguieg H.Y., 2007. Effet de la bentonite sur les sols sableux de la région de Mostaganem, étude de comportement d'une association blé-pois chiche. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique El Harrach ALGER.
- Reguieg H.Y., Belkhodja M., Chibani A., 2011- Effect of Bentonite on the sandy soils of arid regions: Study of behavior of an association of wheat and chickpea. *Journal of Environmental Science and Engineering*, vol. 5, p. 1668-1677.
- Sangakkara U.R., Hartwing A., Nosberger J., 1996. Soil moisture and potassium affect the performance of symbiotic nitrogen fixation in faba bean and common bean. Plant and Soil. 184: 123-130
- Setia, R., P. Marschner. 2012. Carbon mineralization in saline soils as affected by residue composition and water potential Biol Fertil Soils pp. 1-7
- Teakle, N.L, TJ Flowers, D Real, TD Colmer, 2007. *Lotus tenuis* tolerates the interactive effects of salinity and waterlogging by 'excluding' Na+ and Cl– from the xylem. Journal of Experimental Botany, published online on May 17, 2007.
- Tester M, and Davenport R; 2003. Na1 tolerance and Na1 transport in higher plants. Ann Bot (London) 91: 503–527
- Troll W.and J. Lindsley. 1955. A photometric method for determination of proline. J.Biochem: 655-660.

- Zhu, J.-K. 2001. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci.* 6: 66–71.

Effet des propriétés bactéricide et fongicide d'extraits alcooliques des feuilles et tiges de l'Ortie (Urtica dioica) sur certains ravageurs des cultures

Sehari Mira, Chelef mokhtaria, kouadria mostefa, Sehari Nadia, Hassani Abdelkrim,
Faculté des sc. de la vie et la nature, labo.agro-biotechnologie et de nutrition en zones semi-arides, université Université Ibn Khaldoun Tiaret; Algérie
rymrasahi@yahoo.com

Résumé

Les propriétés biologiques des extraits végétaux, notamment antiparasitaire, insecticide, fongique et antivirales font actuellement l'objet de nombreuses recherches de par le monde pour répondre aux exigences de l'agriculture biologique tel que l'élaboration de bio-pesticides à base de molécules naturelles issues des plantes et efficaces contre les bio-agresseurs des cultures et des denrées stockées.

La problématique se situe dans l'utilisation de pesticides chimiques (fongicides, insecticides,...) dans la lutte contre les ravageurs des cultures qui est très répandue et très efficace mais l'usage excessif de ces produits a conduit à des effets secondaires inattendus tels que l'épuisement de l'ozone, la pollution environnementale et la résistance des bio-agresseurs. En outre, ils sont couteux et dangereux pour la santé de l'homme et des animaux.

Le but de ce travail est de rechercher de nouveaux produits bioactifs naturels pour remplacer les pesticides chimiques dans la lutte contre des souches fongiques et des souches bactériennes prélevés sur des cultures contaminées. A cet effet et pour valoriser la flore algérienne et réduire l'utilisation de ces pesticides chimiques, nous nous sommes intéressés à une espèce végétale négligée et marginalisée de la famille des Urticacées en l'occurrence l'Ortie dioïque (Urtica dioica) qui est connue pour de multiples vertus et ses métabolites secondaires sont reconnus depuis longtemps comme agents antimicrobiens. Les tests d'efficacité ont étés mené comme fongicide sur *Fusarium* et *aspergillus* et comme bactéricide sur Staphylococcus Aureus et Pseudomonas aeroginosae.

Le rendement de l'extrait methanolique a été de 17.04% par rapport au rendement de l'extrait ethanolique qui est de 15.04%. Par ailleurs, nos résultats ont étés très remarquables pour les deux tests d'efficacité. En effet, l'inhibition des bactéries testées a été proportionnelle à la concentration appliquée. Les diamètres des zones d'inhibition révèlent Staphylococcus Aureus plus sensible vis-à-vis de l'extrait méthanoïque de l'ortie avec un diamètre de 13.25mm par rapport à Pseudomonas aeroginosae. D'autre part, on a constaté un effet inhibiteur efficace contre les espèces bactériennes mais avec des diamètres variables. De même que l'effet fongicide.

En conclusion, nous pouvons dire qu'à travers l'utilisation des extraits végétaux de la plante testée, ses effets inhibiteurs et le faible coût du procédé d'utilisation indiquent qu'elle est fortement prometteuse en lutte biologique.

Mots-clés: *extraits végétaux, lutte biologique, moisissures, bactéries- cultures - denrées stockées*

1. Introduction

En raison de leur efficacité et de leur application facile et pratique, l'utilisation de pesticides chimiques (fongicides, insecticides,...) est très répandue, néanmoins, malgré leur efficacité, l'usage excessif de ces produits a conduit à des effets secondaires inattendus tels que la pollution environnementale et ils sont onéreux et

dangereux pour la santé de l'homme et les animaux. Ainsi pour valoriser la flore algérienne et réduire l'utilisation des pesticides chimiques, on s'est intéressé à la famille de l'urticacée en l'occurrence à l'Ortie, (U*rtica dioica L.) (***Quezel et santa, 1963):** plante herbacée utilisée empiriquement depuis des millénaires en phytothérapie.

Les extraits végétaux sont composés de métabolites secondaires produits par la plante comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Le but est de rechercher de nouveaux produits bioactifs naturels pour remplacer les pesticides chimiques dans la lutte contre des souches fongiques et des souches bactériennes prélevés sur des cultures contaminées, (**Mishra et Dubey, 1994; El Idrissi *et al,* 2014).**

2. Matériel et méthodes :

2-1. Classification et Caractères Botaniques de l'Ortie (Fig. 01):

L'Ortie dioïque, genre Urtica, espèce dioica, (du latin uro ou urere = « celle qui brûle », dioica vient de dioïque = fleurs mâles et fleurs femelles sur des pieds séparés**), (Draghi, 2005**; **Delahaye, 2015)** appartient à la grande famille des Urticacées. Cette famille comprend près d'une cinquantaine de genres et plus de 700 espèces, elle est présente partout dans le monde. On distingue les Urticacées avec poils urticants (genre Urtica) ou sans (genres Parietaria et Boehmeria) **[APGII, 20031**. Selon **Quezel et Santa (1963),** Urtica dioica L. appartient à l'**Ordre des** Rosales, **Famille des** Urticaceae et à l'Urtica dioica L.

Figure 01: Photo de l'Ortie dioïque (Draghi, 2005) , du Rotavapor et du pied à coulisse

2-2. **Préparation des extraits** végétaux

En Mai 2017, une prospection et une récolte de l'ortie a été faite dans la région de Bouchekif (station d'incinération de décharges ménagères de la ville de Tiaret); puis séchage (à température ambiante dans un endroit sec et ombrageux pendant plusieurs jours, pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur de la lumière) et enfin le broyage de la matière végétale finement à l'aide d'un broyeur à graines et pailles (type FRITSCH, Germany).

a. Macération de la matière végétale (Figure 1)

- 15g de M.V + solution hydroalcoolique (MeOH/H2O ; 70/30 ; V/V) 150 ml.
- laisser macérer dans une fiole pendant 48h.

b. Filtration: A l'aide d'un entonnoir et papier wattman, laisser le filtrat reposer puis récupérer le mélange hydro méthanolique

Le rendement en g d'extrait par rapport à la masse du matériel végétal à traiter est calculé selon la formule suivante: R = m.100 / m° (Rdt de l'extrait brut en %; m: masse de l'extrait brut obtenu en g; m°: masse du matériel végétal en g)

2-3. Etude des activités biologiques

2-3-1. Evaluation de l'activité antibactérienne des HE : (Figure 3)

Le test de susceptibilité est effectué selon la méthode de diffusion des disques décrite **par Parekh et Chanda, (2007)** qui consiste à déterminer le diamètre d'inhibition **(Gupta *et al.,* 2010).** Il s'agit d'une méthode en milieu Muller Hinton réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait grâce à un disque en papier sur lequel on dépose l'extrait végétal. Pour démontrer l'activité antibactérienne on a opté pour deux souches de référence du laboratoire IPA d'Alger: bactérie Gram positif : *Staphylococus aureus* (ATCC : 25923) et bactérie Gram négatif *: pseudomonas aeroginosae* (ATCC : 27853)

a) **Repiquage des espèces bactériennes :** Les souches bactériennes sont récupérées par la méthode des stries, puis incubées à 37°C afin d'obtenir des colonies isolées pour la préparation de l'inoculum.

b) Préparation de l'inoculum et des disques

Ce test est réalisé par la méthode de diffusion en milieu solide qui consiste à déterminer le diamètre d'inhibition **(Gupta *et al.,* 2010).** Des disques de 6 mm de diamètre découpés sur papier Whatman n°1, stérilisés (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage) et imprégnés de colonies bactériennes prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml d'eau physiologique stérile. Des témoins négatifs et positifs sont utilisés avec respectivement des disques imprégnés de DMSO et d'eau distillée stérile ainsi que des solutions d'antibiotiques. la gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boites de pétri stériles de 90mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 4 mm répartie uniformément dans les boites. Ces dernières sont séchées pendant 30min à température ambiante. Après une incubation à 37°C pendant 24h, les zones d'inhibition formées autour des disques sont mesurées à l'aide pied à coulisse digitale de marque **mututoyo.**. **(Dorman *et al.,* 2000)**

2.4 Test in vitro de l'activité antifongique : Pour l'activité antifongique on a choisi trois souches fongiques obtenues auprès du labo de phytopathologie, faculté des de Biologie de l'université Es senia, Oran1. Les Cultures sont maintenues en milieu PDA .: *aspergillus niger (MNHN 963917), Fusarium oxysporum et Fusarium lycopersini*

a) **Préparation des milieux de culture**: Les spores des jeunes cultures (3 jours) de chaque souche sont récupérées par un lavage des boites de Pétri, avec un volume de 5 ml d'eau physiologique stérile. A partir de cette suspension mère, on prépare les différentes dilutions dans des tubes à essai avec 9 ml d'eau physiologique stérile. Après agitation des tubes, pour homogénéiser les spores, on procède à une évaluation de la densité optique (DO) de la suspension fongique à l'aide d'un spectrophotomètre à λ=630 nm pour standardiser la suspension de spores à 107 spores/ml (D.O. de 0,04).

b**) Ensemencement et Préparation des disques**: Etalement de 100 µl de la suspension par boite de Pétri de 9cm de diamètre, contenant le milieu gélosé PDA (Potato Detrose Agar à 4°C) à partir des suspensions contenant 107 spores/ml, puis on les incube à 30 °C pendant 20 mn. Des disques de papier Wattman de 6mm de diamètre sont stérilisés puis déposés sur la gélose séchée inoculée au préalable avec les suspensions fongiques et les extraits végétaux à tester (extrait aqueux, methanolique et ethanolique à 5% et 10%) à l'aide d'une micropipette. L'activité antifongique est déterminée en terme de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse digitale de marque **mututoyo (Fig.1)** après 24h d'incubation à 37°C, **(Dorman *et al.,* 2000).** Enfin, on calcule l'indice antifongique (% d'inhibition) selon la formule suivante:

Indice antifongique (1-Da / Db) x 100, (Wang et al, 2006).

(Da = *diamètre de la zone de croissance de l'essai et* ***Db*** = *diamètre de la zone de croissance du témoin*).

3. Résultats

Les rendements obtenus des extraits pour l'extrait aqueux, l'extrait methanolique et l'extrait ethanolique sont respectivement de **12,52%, 15.57% et 17.01%.**

3-1- Résultats de l'effet fongicide des extraits végétaux testés

L'aromatogramme est une technique qualitative qui détermine la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antimicrobienne, dans notre cas, c'est la sensibilité des souches fongiques (*aspergillus niger, Fusarium oxysporum et Fusarium lycopersini)* vis-à-vis d'extraits alcooliques d'Ortie. Cet examen se fait tel qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par les substances à tester. Cette méthode, repose sur le pouvoir migratoire de ces substances sur milieu solide gélosé (PDA); **(Figure 02)**

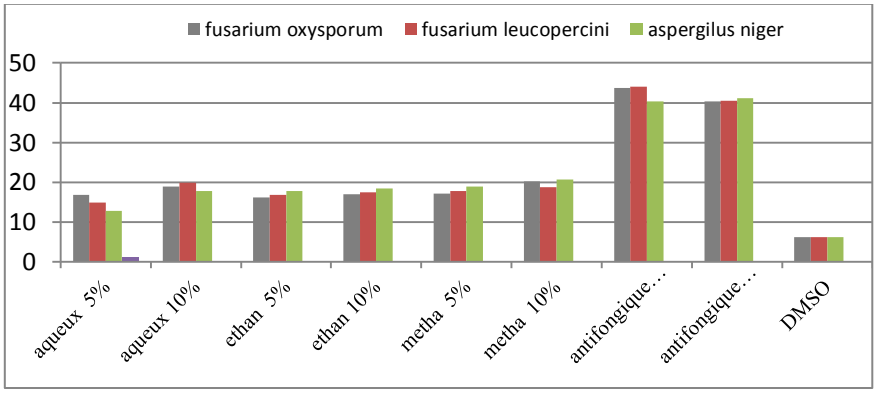


Figure 2: Taux d'inhibition des champignons pathogènes (diamètre en mm)

D'après les résultats du test antifongigramme (Fig. 02) réalisé en utilisant les extraits végétaux de l'Ortie sur *aspergillus niger, Fusarium oxysporum et F. lycopersini,* on constate un effet fongicide remarquable. En effet, l'extrait aqueux et l'extrait methanolique à la même concentration (10%) sont les plus efficaces vis-à-vis des trois champignons. Néanmoins, ils sont de moitié (20%) efficace que les fongicides chimiques (40% à 42%), (Artea et Bayer), (Fig. 02). Par ailleurs, d'autres études ont démontrés les propriétés antimicrobiennes des feuilles d'*Urtica dioïca,* en particulier contre *Streptococcus faecalis, S. aureus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans* et *E. coli* mais la lenteur de l'effet bactericide de l'ortie la prédispose plus à un usage prophylactique que curatif (**Hadizadeh *et al.* 2009; Darah *et al.* 2011**).

3-2- Résultats de l'effet bactéricide des extraits végétaux testés

D'après les résultats du test antibiogramme (Fig.3) réalisé en utilisant les extraits végétaux de l'Ortie sur *Staphylococus aureus* (Gram+) *et pseudomonas aeroginosae* (Gram-), on constate un effet bactéricide remarquable. En effet les diamètres des zones d'inhibition révèlent des zones d'inhibition importantes de *S. aureus et P. aeruginosa* dont le diamètre d'inhibition varie entre 6,82 et 11,74 mm traités à l'extrait methanolique à 5 et 10% de l'Ortie testé (Tab 01)

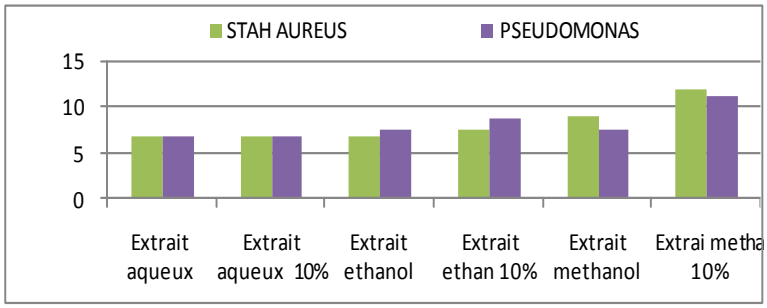


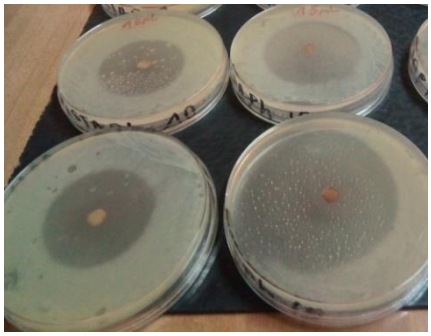
Figure 3: Taux d'inhibition du développement bactérien (diamètre en mm)

Le diamètre d'inhibition révèle qu'*E. coli est* plus sensible à l'extrait méthanoïque de l'ortie avec un diamètre de 13.25mm. Aussi, un effet inhibiteur remarquable contre les trois espèces bactériennes mais avec des halos variables. Ceci est du a la présence des flavonoïdes qui ont des propriétés antibactériennes, (**Gülçin *et al*. 2004; Parekh et Chanda, 2007**).

Extrait Ortie	aqueux 5%	aqueux 10%	Ethanol 5%	Ethanol 10%	Methanol 5%	Methanol 10%
Staph Aureus	6.82	6.82	6.82	7,5	8,89	11,74
Pseudomonas	6.82	6.82	7,4	8,7	7,4	11,02

Tableau 1: Taux d'inhibition du développement bactérien (diamètre en mm)

Chez le témoin, il n'y a pas de halo, ce qui signifie qu'il n'y a pas d'inhibition car il n'y à pas de substance inhibitrice. Cependant, pour l'extrait aqueux à 5 et 10% le halo est peu développé (sensibilité faible à moyenne) (Figure 03), pour l'extrait ethanolique à 5 et 10% le halo est moyennement développé (sensibilité moyenne à forte) (Figure 03), et enfin pour l'extrait methanolique à 5 et 10%, le halo est très développé (sensibilité très forte et forte inhibition) (Figure 04),



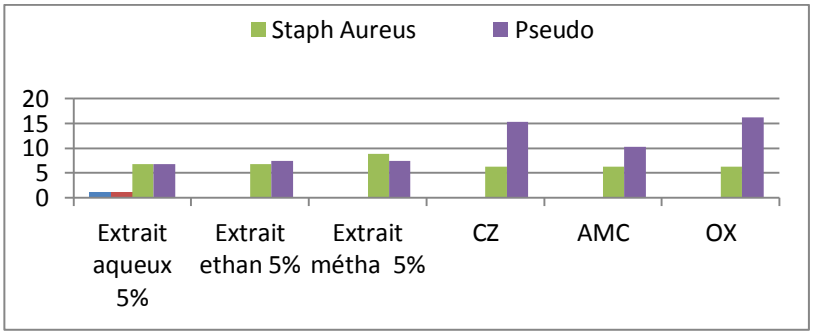


Figure 4: Taux d'inhibition du développement bactérien (diamètre en mm)

4. Discussion

Les extraits d'Ortie sont fortement antimicrobiens.. Par ailleurs, l'ajout d'échantillons de plantes vertes dans les silos de stockages des semences des grains de riz est une pratique courante des peuples africains pour repousser certains bios agresseurs des denrées stockées **(Delahaye, 2015).**

Par ailleurs, la flore fongique parasite des cultures destinées à l'alimentation de l'Homme peut engendrer de graves conséquences sur la santé humaine (**Mishra and Dubey., 1994).** Ce développement fongique est favorisé par une humidité élevée dans le champ et lors du stockage de longue période**. Par ailleurs**, la dominance du genre *Aspergillus* dans la flore contaminante des céréales est citée dans plusieurs travaux avec *Aspergillus fumigatus* qui est l'espèce la plus fréquente suivit de *A. flavus et A. Niger.* **(Pibiri**, **2005).** D'autres souches appartenant a d'autres genres sont naturellement présentes dans les champs cultivés au niveau des plantes et dans le sol, (**Molinie et Pfohl-Leszkowczh., 2003).**

Ainsi, sous l'effet des extraits végétaux, la croissance des organismes mycéliens est réduite voire inhibée à la concentration de l'extrait aqueux à 10% et de l'extrait methanolique à la même concentration (10%) Néanmoins, ils sont de moitié efficace comparés aux fongicides de synthèse, (Artea et Bayer), (Fig. 00). L'action dépressive des métabolites secondaires (**Macheix et Fleuriet, 2005)** de l'Ortie conduit, en particulier à une grande sensibilité surtout pour le genre fusarium en comparaison avec les genres *Aspergillus flavus et niger*. (**Mishra and Dubey, 1994; Macheix et Fleuriet, 2005**). L'effet réducteur du traitement par les extraits aqueux et alcooliques a été également rapporté par plusieurs auteurs chez d'autres espèces telles que *la lavande* (**Ouraïni et al, 2005**).

Concernant l'effet antibactérien de nos extraits utilisés, il est significatif et il est proportionnel à l'augmentation de la concentration pratiquée. L'évaluation de l'effet inhibiteur de l'HE vis-à-vis de *Staphylococus aureus et pseudomonas aeroginosae*, est représenté par les résultats présentés dans le tableau 2 qui montrent un effet

inhibiteur de la croissance bactérienne. D'autre part, pour **Bakkali *et al,* (2008**), l'activité antibactérienne est due à la cytotoxicité des HE qui peuvent endommager la membrane cellulaire des bactéries lorsqu'elles passent à travers leur paroi cellulaire et leur membrane cytoplasmique (déstructuration de la membrane et ses polysaccharides).

Enfin, d'après nos résultats, *Staphylococus aureus* (Gram+), est la plus sensible car le taux d'inhibition est de 27,77% à 73,33 %. alors que celui de *pseudomonas aeroginosae* (Gram-) *est moins important*. Toutefois, il faut souligner qu'il existe une sensibilité différentielle des deux bactéries Gram+ et Gram- testées. Cette différence d'effet peut être expliquée par la différence de la composition de la paroi cellulaire et le type de Gram. Plusieurs études ont montré que les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram+ vis-à-vis des HE.

Les propriétés antibactériennes des différents extraits d'*Urtica dioica* vis-à-vis des souches bactériennes ont été mises en évidence par plusieurs travaux. Dans une étude réalisée sur neuf bactéries dont *Escherichia coli et Pseudomona aeruginosa*, l'extrait aqueux des parties aériennes a inhibé la croissance de ces bactéries sauf certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa (* **Gulcin et al., 2004)**. Une autre étude effectuée sur 38 micro-organismes a apporté l'évidence de l'effet bactéricide des extraits organiques des parties aériennes de l'ortie. Ces extraits ont inhibé la croissance, entre autre de *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Erwinia* sp*., Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae et staphylococcus aureus* résistant à la méthicelline (MRSA) et *Vibrio parahaemolyticus (***Salehzadeh et al, 20**14). Les composés phénoliques présents dans l'ortie seraient responsables de cet effet antibactérien (**Modarresi-Chahardehi et al., 2012)**. Ainsi **Haddouchi *et al* (2009)** dont leur étude sur l'activité antimicrobienne de l'HE de *T. fontanesii*, ont obtenus une inhibition de 31mm sur une bactérie Gram+ *(S. aureus*) et de 9 mm sur une bactérie Gram- (*P. aeruginosa).* La résistance des bactéries Gram- est expliquée par la présence d'une seconde membrane lipopolysaccharidique jouant un rôle de barrière. On outre, elle est plus riche en protéines que celle de Gram + ce qui les rend plus hydrophiles empêchant ainsi les composés hydrophobes de pénétrer dans la couche lipidique et exercer leur activité antimicrobienne dans la baterie **(Alvesalo et *al*., 2008).**

5. Conclusion

L'Ortie est connue depuis longtemps pour ses vertus thérapeutiques et dans ce contexte, cette étude porte sur l'utilisation de ses extraits végétaux comme nouvelles ressources pouvant être exploitées dans le domaine phytosanitaire comme composées naturels bioactifs. Dans cette optique, notre étude a débuté par l'extraction d'extraits aqueux par infusion et par macérations alcooliques de l'Ortie qui sont des procédés peu onéreux, pratiques et simples et l'activité antimicrobienne de nos extraits végétaux a cibler différents germes pathogènes. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent que *Staphylococcus aureus* apparait plus sensible sous l'effet des extraits végétaux mais *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* qui sont Gram+ sont plus résistants même face aux antibiotiques de synthèse. Par ailleurs l'effet antimicrobien est du essentiellement aux alcools terpéniques qui sont actifs contre les cellules microbiennes car solubles dans les milieux aqueux et provoquent d'importants dégâts sur les parois cellulaires des microorganismes.

D'autre part, les moisissures qui sont toujours présentes sur les grains au champ ou au stockage, se sont montrées sensibles à l'effet des extraits d'Ortie utilisés et cela à de faibles concentrations.

Enfin, le recours au plantes médicinales pour la lutte contre les agents de détérioration des cultures nous semble adéquat car l'utilisation de formulations volatiles à base de plantes aromatiques et médicinales ne sont ni polluantes ni toxiques pour l'environnement et peuvent avoir une activité biocide élevée. D'autre part, on peut envisagée l'étude de comportement *in-vivo* des extraits de feuilles, de fleurs et de fruits sur différents agents phytopathogènes pour repérer les meilleurs traitements afin de développer une alternative de lutte à base d'extraits de plantes et réduire l'utilisation des pesticides chimiques.

Références bibliographiques

Alvesalo J., Vuorela H., Tammela P., Saikku P.,Vuorela P. 2006. Inhibitory effect of dietary phenolic compounds on Chlamydia pneumoniae in cell cultures; Biochem Pharmacol 71:735-741.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 446-475.

Darah, I., C.L. Lim, Z. Shaida. 2011. Effects of methanolic extract of a soft sponge, Haliclona sp. on bacterial cells: structural degeneration study. Int. J. Comprehensive Pharm.2: 1-6

Delahaye J. (2015) Thèse de doctorat, Utilisations de l'ortie Urtica dioica, Université de Rouen 227p.

Dorman H.J.D. & Deans S.G., 2000: Antimicrobial agents from lants:antimicrobial activity of plant volatile oils. J. *Appl. Microbiol.,* 88, 308-316

Draghi F. 2005. Thèse doctorat, Ortie dioïque: étude bibliographique, Univ. Henri Poincaré Nancy; 89p.

El idrissi M, Elhourri M, Amechrouq A, Boughdad A, 2014: Étude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Dysphania ambrosioïdes* L. (Chenopodiaceae) sur *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) *J. Mater. Environ. Sci. 5 (4) pp 989- 994 ; ISSN : 2028-2508*

Gulçin, İ., İ. Küfrevioğlu, M. Oktay & M.E. Büyükokuroğlu. 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (Urtica dioica L.).J.Eth-nopharmacol.90: (2-3):205-215.doi:10.1016/j.jep.2003.09.028.

Gupta V, Roy A, Mukherjee K. 2010 Antimicrobial activity of *Spondias pinnata* resin. J Med Plant Res.4:1656-1661.

Haddouchi, F., (2009) . Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de Thymus fontanesii Boiss . *Revue Afrique SCIENCE 0*5 (2) ; pp 246 - 259

Hadizadeh, I., B. Peivastegan, et M. Kolahi. 2009. Antifungal activity of nettle (Urtica dioica L.), colocynth (Citrullus colocynthis L. Schrad), oleander (Nerium oleander L.) and konar (Ziziphus spina-christi L.) extracts on plants pathogenic fungi. ». *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS* 12 (1): 58-63.

Macheix J, Fleuriet A, 2005: les composés phénoliques des végétaux, exemple de métabolites secondaires d'importance économique, presse AURELI, presses polytechniques et universitaires romandes, pp167-162.

Mishra A, Dubey N. 1994. Evaluation of Some Essential Oils for Their Toxicity against Fungi Causing Deterioration of Stored Food Commodities. *Applied and Environmental Microbiology* 60(4), pp 1101-1105.

Modarresi-Chahardehi A, Ibrahim D, Sulaiman SF, Mousavi L. 2012. Screening antimicrobial activity of various extracts of Urtica dioica. Revista Biologia Tropicana; 60 (4):1567- 1576

Molinie A. et Pfohl-Leszkowczh A. 2003. Les mycotoxines dans les céréales: points de contrôle de la production au stockage. Labo Toxico-sécurité alimentaire- Toulouse; N° spécial, 9p.

Ouraïni D., Agoumi, A, Alaoui , K, and Cherrah,Y. 2005: Study of the activity on the various stages of development of dermatophytes of essential oils from aromatic Plants with antifungal properties; J phytothéraopie; Paris Vol.3, (4), pp 147-157

Parekh J. et Chanda S. V. 2007. *In vitro* antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plant. *Turkish journal of biology*., 31 : 53-58.

Pibiri, MC, 2005. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse EPFL, Ecole polytechnique de lausanne. N°3311. .

Quezel P. et Santa S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II.

Salehzadeh A., L. Asadpour, A.S. Naeemi, et E. Houshmand. 2014. « Antimicrobial Activity of Methanolic Extracts of Sambucus Ebulus and Urtica Dioica against Clinical Isolates of Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus ».

African Journal of Traditional and Alternative Medicines: AJTCAM / African Networks on Ethnomedicines 11 (5): 38-40.

L'extrait aqueux des feuilles d'*Eucalyptus globulus* comme alternative de lutte contre les adventices des céréales

KOUADRIA Mostefa, Sehari Mira, Hassani Abdelkrim, Ould Ameur Djamila

Faculté SNV, labo. D'agro-biotechnologie et de nutrition en zones semi-arides, Université Ibn Khaldoun Tiaret; Algérie

Résumé

En céréaliculture, une nouvelle contrainte s'est manifestée ces dernières décennies qui est celle des mauvaises herbes. En effet, dans notre pays, les mauvaises herbes se sont progressivement multipliées pour couvrir des superficies de plus en plus importantes surtout dans les zones céréalières. Or, la présence des mauvaises herbes ou plantes adventices dans un champ de céréales peut être nuisible à plusieurs titres tels que la compétition pour l'eau, pour les éléments minéraux et la lumière ainsi qu'elle affecte la croissance de la culture et son rendement. Par ailleurs, depuis les années cinquante, l'agriculture dépend de l'utilisation des herbicides chimiques pour lutter contre les mauvaises herbes. Malheureusement, ces désherbants chimiques sont très efficaces tel que le Glyphosate mais ils sont très onéreux et surtout très nocifs pour la santé humaine et l'environnement. A cet effet, comme alternative de lutte contre les mauvaises herbes, l'objet de ce travail est l'étude de l'inhibition de la croissance des adventices des céréales par l'utilisation d'extrait aqueux des feuilles d'Eucalyptus comparé à un herbicide chimique. L'expérimentation s'est déroulée au laboratoire pour l'inhibition de la germination des graines et en plein champ pour la densité des mauvaises herbes.

Dans ce contexte, la première étape est l'obtention de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* puis de l'utiliser comme herbicide naturel à différentes doses (10% et 20%) préparés à partir de feuilles de plantes récoltées et séchées. Les graines des espèces d'adventices ainsi que celle de Blé dur et d'Orge sont traitées par l'extrait aqueux, par l'eau distillée et l'herbicide chimique. Les résultats et les conclusions établis démontrent une efficacité remarquable et un espoir raisonnable d'utilisation d'extraits de plantes comme herbicides dans la lutte biologique contre les mauvaises herbes car la plante testée lors de notre essai a affiché de remarquables propriétés inhibitrices des adventices. En effet *L'eucalyptus globulus* s'est révélé comme un puissant inhibiteur, ce qui concorde avec sa faculté allélopathique. L'inhibition augmente lorsque la concentration des extraits augmente. De plus, l'extrait aqueux n'a pas affecté la germination des graines de céréales cultivées.

Enfin, selon les résultats obtenus qui sont prometteurs, la lutte biologique utilisant les biopesticides constitue un outil facilitant l'implantation de programmes de lutte offrant un équilibre entre le besoin de protéger les cultures et le respect de l'environnement.

Mots-clés: *extrait aqueux- Eucalyptus- Adventice- bio pesticide- céréales - lutte biologique.*

1- Introduction

Les céréales sont l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, tels les pays maghrébins **(Skouri et latiri, 2001), e**t en particulier en Algérie (**Boulal et al. 2007).** Cependant, ces dernières années, dans les zones céréalières ou l'on pratique le semis direct, les mauvaises herbes se sont multipliées pour couvrir de plus grandes superficies et les pertes causées par ces adventices sont de 20 à 50 % de la production nationale. La concurrence commence dés le tallage jusqu'à la floraison dans la culture du blé**.** Par ailleurs, l'utilisation des herbicides chimiques est un processus efficace pour lutter contre ce fléau (**Bruneton, 1999)** mais cette pratique est onéreuse et nuisible pour l'environnement et la santé humaine.

2- Matériel et méthodes

2-1. Localisation de l'expérimentation

L'expérimentation de notre travail a été réalisée au niveau des laboratoires d'Ecologie et de phytotechnie de la faculté des sciences de la vie et de la nature (SNV), département nutrition et technologie agro-alimentaire de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret.

2-2. Les mauvaises herbes

Les semences des adventices sont sélectionnées par tamisage du sol utilisé et dans les récoltes de blé dur issues de deux parcelles élémentaires chacune de dimension 20m×10m = 200m^2 l'une labourée **(TC)** et l'autre non **(en semis direct-SD)** emblavé de Blé dur dans la station de recherche de l'institut technique des grandes cultures (ITGC), située dans l'étage bioclimatique semi-aride à une altitude de 980m, Latitude de 35°24'8''N et Longitude de 1°34'29''E. Le sol utilisé est de texture limono-argileuse riche en calcaire. Quatre adventices ont étés sélectionnées **(Fig. 01)**.

- ***Melilot Melilotus:*** légumineuse à gousses monograine striée ;
- ***Galium tricorne***: rubiacées, à pédicelle portant les fruits réunis par trois ;
- ***Centaurea nicaeensis*:** famille composée, bisannuelle à tige dressée d'un mètre de haut.
- ***Muscari comosum*** **:** Liliacée vivace de 60 cm de haut qui fleurit au printemps.

(a) **(b)** **(c)** **(d)** **(e)**

Fig. 01 : Photo des adventices *Melilot Melilotus* ***(a),*** *Galium tricorne* ***(b),*** *Centaurea nicaeensis* ***(c)*** *Muscari comosum* ***(d)*** et de la plante-herbicide *Eucalyptus globulus (e)*

2-3. La plante herbicide *Eucalyptus globulus:* Arbre de 30 mètres de haut, originaire d'Australie, au tronc droit, lisse, grisâtre. **(Quezel et Santa, 1963; Guignard, 2001).** L'écorce et les feuilles riches en tanin et en huile essentielle (5à7%) aromatique et antiseptique aux doses thérapeutiques mais toxiques à forte dose (**Bruneton, 1999**), dont le composant principal est l'eucalyptol ainsi que des terpénoïdes et des phénylpropanoïdes, (**Davidson, et al, 2004) (Fig.01).**

2-3. Présentation de l'herbicide chimique 2.4D: Herbicide systémique sélectif qui est l'Auxine (2,4-dichlorophenoxy). Cet herbicide est utilisé à raison de 0,3 à 2,3 kg/ha pour l'élimination en post-levée des mauvaises herbes à feuilles larges proliférant à proximité des céréales, du gazon, du riz et des jachères.

2-5. Préparation de l'extrait aqueux de *l'Eucalyptus globulus*

Les feuilles ***d'Eucalyptus globulus L.*** fraîchement récoltées sont lavées et séchées dans une étuve à 40C° pendant 92h puis broyées en poudre à l'aide d'un broyeur de graines et de paille de céréales (type FRITSCH, Germany). Une

quantité de 100g de poudre est diluée dans un litre d'eau distillée préalablement portée à ébullition, puis laissée refroidir sous agitation magnétique pendant 30 minutes. Le mélange obtenu est filtré avec du papier Whatman. Le filtrat récupéré représente une solution initiale à 100g / l soit à 10 %.

2-6. Le test d'efficacité: Les graines choisies sont désinfectées par l'hypochlorite de sodium (5%) puis rincées à l'eau distillée et mises à germer à une température de 25°C dans des boîtes de Pétri en verre de 9cm de diamètre selon deux répétitions et chacune comporte cinq lots soit (Fig.02):

- un premier témoin (eau du robinet).
- un deuxième témoin (solution d'herbicide 2,4D).
- deux concentrations de l'extrait aqueux des feuilles ***d'Eucalyptus globulus*** à 10 et 20%.

Chaque lot est composé de cinq boites de Pétri soit quatre adventices (***Centaurea, Gallium, Melilot et Muscari*) et** des graines de Blé à raison de 10 graines par boite. Les graines sont placées dans des boites de Pétri tapissées de papier filtre imbibé quotidiennement par 5ml de solution et mises dans l'étuve à 28°C. La germination correspond à l'apparition de la radicule et les observations quotidiennes durent 15 jours.

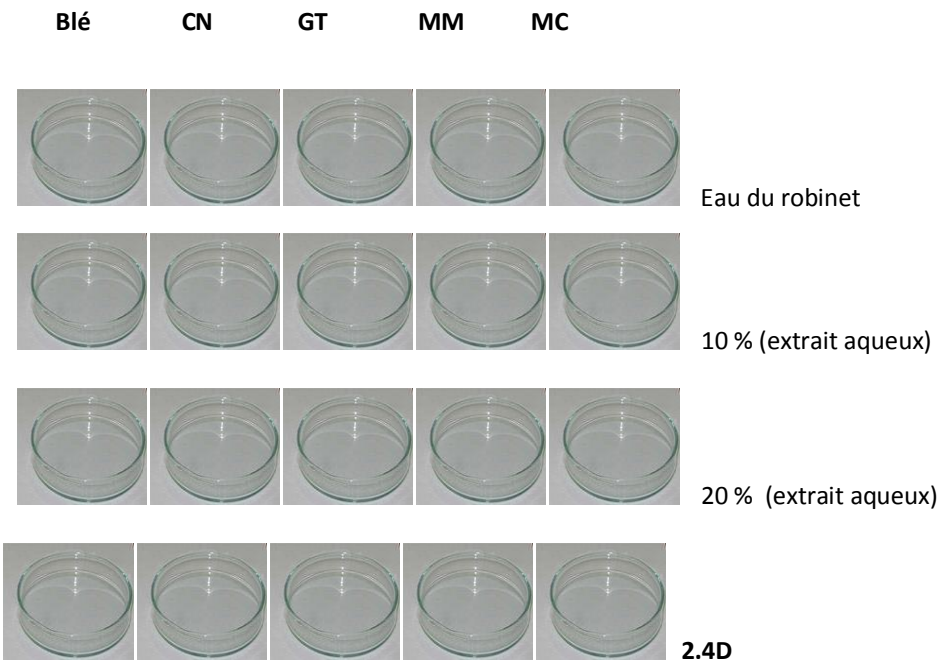


Fig. 02 : Schéma du dispositif expérimental pour le test d'efficacité

La mortalité est le premier critère de jugement de l'efficacité d'un traitement chimique ou biologique. Le pourcentage de mortalité observée chez les graines de mauvaises herbes est estimé selon la formule suivante :

Mortalité observée= [nombre de graines germées/nombre total de graines testées] × 100

3- Résultats et discussion

3.1. Analyse de la faculté germinative des semences utilisées:

Tableau 1 : Taux de germination des semences utilisées du Blé

Temps	24h	48h	72h	1 semaine	10 jours	2 semaines
Blé dur	0%	20%	40%	80%	100%	100%

Après 48 h, les semences utilisées de blé ont germés au nombre de 2 graines/boite soit 20%. Après 72 h, le taux de germination est monté à 40% pour atteindre 80% après une semaine. Le taux de germination s'est élevé à 100% pour le blé soit toutes les graines ont germées au terme de la 2ème semaine.

3.2. Taux de germination des graines à tester dans l'eau du robinet (Traitement témoin)

Après 48 h, les semences de blé utilisées ont germées avec un taux de 15%. Après 72 heures, ce taux est monté à 30% pour atteindre 100%, après une semaine de germination. Par contre, aucun signe de germination pour les semences d'adventices après 48 h, puis environ 5% après 72h pour atteindre 40% à 60% au bout de 15 jours pour les adventices des céréales (**Fig.3a).** Au terme de la 2ème semaine, les résultats obtenus démontrent un taux de germination faible et un retard dans la germination pour les graines d'adventices par rapport aux graines de la céréale cultivée qui est le blé.

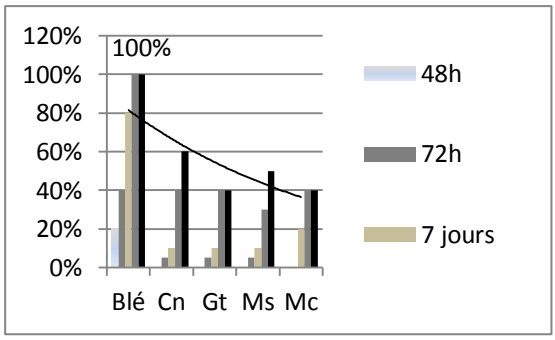
Tableau 2 : Taux de germination des graines d'adventices et de blé traitées par l'extrait aqueux des feuilles d'Eucalyptus à concentrations croissantes

	Apres 48 h		Apres 72h		une semaine		10 jours		2 semaines	
%	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20
Blé dur	+		+		+		+++	+	++++	+
CN										
GT										
MS										
MC							+		+	

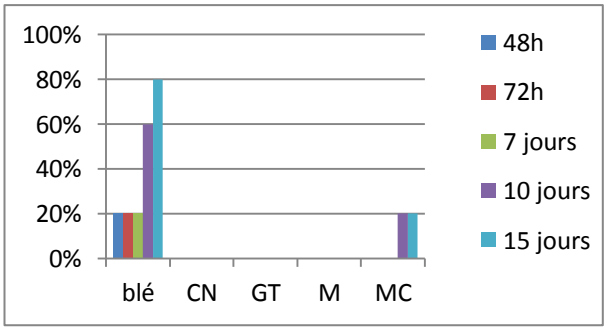
(+) = 20% de graines germées

3.3. Effet herbicide de l'extrait aqueux *d'Eucalyptus globulus* à 10%

Selon la figure 3b, l'extrait aqueux *d'*Eucalyptus *globulus* à 10% a un effet herbicide significatif. En effet, l'action herbicide s'affiche à partir du début de l'expérimentation, en particulier sur les adventices qui sont *Centaurea (CN), Gallium (GT) et Melilot (MM).*



(a)



(b)

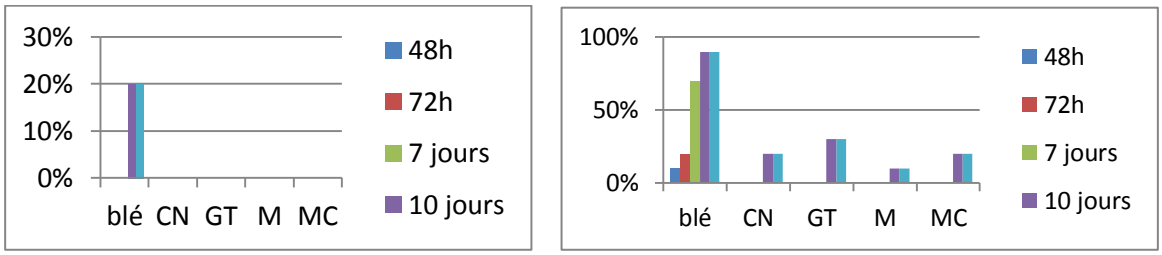
Fig.3: Cinétique de la germination dans l'eau du robinet (a) Germination des graines d'adventices dans l'extrait aqueux *d*'E. *globulus* à 10% **(b)**

3.4. Effet herbicide de l'extrait aqueux à 20% *d'Eucalyptus globulus*

Selon la figure 04a, on note un effet herbicide de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* à 20% qui est très remarquable pour l'ensemble des semences utilisées car l'action herbicide apparait dés le début de l'expérimentation en particulier sur toutes les adventices des céréales mais aussi sur les semences des céréales à protéger qui affichent un très faible taux de germination de 20% au cours de la 2ème semaine.

3.5. Effet de l'herbicide chimique 2.4 D

Selon la figure 4b, on note un effet herbicide du 2.4 D qui est très remarquable pour l'ensemble des semences d'adventices utilisées. En effet, l'action herbicide apparait dés le début de l'expérimentation sur tous les adventices des céréales. Néanmoins, au cours de la deuxième semaine, on note un taux de germination de 20% pour les semences d'adventices utilisées; Par contre, la céréale utilisée, à savoir le Blé, n'a pas été affecté par l'herbicide chimique.



(a) **(b)**

Fig.4: Germination des graines d'adventices dans l'extrait aqueux *d'*E. *globulus* à 20% (a) et dans l'herbicide chimique 2.4D (b)

4- Discussion

Selon Friedman (1995), l'allélopathie ne se manifeste que lorsque la quantité critique des composés allélochimiques atteint la plante ou la graine cible (Dhima *et al,* 2006). Par ailleurs, Arslan et *al.* (2005), Uremis et *al.* (2005), Turk et Tawaha (2003) ont montrés que l'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits (Friedman, 1995; Malcolm *et al.* 2003). En protection des cultures, les herbicides sont employés pour lutter contre les adventices, ou "mauvaises herbes". En protection des cultures, l'herbicide est une substance (matière active) ou préparation (spéciale) qui permet de lutter contre les mauvaises herbes (adventices) dans une culture donnée, (Chung *et al.* 2003; Chebbi et lachaal. 2004).

L'effet herbicide de l'extrait aqueux d'Eucalyptus globulus à 10% et 20% est très remarquable pour l'ensemble des semences des plantes testées. Concernant les trois adventices *Gallium, Melilot* et *centaurea*, le taux d'inhibition de la germination augmente progressivement avec la concentration de l'extrait. Cela est dû probablement, à la forte sensibilité de certaines mauvaises herbes par rapport à d'autres. L'inhibition augmente lorsque la concentration des extraits augmente. Par ailleurs, l'extrait n'a pas trop affecté la germination de la variété de blé dur utilisé sauf pour la forte concentration (extrait à 20%). A des doses de 3 % et 5 %, les extraits de *P. harmala* et *N. oleander*, inhibent

le développement des plantules de *Silybum marianum (L) Gaertn.* De même pour la folle avoine (*Avena sterilis* L.) dont la germination est inhibée totalement par l'extrait de *P. harmala* L. à la dose de 5 %, (Benmeddour, 2010).

Pour sa part, Machado (2007) a trouvé aussi que la germination de la folle avoine est inhibée complètement par des extraits (5 %) de feuilles des espèces allélopathiques *Limnanthes alba* Hartw. ex Benth., *Vigna sesquipedalis* (L.) Walp. et *Picea pungens* Engelm. Par ailleurs, on note une inefficacité partielle de l'herbicide chimique utilisé (2.4D) car certaines Adventices ont germées en sa présence d'ou apparition de résistance. Par conséquent, les plantes PAM représentent une alternative de lutte biologique et une source inépuisable de substances et de composées naturels bioactifs (Aouinty *et al.* 2006).

5- Conclusion

Avec l'apparition des pesticides de synthèse il y a environ 50 ans, on a pensé éliminer les ennemis des cultures telles que les adventices. Mais cela ne s'est pas produit, toutefois, les agriculteurs ayant accès aux pesticides de synthèse sont rarement victimes d'infestations dévastatrices et l'augmentation de la quantité et de la qualité des produits agricoles sont les causes de l'utilisation excessive des pesticides. Cependant, au cours des dernières années la recherche de phyto-herbicides s'est avéré une stratégie particulièrement adaptée aux exigences du consommateur pour préserver la santé humaine et l'environnement. Dans cette optique, notre travail s'est basé sur la recherche de plantes susceptibles de constituer des désherbants accessibles, efficaces et adaptés à la culture des céréales.

Les résultats et les conclusions établis permettent un espoir raisonnable d'utilisation des extraits inhibiteurs de germination. En effet, l'*Eucalyptus globulus s'*est révélé comme un puissant inhibiteur, ce qui est confirmé par des travaux antécédents qui ont démontrées la faculté allélopathique de l'Eucalyptus. Une baisse progressive de la germination des MH sous l'influence des extraits *d'Eucalyptus globulus* est très marquée chez certaines MH comparé à d'autres. Le taux d'inhibition de germination est variable selon l'extrait et l'adventice. Le taux de d'inhibition de germination de 100% est atteint d'abord chez ceux traités par l'extrait à 20% puis par l'extrait à 10%. Ces résultats autorisent à penser que l'extrait aqueux d'eucalyptus pourrait servir comme désherbant accessible, efficace et adapté à la culture des céréales à la dose convenable. Les extraits foliaires de ces végétaux peuvent se substituer aux herbicides chimiques dans le domaine de la phyto protection. D'autant plus que l'eucalyptus est relativement abondant et rustique.

Références bibliographiques

- Aouinty. B., Oufara. S., Mellouki. F., Mahari. S., 2006 : Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles de ricin. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., vol. 10 (2) : 67-71
- Arslan, M., I. Uremis and A. Uludag. 2005. Determining bio-herbicidal potential of rapeseed and turnip extracts on germination inhibition of cutleaf ground-cherry (*Physalis angulata* L.) seeds. Journal of Agronomy 4:134-137.
- Arvalis., 2006 : Diagnostic des accidents du blé dur, Institut du végétal, p 26.
- Benbelkacem A et k .kellou , 2004: Station ITGC El khroub, Constantine, Algérie.
- Benmedour tarek, 2010. Etude du pouvoir allélopathique de l'Harmel (Peganum harmala), le laurier rose (Nerium oleander) et l'ailante (Ailanthus altissima (Mill.) sur la germination de quelques mauvaises herbes des céréales; Thèse Magister bio-physiologie végétale; Univ Ferhat Abbas-Setif
- Bougenar. A, Zaghouane. F et Zaghouane. O, 2006. Guide des principales variétés de céréales à pailles en Algérie, pp: 22-24.
- Boulal H., Zaghouane O., El Mourid M. et Rezgui S., 2007. Guide pratique des céréales d'automne (blé et orge) dans le Maghreb (Algérie. Maroc. Tunisie). ITGC/INRAA/ ICARDA 176 p.

- Bruneton. J, 1999. Pharmacognosie, Phytochimie- Plantes médicinales-Techniques et documentations, 3ème édition, Lavoisier, pp. 463, 661-670,721-730.
- Chebbi et lachaal., 2004. L'agriculture et la sécurité alimentaire, une étude comparative des pays du Maghreb. Medit vol 3 n°03.Rev. Médit. d'économie agriculture et environnement, Ed.IAM, Bari, p 4-11.
- Chung, I. M., K. H. Kim, J. K. Ahn, S. B. Lee, S. H. Kim and S. J. Hahn. 2003. Allelopathy: Comparison of Allelopathic Potential of Rice Leaves, Straw and Hull Extracts on Barnyardgrass. Agronomy Journal 95:1063-1070
- Davidson. NJ, Battaglia. M et Close. DC, 2004. Photosynthetic responses to overnight frost in *Eucalyptus nitens* and *E. Globulus*. Trees - Structure and Function 18, 245-252
- Dhima, K. V., I. B. Vasilakoglou, and A. S. Lithourgidis. 2006. Allelopathic potential of winter cereal cover crop mulches on grass weed suppression and sugarbeet development. Crop Science 46:1682-1691.
- Erdemoglu N, Kûpeli E, Yesilada. E, 2003: Anti-inflammatory and anti nociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. Journal of Ethnophamiacology, vol.89, pp.123-12.
- Fenni, M. 2003. Etudes des mauvaises herbes des céréales d'hiver des hautes plaines constantinoises : écologie, phénologie et biologie des bromes. Thèse Doctorat d'état, univ.Ferhat Abbas, Sétif, Algérie. 196 p.
- Fouché J.G, Marquet, A. Hambuckers, A, 2000. Les plantes médicinales : de la plante au médicament; Observatoire du Monde des Plantes; Sart-Tilman, B77. B-4000 Liège
- Friedman, J. 1995. Allelopathy, Autotoxicity, and germination. In Seed development and germination. CRC Press, Florida. pp. 629-643.
- Guignard. J. L 2001. Abrégé Botanique. Systématique Moléculaire. 12ème Ed. Masson
- Jouve P (2000). La filière des céréales dans les pays du Maghreb: constante des enjeux évolution des politiques options méditerranéennes, série B/ 14. Ed.Ciheam, France. pp170-192.
- Machado, S. 2007. Allelopathic potential of various plant species on downy brome implications for weed control in wheat production. Agronomy journal 99(1):127-132.
- Macheix, J.-J., A. Fleuriet et C. Jay-Allemand. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR, Lausanne. pp. 91-92.
- Malcolm, P. J., P. Holford, W. B. McGlasson and S. Newman. 2003. Temperature and seed weight affect the germination of peach rootstock seeds and the growth of rootstock seedlings. Scientia Horticulturae 98(3):247-256.
- Quezel P. et Santa S, 1963: Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales.Tome II.
- Skouri F et latiri C, 2001: L'agriculture pluviale dans pays du maghreb, Ed. Agricod, France, p147-160.
- Turk, M A. and A M. Tawaha. 2003. Allelopathic effect of black mustard (*Brassica nigra* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.). Crop protection 22(4):673-677.
- Uremis, I., M. Arslan and A. Uludag. 2005. Allelopathic effects of some brassica species on germination and growth of cutleaf ground-cherry (*Physalis angulata* L.) seeds. Journal of Biological Sciences 5:661-665.

Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare*

Fatiha Abdellah, Laid Boukraâ and Si Mohammed Hammoudi

Laboratory of Research on Local Animal Products, Ibn-Khaldoun University of Tiaret, Algeria

Abstract

Antimicrobial properties of plants essential oils have been investigated through several observations and clinical studies and have shown to be a tool to overcome the microbial drug resistance problem. The aim of this research is to study the antimicrobial effect of two essential oils of medicinal plants; *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare,* by determining the minimum inhibitory concentrations (MIC) *in vitro* using the agar incorporation method. For this, seven bacterial strains and tow fungal strains were used. The results indicate that both of essential oils were effective against all bacterial and fungal species. Fungi strains are more sensitive where a concentration of 0.25µl/ml of *Origanum vulgare* essential oil was sufficient to inhibit the growth of *Aspergillus niger*. These results support the notion that plant essential oils and extracts may play a role as pharmaceuticals and food preservation.

Key words: *Thymus vulgaris, Origanum vulgare,* Essential oil, Antimicrobial, MIC

Introduction

In the present time, drug resistance in microbes is a very serious problem. Hence, herbal medicines are considered as safe alternatives of synthetic drugs. Plants and their essential oils (EOs) are potentially useful sources of antimicrobial compounds. Numerous studies have been published on the antimicrobial activities of plant compounds against many different types of microbes (Soković et al., 2010). *Origanum* is an important medicinal plant which belongs to the family of Lamiaceae, tribe Mentheae and comprises of 42 species and 18 hybrids .*Origanum* is a monospecific section consisting of the species *O. vulgare*, widely distributed in North Africa and in temperate and arid zones of Eurasia. The genus *Thymus* belongs to the Lamiaceae family is one of the most taxonomically complex genera and includes 250-350 species and varieties of wild growing evergreen species of herbaceous perennials and subshrubs, native to Southern Europe, North Africa and Asia (Sidali et al., 2017). The essential oils of oregano and thyme are known to possess a wide range of biological activities both plants are commonly used in foods, for flavor and aroma, in pharmaceutical and cosmetic industry (Soković et al 2013).The aim of this research is to evaluate the antimicrobial effect of two essential oils of medicinal plants; *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* in an attempt to contribute to the use of this EOs as alternative natural source medicine to prevent and treat many microbial diseases.

1. Material and Methods

1.1. Essential oils extraction

The aerial parts (leaves and flowers, 30 g) of the plant *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* were dried at room temperature, hydrodistilled for 3 h using a Clevenger type apparatus (British Pharmacopoeia, 1998). The oils were dried over anhydrous sodium sulfate and stored in the darck at 2-4°C.

1.2. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

GC analysis was carried out using a Shimadzu 2010 Plus gas chromatograph coupled to a Shimadzu QP2010 Ultra mass selective detector. The separation was performed by means of a Restek Rxi-5MS capillary column, 60 m lenght, 0.25 mm i.d. and a 0.25 µm phase thickness. The split mode was used. The oven program was as follows: Initial temperature was 60 °C for 2 min, which was increased to 240 °C at 3 °C min^{-1}, 250 °C was maintained for 4 min. Helium (99.999%) was used as carrier gas with a constant flow-rate of 1 mL min^{-1}. Detection was carried out in electronic impact mode (EI); ionization voltage was fixed to 70 eV. Scan mode (40-450 *m/z*) was used for mass acquisition. The volatile compounds were identified by comparison of their retention indices (relative to C7-C30 alkane standards), and matching mass spectral data with those held in FFNSC1.2 and W9N11 library of mass spectra and literature comparison (Bicchi et al., 2008). This part of the study has been performed in the department of chemistry, Faculty of Sciences, Karadeniz Technical University, Trabzon Turkey.

1.3. Evaluation of the antimicrobial activity

1.3.1. Bacterial strain and inoculums standardization

This part of the study was performed in the laboratory of research on local animal products of Ibn-Khaldoun University, Tiaret, Algeria. Reference strains of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* oxaR ATCC 43300, *Staphylococcus aureus* oxa S ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 *Aspergillus niger* ATCC 106404 were kindly provided by the university hospital center of Mustapha Pasha, Algiers (Algeria). Whereas *A. flavus* was isolated from contaminated food at the Institute of Veterinary Sciences (Tiaret, Algeria). Prior to the experiment the strain was maintained by subculture in the specific media; for the bacterial strains the inoculum suspension was obtained by taking five colonies from 24 hours culture, then suspended in 5 ml of sterile saline (0.85% NaCl) and shacked for 15 seconds. The density was adjusted to the turbidity of a 0.5 McFarland Standard (equivalent to 1×10^8 cfu/mL). Stock suspensions of fungi were prepared from sporulating 7-day-old cultures grown on Sabouraud agar at 28°C. Colonies were covered with 5 ml of sterile distilled water and the surface scraped with a sterile loop. The mixture of conidia and hyphal fragments was filtered through an 8 mm sterile filter and collected in a sterile tube. This procedure removed the majority of the hyphae, producing inocula composed mainly of spores. Turbidity of the final inocula was adjusted to 0.5 McFarland Standard.

1.3.2. Minimum Inhibitory Concentration Measurement (MIC)

The MIC values of essential oils have been determined, by using an agar incorporation technique method. Essential oils were incorporated into Mueller-Hinton media with increasing concentrations. The mixture was shacked moderately and poured into plates, then standard inoculums of 0.5 McFarland of each microbial strains was inoculated and the plates were incubated at 37°C for 24 hours for bacterial strains and 7 days at 28°C for fungi strains. The MIC was determined based on the lowest concentration of essential oils that inhibited the growth of the tested micro-organisms.

2. Results and Discussion

The chemical composition of the tested EOs is presented in table 1

Table1. Chemical composition of essential oils

Sample Code	Name of Compound	Area (%)	RI
Thymus vulgaris			
1	*α* –Pinene	7.83	944
2	Benzene,1,2,3-trimethyl	6.82	976
3	Myrcene	2.63	995
4	Benzene,1,3,5-trimethyl	24.65	1002
5	*α*-Terpene	3.55	1025
6	*p*-Cymene	27.38	1032
7	*γ* –Terpinene	12.36	1066
8	Carvacrol	12.77	1303
Origanum vulgare			
1	Benzene 1,2,3 trimethyl	12.27	976
2	Benzene 1,3,5 trimethyl	66.90	1002
3	Undecane	5.89	1100
4	Carvacrol	14.94	1303

The essential oil of *Thymus vulgaris* was rich in *p*-Cymene (27.38%), Benzene 1,3,5 trimethyl (24.65%), while carvacrol and γ-terpinene were also dominant constituents with slightly lower percentage (12.77% and 12.36%). *Origanum vulgare* essential oil was abundant with

Benzene 1,3,5 trimethyl (66.90%), carvacrol (14.94%).Chemical analysis of *O. vulgare* by other authors (Tian and Lai, 2006; Chaudhry et al., 2007; Stojković et al 2013) also showed that the main constituents of this oil are phenols: carvacrol and thymol. However, some reports (Bussata et al., 2007) revealed monoterpene hydrocarbons terpinen-4-ol and γ-terpinen as the main components in chemical analysis. The results of chemical analysis of *T. vulgaris* are in accordance with previous studies (Rota et al., 2008, Hudaib et al., 2002; Stojković et al 2013) with major constituents being p-cymene.

Table 2. The antimicrobial activity of essential oils against microbial species

MIC Values of Essential Oils (µl/ml)		
Strains / EOs	*Thymus vulgaris*	*Origanum vulgare*
S.aureus ATCC 33862	2.56	3.44
S.aureus ATCC 43300	2.56	5.26
S.aureus ATCC 25923	2.56	3.44
B.cereus ATCC 11778	2.56	2.56
B.subtilis ATCC 6633	2.04	3.44
E.coli ATCC 25922	5.26	3.44
P.aeruginosa ATCC 27853	3	2.04
A.niger ATCC 106404	0.5	0.5
A.flavus	0.25	0.5

The results revealed that the selected essential oils showed antimicrobial activity against all the tested strains with varying magnitudes. Previous studies showed that essential oils of aromatic plants have antimicrobial activity against bacteria and fungi. Their antimicrobial activity is attributed to the presence of small terpenoid and phenolic compounds.It seems evident that there is a relationship between the high activity of the *Thymus* and *Oreganum* type oils and the presence of phenol components, such as carvacrol. The high antimicrobial activity of these essential oils could be explained by their high percentage of phenol components. It seems likely, that carvacrol interferes with the activity of cell wall enzymes like chitin synthase/chitinase as well as α- and β- glucanases of fungi (Gaunt, et al., 2005). Thus carvacrol in thyme and Oregon essential oils is able to increase cell membrane permeability and allows accumulation of γ-ocimene and terpinen-4-ol in cytoplasmic membranes to toxics levels (Di pasqua et al., 2005).

-Soković et al., (2010) studied the antibacterial activity of these oils and their main components and they found that carvacrol is the dominant component in *Origanum vulgare* oil . Thymol and *p*cymene are the major components in *Thymus vulgaris* oil. *O. vulgare* and *T. vulgaris* essential oils possess a higher antibacterial effect than streptomycin. Carvacrol showed the strongest antibacterial activity. Another study done by Özkalp et al.,(2010) showed that Oregano oil possessed stronger antimicrobial activity against *Escherichia coli* RSKK 340, *Klebsiella pneumonia* RSKK 06017, *Pseudomonas aeruginosa* RSKK 06021, *Salmonella enteritidis* RSKK 96046, *Streptococcus pyogones* RSKK 413/214, *Bacillus cereus* RSKK 1122, *Staphylococcus aureus* RSKK 96090 and methicilline-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) compared with the antibiotic ampicillin.

- Chaudhry et al., (2007) found that the oregano oil exhibited significant inhibitory activity against *Citrobacter* spp.,*Salmonella typhi* and *Escherichia coli*. It has long been acknowledged that oregano oil is among the most active against strains of *E. coli* and also presents antimicrobial activity against pathogenic microorganisms like *Salmonella. choleraesuis*, *S. typhi*, *S. typhimurium* and many other related GNB strains of *Enterobacteriaceae* family and *H. pylori* (Stamatis,et al.,2003). Similarly, the results of previous study are in accordance with the reports on

oregano oil against GNB viz., *Proteus vulgaris*, *Aeromonas hydrophila, Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* (Baydar,et al.,2004) .Stojković et al.,(2013) found that the essential oil of *O. vulgare* was rich in carvacrol (64.50%), while *p*-cymene and γ-terpinene were also dominant constituents with slightly lower percentage (10.90% and 10.80%). *T. vulgaris* essential oil was abundant with thymol (48.92%), followed by *p*-cymene (18.99%). Tohidpour et al., (2010) found in their study that *T. vulgaris* essential oil showed better inhibitory effects than *Eucalyptus globulus* essential oil against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). GC analysis of *T. vulgaris* resulted in thymol as the oil major compound whereas GC/MS assay exhibited eucalyptol as the most abundant constitute of *Eucalyptus globulus*.

Conclusion

The study demonstrated that essential oils of medicinal plants *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* represents an economic source of natural mixtures of antimicrobial compounds that can be as effective and modern medicine to combat pathogenic microorganisms and safe alternative to treat infectious diseases.

Références

Baydar, H., Osman, S., Ozkan, G., and Karadoan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15:169-172.

Bicchi, C., Liberto, E., Matteodo, M., Sgorbini, B., Mondello, L.,. Zellner, B.A., Costa R and Rubiolo, P. (2008). Quantitative analysis of essential oils: a complex task. *Flavour and fragrance Journal,* 23,382-391

Bussata*, C., Mossi A.J., Rodrigues, M.R.A., Cansian, R.L.* and *J. V. de Oliveira* (2007). Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. The ***Brazilian Journal of Microbiology.*** 38, 610-616.

Chaudhry Masood, N. A., Saeed, S and Tariq, P. (2007).Antibacterial effects of oregano (*Origanum vulgare*) against Gram negative bacilli. ***Pakistan Journal*** of ***Botany***, 39 (2): 609-613.

Di pasqua, R., De feo, V., Villiani, F., Mauriello, G. (2005). *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from mediterranean.Apiaceae,Verbenaceae and lamiaceae against foodorne pathogens and spoilage bacteria. *Annals of Microbiology*. 55 (2), 139-143.

Gaunt, L.F., Higgins, S.C and Hughes, J.F. (2005). Interaction of air ions and bactericidal vapours to control micro-organisms. ***Applied Microbiology***, 99,1324-1329.

Hudaib, M., Speroni, E., Di Pietra, A.M. and V. Cavrini (2002). GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris L.*) oil composition and variations during the vegetative cycle. Journal of ***Pharmaceutical*** *and* ***Biomedical*** *Analysis.* 29, 691-700.

Özkalp ,B., Sevgi, F., Özcan, M and Özcan , M. M. (2010).The antibacterial activity of essential oil of oregano *(Origanum vulgare L.). Journal of Food, Agriculture and Environment,* 8 (2), 272 – 274.

Rota, M.C., Herrera, A., Martinez, R.M., Sotomayor, J.A. and M.J. Jordan (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris, Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*. 19(7), 681-687.

Sidali, L., Brada, M., Fauconnier, M.L., Lognay, G., Heuskin, S.(2017). Chemical composition, acute toxicity, antimicrobial and anti-inflammatory activities of *Thymus fontanesii* essential oil from Algeria. PhytoChem & BioSub Journal, 11(1): 2170-1768.

Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P.D., Brkić, D and Griensven ,D.V. (2010).Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an *In Vitro* Model. *Molecules*, 15, 7532-7546.

Stamatis, G., Kyriazopoulos, P., Goleyou, S., Basayiannis, A., Skaltsas, S and Skaltsa,H. (2003).*In vitro* anti-Helicobacter pylori activity of Greek herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*. 88 (2-3): 175-179.

Stojković, D., glamočlija, J., Ana ćirić, M,. Nikolić, M., Ristić, Š.J and Soković, M. (2013). investigation on antibacterial synergism of *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* essential oils. *Archives of Biological Sciences*, 65 (2): 639-643.

Tian, H., and D.M. Lai (2006). Analysis on the volatile oil in *Origanum vulgare*. *Zhong Yao Cai*., 29(9): 920-921.

Tohidpour , A. , Sattari , M., Omidbaigi , R., Yadegar , A., Nazemi , J. (2010). Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).*Phytomedicine*, 17(2): 142-145.

Diagnostic de l'apiculture dans trois wilayas de l'Ouest algérien

ABED Fouzia, BACHIR BOUIADJRA Benabdallah, HADDAD Ahmed, HOMRANI Abdelkader

Département d'agronomie, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem-Algérie

Résumé

L'apiculture est un secteur important de l'économie agricole, tant par le rôle joué par les populations d'abeilles dans la pollinisation et la stabilité des écosystèmes que dans la production de miel. 10% de la production des aliments du monde est dépendante de ces pollinisateurs et le rendement de ces services de pollinisation a été estimer par plus de 29 billion/an pour l'Amérique du nord (Calderone, 2012). La surface vaste de l'Algérie, les différents climats et les ressources mellifère assez variables sont des conditions qui ont amené l'apiculture à un point de divergence avec un terrain hétérogène sur plan production, statut sanitaire et même les contraintes et les difficultés rencontrées de la part des apiculteurs. Cette étude tente de dresser un portrait présentatif de l'apiculture dans trois wilayas de l'Ouest algérien Tiaret, Relizane et Mostaganem via un questionnaire formé de 25 questions ciblant les paramètres importants de la filière tels que la production, l'état sanitaire de nos cheptel, et même le problème de l'usage abusif des pesticides. L'enquête a été menée auprès de 206 apiculteurs. Les informations recueillies situent le degré de structuration du secteur et les contraintes freinant leurs développements.

Mots clés: Apiculture, enquête, Ouest algérien, pesticides, miel, ruche

Introduction

Les abeilles, les pollinisateurs les plus rentables fournissent des services de pollinisation agricole et écosystémique très essentiels (environ 70% des cultures agricoles) [1] [2]. En plus de la pollinisation les abeilles produisent les produits de la ruche tels que le miel, la gelée royale, la cire, venin, propolis [3] et joue un rôle d'un bioindicateur de la pollution de l'environnement. Donc les abeilles sont des composants importants pour la sécurité alimentaire, écologique et le maintien de la biodiversité.

L'apiculture est fondamentale comme une source de revenus diversifiés non seulement pour la filière apicole mais aussi pour toute la filière agricole.

Matériel et méthodes

- Afin de faciliter la récolte des données pour cette étude, 255 apiculteurs (Dont 04 apicultrices) ont été interrogés à l'aide d'un questionnaire qui a porté essentiellement sur des renseignements concernant l'apiculteur, son rucher et son environnement.

- La région d'étude s'étend sur trois wilayas: Tiaret, Relizane et Mostaganem

Résultats et discussion

Selon les résultats enregistrés on constate :

I- L'apiculteur

1- Début de l'activité

Une augmentation significative du nombre d'apiculteurs au sein des 03 wilayas au coursdes dernières années cela est due aux projets de soutien fourni par l'état et de la sensibilisation des apiculteurs à l'importance de cette filière

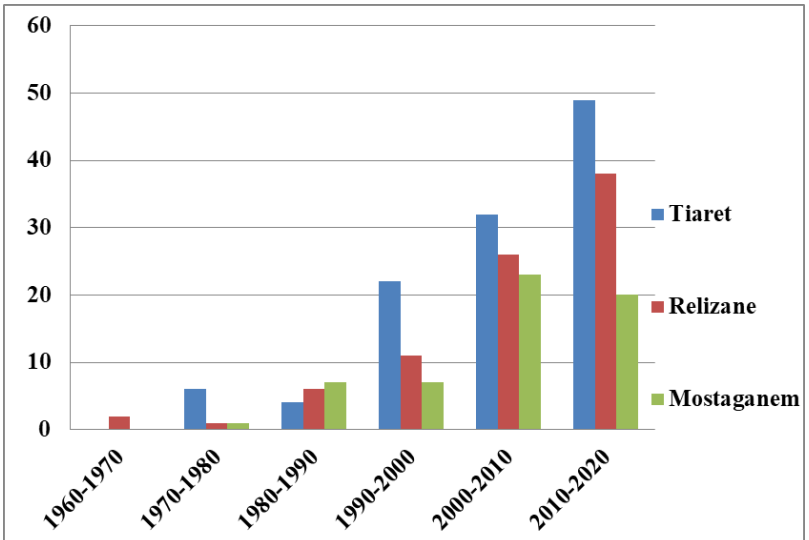


Fig.1. Nombre d'apiculteurs par wilaya

II- Ruche et production

1- Taille du rucher

Les ruchers sont généralement de petites tailles **(Tableau 1)**. Langstroth est le type de ruche moderne le plusutiliséspar les apiculteurs, certains d'autres utilisent totalement le type traditionnel (fabriquées à base de l'argile et de la férule commune). La proportion des apiculteurs mixtes est minime dans les à 03 wilayas visitées.

Tableau 1 : Taille des ruchers par wilaya

Taille du rucher	[1-25]	[25-50]	[50-75]	[75-100]	[100-125]	[125-150]	[150-175]	[175-200]	Total
Tiaret	75	18	13	4	1	0	1	1	113
Relizane	58	8	7	1	6	2	0	2	84
Mostaganem	5	24	16	3	1	3	2	4	58

2- Quantité de miel produite

Sur plan production le miel est le produit majeur avec un rendement de 05 kg pour les ruches traditionnelles et 10kg/ruche pour les ruches modernes de la wilaya de Tiaret(Fig.2).

La moyenne de 15 Kg/ ruche est enregistrée par les apiculteurs de Mostaganem (Fig. 4) et de Relizane(Fig.3).

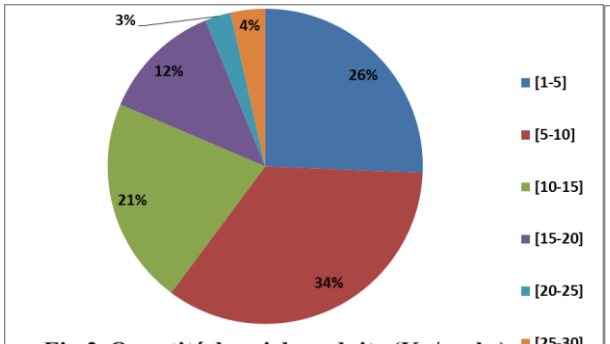


Fig.2. Quantité du miel produite (Kg/ruche) -Tiaret -

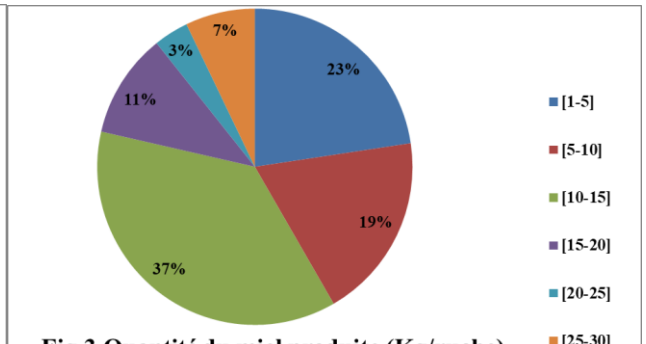


Fig.3.Quantité du miel produite (Kg/ruche) -Relizane-

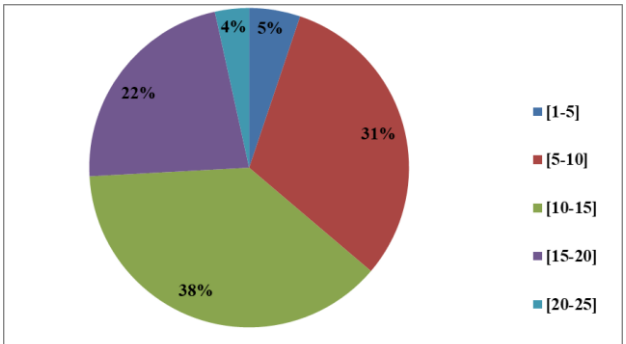


Fig.4. Quantité du miel produite (Kg/ruche) -Mostaganem-

3- Les produits de la ruche

Le miel est le produit de la ruche le plus dominant dans les 03 wilayas enquêtées, la non dissémination des autres produits de la ruche est due à plusieurs facteurs:

- Manque de technicité(les formations) ainsi que le matériel nécessaire pour leurs productions
- Absence de clientèle régulière

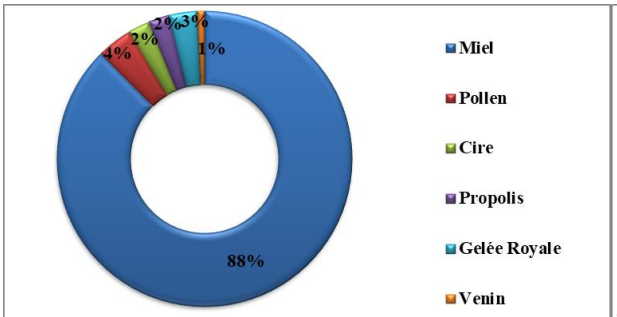


Fig.5. Les produits de la ruche -Tiaret-

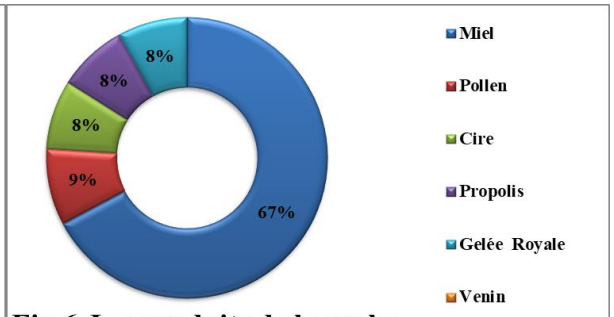


Fig.6. Les produits de la ruche -Relizane-

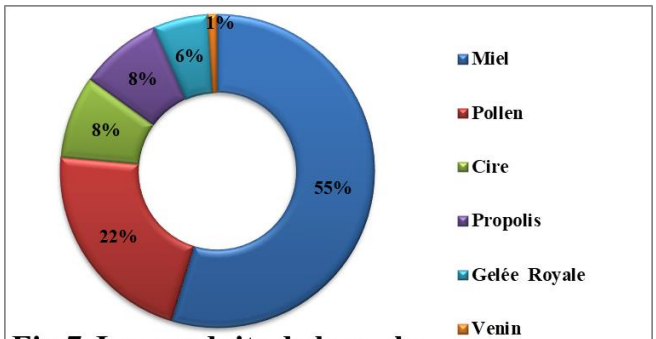


Fig.7. Les produits de la ruche -Mostaganem-

III- Santé et environnement

1- L'utilisation des pesticides

L'usage des pesticides sur les lieux de butinage des abeilles a été annoncé par la majorité des apiculteurs des deux wilayas Relizane et Mostaganem, ceux de Tiaret a ne souffrent pas du problème.

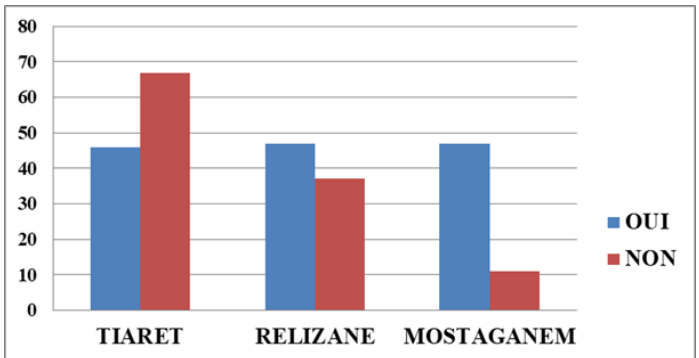


Fig.8. Usage des pesticides

IV- Contraintes et difficultés

Les contraintes socio-économiques et professionnelles sont à l'origine de la faible production et la non dissémination des autres produits de la ruche **(Fig. 9).**

La lourdeur et l'allongement des procédures administratives rendent le bénéfice du support financier et l'encouragement étatique délicat et découragent certains apiculteurs professionnels,

L'absence de culture de consommation du miel et les autres produits de la ruche génèrent un souci de non commercialisation pour l'apiculteur

Manque de laboratoire d'analyse et de contrôle de qualité a minimisé la valeur de ce produit en tant qu'aliment et médicament, vue l'existence de quelques fraudes sur le marché et par conséquence la perte de confiance entre apiculteur-client.

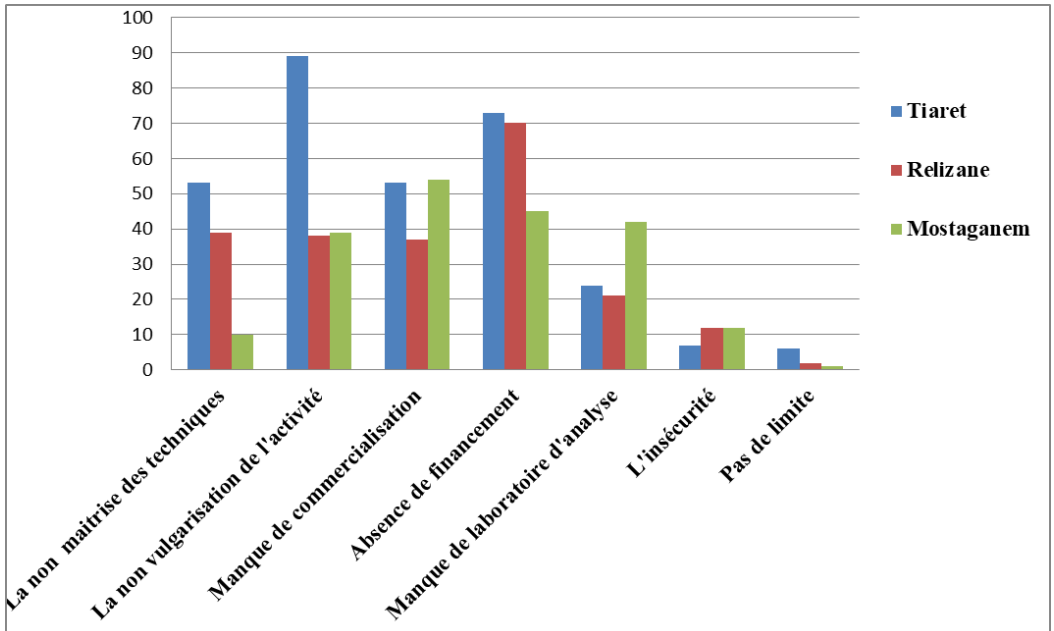


Fig.9. Proportion et importance des contraintes de l'apiculture

Conclusion

D'une manière générale, la filière apicole dans ces régions est très mal organisé et nécessite un dispositif structuré et dynamique d'acquisition de références techniques et économiques donc une mise en point par l'éradication des contraintessocio-économiques et professionnelles et l'investissement dans les ressources humaines « l'apiculteur » par des formations, des ateliers et des workshops professionnelles est la clé du succès de toute ébauche de solution apportée afin d'optimiser la filière.

Réferences bibliographiques

[1] Klein, A.-M., Vaissière, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tscharntke, T., 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. Proc. R. Soc. B 274, 303–313.

[2] Eilers, E.J., Kremen, C., Greenleaf, S.S., Garber, A.K., Klein, A.-M., 2011. Contribution of pollinator-mediated crops to nutrients in the human food supply.PLoS One 6,e21363

[3] Moritz, R.F., Härtel, S., Neumann, P., 2005. Global invasions of the western honeybee (Apis mellifera) and the consequences for biodiversity.Ecoscience 12, 289–301.

Emploi de souches autochtones de *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroïdes* pour des essais de fabrication de fromage frais.

Meghoufel N.L*., Benkrizi N*., Dahou A. E*., Mezadja K., Benotmane K. et Homrani AEK*.
Laboratoire de sciences et techniques de production animale.
meghoufelnaima@yahoo.fr

Résumé

Les ferments lactiques sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire. Ils permettent l'initiation de l'acidification de la matière première et le développement de caractères organoleptiques du produit fini. Le but de ce travail est d'élaborer des ferments composés de souches de bactéries lactiques autochtones et de tester leur efficacité dans la fabrication de fromage frais. Cinq ferments mésophiles, chacun composé de deux souches lactiques (*Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroïdes*) ont été testés. Certaines aptitudes technologiques ont été étudiées pour chaque ferment. Par la suite, des essais de fabrication de fromage frais ont été réalisés au laboratoire. Une évaluation sensorielle de ces fromages a été conduite en se concentrant sur l'appréciation hédonique des produits sous leur forme nature et après amélioration. La vitesse d'acidification des ferments est lente et ne permet pas d'atteindre les valeurs d'acidité requises pour le fromage frais (moyenne des pH 5,53 ± 0,18 et 47,33 ± 4,11 degrés Dornic après 14 heures). Quatre ferments sont positifs à l'activité lipolytique et tous les ferments ont une bonne activité protéolytique. Les fromages ont été moyennement appréciés par les dégustateurs, qui ont préféré le témoin industriel, mais après l'amélioration des fromages, ces derniers ont obtenus un score supérieur au témoin.

Les souches isolées présentent des qualités technologiques et organoleptiques pouvant convenir à l'étape d'affinage des fromages, mais ne sont pas suffisamment compétentes pour être utilisées en tans que starter. Leur incorporation au sein d'un ferment destiné à la fabrication d'un fromage affiné est plus souhaitable pour optimiser leur utilisation.

Mots clés : *Lactococcus ; Leuconostoc*; souches autochtones ; ferment ; fromage; aptitudes technologiques.

Introduction

L'ajout de ferments lactiques au lait permet d'accélérer et d'orienter le processus de fermentation (Leroy and De Vuyst, 2004). Ces ferments sont composés d'une ou de plusieurs espèces de bactéries lactiques dont le rôle principal est d'initier et de diriger la fermentation afin d'obtenir les propriétés souhaitées dans le produit fini, et palier à l'action insuffisante et imprévisible de la flore originale du lait, ainsi que de contribuer aux caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles du produit. (Yildiz, 2010). Le fromage frais est un fromage non affiné qui est prêt à la consommation peu de temps après sa fabrication (CODEX STAN 221-2001) et qui possède des caractéristiques organoleptiques divers (Corrieu and Luquet, 2008), il est fabriqué en utilisant un ferment mésophile (Carminati et *al.*, 2010) qui contient souvent des espèces de bactéries lactiques acidifiantes (*Lactococcus lactis*) et aromatisantes (*Leuconostoc mesenteroïdes*).

Le but de ce travail est d'élaborer des ferments composés de souches de bactéries lactiques autochtones et de tester leur efficacité dans la fabrication de fromage frais.

Méthodologie

1. Chaque ferment est composé de deux souches différentes 1 souche *Leuconostoc mesenteroïdes* + 1 souche *Lactococcus lactis.*

Ces souches ont été isolées à partir du Jben de lait de chèvre de la wilaya de Naâma, et identifiées par MALDI TOF/MS.

Tableau 1: Composition des ferments en souches lactiques

F1	*Leuconostoc mesenteroïdes* JC1 + *Lactococcus lactis* JC4
F2	*Leuconostoc mesenteroïdes* JC1 + *Lactococcus lactis* JC2
F3	*Leuconostoc mesenteroïdes* JC1 + *Lactococcus lactis* JC1
F4	*Leuconostoc mesenteroïdes* JC3 + *Lactococcus lactis* JC4
F5	*Leuconostoc mesenteroïdes* JC5 + *Lactococcus lactis* JC4

Les cultures fraiches (18heures d'incubations à 25°C) de ces souches sont ajustées à 10^6 UFC/ml.

2. Fabrication des Fromages frais: la coagulation du fromage est uniquement lactique.

Du lait entier reconstitué est enrichi en caséines (à 30% de taux protéique) puis stérilisé à 85°C pendant 20 secondes et refroidi immédiatement à 35°C. Ce lait est laissé pendant plusieurs heures à reposer pour permettre aux grains de poudre de se dissoudre entièrement dans l'eau.

Le lait est chauffé à 42°C et la 1re souche (Lactococcus lactis est incorporée à raison de 4% du volume total du lait. Apres une incubation de 5heures à 25°C, la 2eme souche est ajoutée à raison de 1% au lait puis s'en suivra une incubation de 9heures à 25°C.

Le lait fermenté obtenu est chauffé à 42°C afin de permettre au caillé d'expulser le lactosérum, puis il est laissé quelques minutes à pour un égouttage spontané. Le fromage frais est prêt à être consommé.

Parmi les fromages préparés, 2 ont été choisi pour être amélioré par un lissage (par mixage pour rendre l'aspect plus crémeux), les autres ont été laissés sous leur aspect nature.

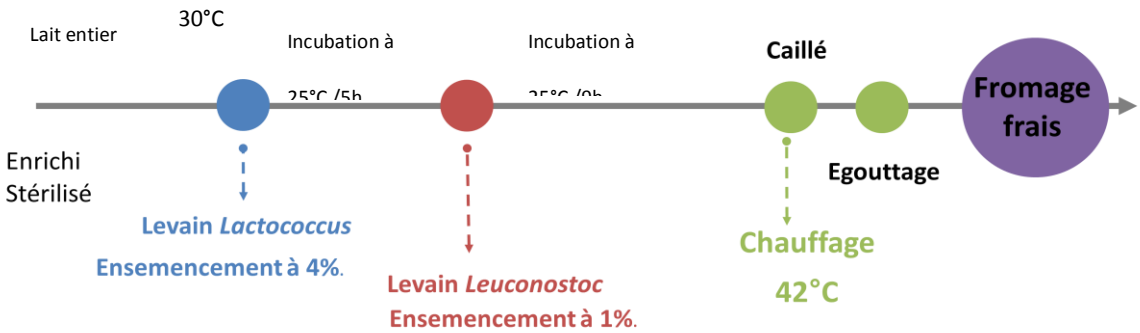


Figure1: Procédé de fabrication du fromage frais.

3. Afin d'évaluer la compétence des ferments testés par rapport à l'activité acidifiante, nous avons procédé à la mesure du pH et de l'acidité titrable au cours de la fabrication des 5 fromages frais natures. Les mesures ont été effectuées tout les 2 heures. Le lait au début de la fabrication des fromages avait un pH de 6,7 et une acidité Dornic de 16D°.

4. La recherche du pouvoir aromatisant des ferment s'est uniquement basé sur la détection de la production d'acétoïne dans les fromages frais préparés par chromatographie gazeuse couplée au spectromètre de masse selon la méthode mise au point par Pogačić et al (2015); la détection des composés volatiles et semi-volatiles a été exécutée par désorbeur thermique.

5. Evaluation sensorielle: les fromages frais préparés (5 fromages sous forme nature + 2 fromage lissé + un témoin) ont subi une évaluation sensorielle, basée sur l'impression générale et la perception hédoniques des produit, par un panel de dégustateurs naïfs, en effectuant des tests de classement du meilleur fromage au moins bon tout en attribuant une note à chaque fromage (de 0 à 10). Les séances de dégustation ont été conduites selon la norme ISO 13302. Le témoin utilisé est un fromage frais industriel de type « petit-suisse ».

Résultats

On observant les résultats du suivi d l'évolution de l'acidification du lait, il est apparu que 14 heures de fermentation ne sont pas suffisante pour transformer le lait en caillé lactique, il a fallut rallonger le temps d'incubation à 20 heures afin d'obtenir un coagulum satisfaisant.

Tableau 2: Moyennes des mesures de la vitesse d'acidification des 5 ferments après 14 et 20 heures d'incubation**.** **(**D°: degré Dornic)

	F1		F2		F3		F4		F5	
	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°
après 14h	5,69	43	5,22	54	5,60	45,66	5,57	46,67	5,60	47,67
après 20h	5,43	54,67	5,06	58,67	5,42	49,67	5,57	58	5,36	58,33

La vitesse d'acidification est faible, son action st lente est ne permet pas d'acidifier du lait en 14heures, et même après 20heures de fermentation, le pH et l'acidité titrable sont en dessous de ce qui est requis pour obtenir un bon fromage frais selon les normes (pH 4.8 après 14heures).

Ces ferments ne peuvent être choisis en état pour initier une acidification en milieu industriel, leur pouvoir acidifiant est trop faible, donc leur utilisation n'est pas rentable.

L'analyse des composés volatiles et semi volatiles de 4 fromages frais natures par GC/MS à désorbeur thermique nous a permis d'observer la présence d'acétoïne dans tout les échantillons testés : F1, F2, F4 et F5 ; les résultats de l'analyse de l'échantillon F3 sont en cours de traitement.

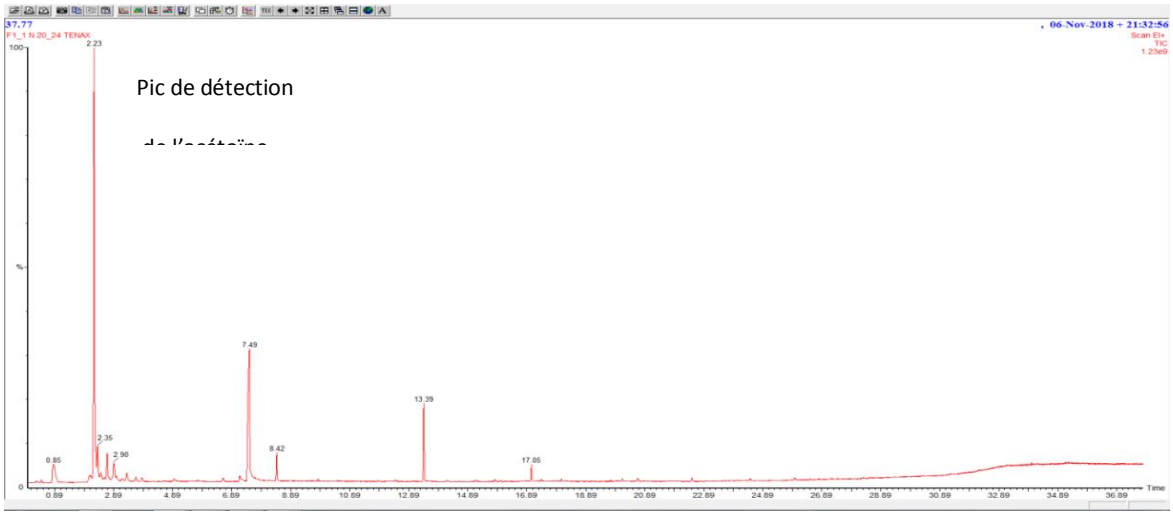


Figure 3: Chromatogramme du volatilome de l'échantillon F1 obtenu par GC/MS à désorbeur thermique.

L'acétoïne a été détecté à des niveaux satisfaisants pour tous les échantillons testés. Cela est encourageant pour prendre en considération le potentiel aromatisant des souches qui composent les ferments et de les utiliser dans des étapes d'affinage de fromages.

À l'issue du test organoleptique, qui a concerné les 5 fromages frais sous leur état brut (nature) ainsi que du témoin « petit suisse » industriel et des 2 fromages amélioré par lissage, les fromages testés ont été classés comme suit du plus au moins apprécié :

Le fromage F5 lissé a été le plus prisé parmi le panel de dégustateur suivi du F3, le test hédonique révèle que l'aspect des fromages joue un rôle primordial dans l'appréciation du consommateur, surtout au niveau gustatif. Les 2 fromages ont d'ailler été préférés au témoin industriel pour leur bon gout et leur douceur.

Le fromage F5 sous sa forme brut n'a pas été apprécié car son aspect rugueux (la sensation en bouche) a rebuté les dégustateurs. Il aura suffi de le mixer quelques minutes pour qu'i soit classé à la première place.

Tableau 3 : classement des fromages d'après les résultats du test de dégustation.

Classement	Fromage	Points
1er	F5 amélioré	46
2ème	F3 amélioré	45
3ème	Témoin	44
4ème	F3	34
5ème	F2	24
6ème	F4	20
7ème	F5	15
8ème	F1	12

Ces résultats sont encourageants, car cela signifie que malgré les lacunes des ferments F5 et F3 au niveau de l'acidification et de l'aspect extérieur des fromages (dû probablement au niveau faible de production d'exopolysaccharides), ils sont utilisables pour leur rôle dans l'aromatisation du produit.

Conclusion

La vitesse d'acidification des 5 ferments est lente (moyenne des pH 5,53 ± 0,18 et 47,33 ± 4,11 degrés Dornic après 14 heures d'incubation), et ne permet pas d'atteindre les valeurs d'acidité requises pour le fromage frais (pH 4.8 après 14heures), ces ferments ne sont pas adaptés à la fonction de Starters (initiateurs de fermentation).

Les fromages préparés avec les 5 ferments ont tous un caillé peu satisfaisant dû à l'acidification lente et insuffisante. Les fromages ont été moyennement appréciés par les dégustateurs, qui ont préféré le témoin industriel, mais après l'étape de lissage des fromages, ces derniers ont obtenus un score supérieur à celui du témoin.

4 ferments ont la capacité de produire de l'acétoïne en quantités appréciables ce qui leur confère un rôle aromatisant.

Les souches isolées présentent des qualités technologiques et organoleptiques pouvant convenir à l'étape d'affinage des fromages, mais ne sont pas suffisamment compétentes pour être utilisées en tans que starter. Leur incorporation au sein d'un ferment mésophile plus complexe destiné à la fabrication d'un fromage affiné est plus souhaitable pour optimiser leur utilisation.

Références

Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. and Reinheimer J., 2010. Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. In : *Biotechnology of lactic bacteria : Novel Applications* (Mozzi F., Raya R.R. and Vignolo G.M.,).

Corrieu G. and Luquet F. M., 2008. *Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments*. Editions TEC & DOC, Lavoisier.

Leroy F., et De Vuyst L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology,* 15: 67-78.

Pogačić T., Maillard M-B., Leclerc A., Hervé C., Chuat V., Valence F. and Thierry A., 2015. *Lactobacillus* and *Leuconostoc* volatilomes in cheese conditions. *APPLIED MICROBIAL AND CELL PHYSIOLOGY.* DOI 10.1007/s00253-015-7227-4

Yildiz F., 2010. *Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products.* Taylor & Francis Group, United State

Remède Contre les Taches Pigmentaires de la Peau à l'Aide d'un Masque de Savon à la Carotte

Fatima Zohra ADLI, FatmaBouabdelli
Laboratoire de Pharmacognosie et Api-Phytothérapie, Université d'Abdelhamid Ben Badis, Mostaganem, Algérie
Email: Fatima_ymail@yahoo.fr

Résumé

La cosmétologie est devenue une science, s'appuyant sur des faits précis d'ordre biologique et physicochimique et cette nouvelle conception s'est définitivement imposée. Cependant, de plus en plus de consommateurs, inquiets suite aux nombreuses campagnes médiatiques visant à créer un rejet des substances synthétiques, se tournent vers les produits cosmétiques biologiques. Notre objectif est d'expérimenter les bienfaits curatifs des carottes naturelles contre les taches pigmentaires sur la peau causées par le soleil et la décoloration de la peau en général.Les carottes ont été bouillies jusqu'à l'évaporation totale de l'eau, mélangées avec le mélangeur, puis tamisées pour obtenir une purée de carottes qui a été utilisé pour la fabrication du savon de carottes. Le savon de carotte était fondu pour obtenir le masque de savon de carotte. Riche en bêta-carotène, les carottesaident le teint en éliminant les taches sombres des peaux causées par le soleil et la décoloration causée par d'autres facteurs.

Mots Clès : *Taches Pigmentaires; Cosmétique; Carotte; Savon; Masque; Protection; Remède*

1. Introduction

Les produits pour la peau tels que les écrans solaires, les hydratants, les toners et les crèmes contiennent des agents qui blanchissent ou assombrissent la peau. Les produits cosmétiques contenant des ingrédients de mauvaise qualité et non réglementés peuvent entraîner une décoloration de la peau. Les effets peuvent être des taches brunes, des taches, une pigmentation, un ton de peau inégal, des rougeurs et des taches de rousseur. Bien que la peau soit un protecteur, elle est également très sensible et doit être traitée avec soin. Il est donc préférable d'éviter l'utilisation de produits chimiques pour les soins quotidiens et aller vers les substances naturelles cosmétiques.

Les produits cosmétiques naturels sont très proches des produits « natifs », comme la phytothérapie traditionnelle, qui utilise des matières premières quasiment brutes. Ils subissent essentiellement des transformations mécaniques et chimiques primaires, telles que distillation, extraction, cuisson ou filtration, fermentation et oxydation, percolation, dessiccation, laissant peu de résidus, qui sont aisément recyclables et biodégradables. Schématiquement, on trouve dans les produits cosmétiques naturels et bio par extension une majorité d'ingrédients issus du monde végétal (plantes, fruits, fleurs…) exploités sous différentes formes (huiles essentielles, huiles végétales, poudres…), mais aussi des substances d'origine animale produites naturellement et sans maltraitance pour les obtenir (miel, cire d'abeille, lait, œufs) et quelques ressources minérales (Flavie, 2011) .

Dans la cosmétique biologique, le réservoir végétal reprend toute sa valeur bien qu'il soit exploité depuis longtemps : on s'aperçoit qu'il est toujours capable d'apporter des solutions intéressantes aux problèmes modernes d'hygiène et de beauté (Flavie, 2011). Notre objectif est d'expérimenter les bienfaits curatifs des carottes naturelles contre les taches pigmentaires sur la peau causées par le soleil et la décoloration de la peau en général. En fait, en plus des propriétés décolorantes éclaircissantes, les savons et les masques à base de carotte aident à combattre sept problèmes de peau: boutons noirs, boutons blancs, points noirs, marques d'acné foncées, peau grasse, transpiration excessive, éruptions cutanées légères et irritations telles que la chaleur piquante. Ils nettoient en profondeur les pores, soignent les peaux à tendance acnéique, stimulent le renouvellement cellulaire et éclaircissent le teint en général.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel végétal « carottes »

La Carotte

La carotte (*Daucus carota* L.) appartient à la famille des Apiaceae (Iorizzo, 2013).La carotte, originaire d'Asie, est un des légumes les plus cultivés dans le monde (Maksylewicz, 2013).Les caroténoïdes présents dans la carotte sont les principaux pigments responsables de sa couleur orange. La couleur des carottes est variable selon les cultivars. En effet, elle peut être de couleur orange (la plus courante), mais également rouge, jaune, blanche ou pourpre (Leja, 2013). Ces variations entraînent des particularités au niveau de la composition. Par exemple, la carotte pourpre a une concentration plus importante en anthocyanines que les autres (Leja, 2013). L'analyse des composés volatiles de la carotte cuite a mis en évidence la présence d'éther de tilleul comme composé majeur, ainsi que β-ionone, eugénol, β-damascénone, (E)-2-nonénal, octanal (+ myrcène) et heptanal (Buttery, 2013). La composition aromatique de 4 cultivars de carottes, Brasilia, Duke, Fancy et Cortez, a été réalisée. Trente-six composants ont été identifiés, dont des mono- et sesquiterpènes en majorité et des composés volatiles. Leurs concentrations varient en fonction des cultivars (Kjeldsen, 2001). La carotte contient des polyacétylènes, dont le falcarinol, le falcarindiol et le falcarindiol-3-acétate (Kjellenberg, 2010). Le ratio falcarinol/polyacétylènes totaux est positivement corrélé à la taille de la carotte, alors qu'elle est inversement associée aux apports en falcarindiol et en falcarindiol-3-acétate (Kjellenberg, 2012).

Composition

La carotte crue apporte en moyenne 36,40 kcal pour 100 g, soit 153 kJ et la carotte cuite 19 kcal, soit 79 kJ. Une carotte pèse en moyenne 125 g, ce qui représente un apport énergétique de 45,50 kcal environ crue et 23,75 kcal cuite.

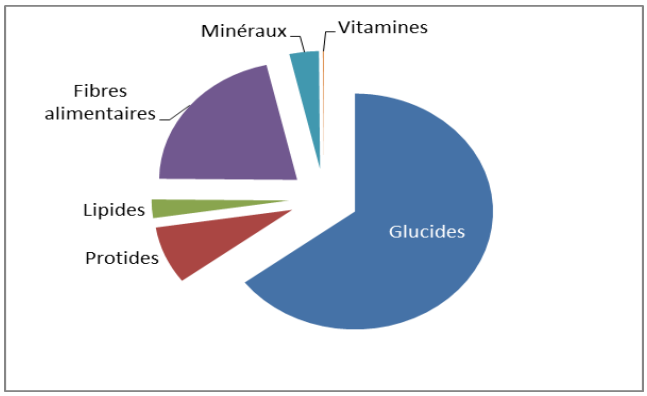


Figure 1. *Composition moyenne pour 100 g d'aliments cru. La teneur en eau n'est pas prise en compte.*

Tableaux de composition

Pour chaque nutriment, les tableaux apportent une information sur la quantité moyenne* ainsi que les quantités minimum et maximum* pour 100 g net de carottes crues.

Composants	Qté.	Min - Max
Eau	89.6 g	85.7 - 92.3 g

Protéines	0.77 g	0.5 - 1.3 g
Lipides	0.26 g	0.1 - 0.4 g
Acides gras saturés	0.054 g	0.037 - 0.079 g
Glucides	6.45 g	6.3 - 6.6 g
Sucre	5.42 g	4.74 - 6.1 g
Fibres	2.7 g	2.1 - 3.6 g

Vitamines	**Qté.**	**Min - Max**
Provitamine A Béta-carotène	**8290 µg**	**1990 - 21000 µg**
Equivalent Vitamine A	**1381.67 µg**	**331.67 - 3500 µg**
Vitamine B1	**0.054 mg**	**0.02 - 0.085 mg**
Vitamine B2	**0.047 mg**	**0.025 - 0.087 mg**
Vitamine B3	**0.99 mg**	**0.56 - 1.46 mg**
Vitamine B5	**0.28 mg**	**0.11 - 0.67 mg**
Vitamine B6	**0.13 mg**	**0.077 - 0.23 mg**
Vitamine B9	**32.3 µg**	**0 - 88 µg**
Vitamine C	**5.84 mg**	**0.9 - 9.2 mg**
Vitamine E	**0.61 mg**	**0.25 - 1.46 mg**

Minéraux et oligo-éléments	**Qté.**	**Min - Max**
Calcium	**32.6 mg**	**9 - 44 mg**

Cuivre	**0.041 mg**	**0.009 - 0.11 mg**
Fer	**0.31 mg**	**0.12 - 1.15 mg**
Iode	**-**	**0.2 - 6.4 µg**
Magnésium	**11.3 mg**	**6.9 - 19 mg**
Manganèse	**0.25 mg**	**0.063 - 0.69 mg**
Phosphore	**32.7 mg**	**20 - 44 mg**
Potassium	**301 mg**	**142 - 430 mg**
Sélénium	**0.17 µg**	**0.1 - 0.9 µg**
Sodium	**39 mg**	**23 - 104 mg**
Zinc	**0.22 mg**	**0.11 - 0.62 mg**

Polyphenols	**Qté.**
Acides phénoliques	**20 mg**
Polyphénols totaux	**20 mg**

**Composition moyenne donnée à titre indicatif : les valeurs sont à considérer comme des ordres de grandeur, susceptibles de varier selon les variétés, la saison, le degré de maturité, les conditions de culture, etc. Les données sur les polyphénols sont issues de la base Phenol-Explorer 3.0. Toutes les autres données sont issues de la Table de composition nutritionnelle des aliments Ciqual (2017) - ANSES, exceptées celles de l'équivalent Vitamine A qui correspond à la division de la teneur en Béta-carotene par 6.*

2.2. Méthodes

La préparation du masque au savon de carotte comporte deux étapes et deux formes, comme son nom l'indique.

Le Savon du Carotte

Les carottes ont été bouillies jusqu'à l'évaporation totale de l'eau, mélangées avec le mélangeur, puis tamisées pour obtenir une purée de carottes (1). Pour obtenir le savon de carotte, la purée de carottes a été ajoutée à: de la lessive, de l'huile d'amande douce et du miel d'abeilles, puis placée dans un récipient préalablement préparé pour être réfrigérée (2).

(1) Purée de Carottes *(2) Savon de Carottes*

Le Masque de Savon de Carotte :

Le savon de carotte était fondu et ajouté au jus de citron et à la glycérine pour obtenir le masque de savon de carotte (3).

(3) Masque de Savon de Carotte

L'application

En ce qui concerne l'application, le savon aux carottes peut être utilisé comme soin quotidien de la peau, tandis que le masque au savon aux carottes peut être utilisé deux fois par semaine comme suit: massage pour la peau du visage jusqu'à la disparition du masque et laissez-le sur la peau pendant 15 min. lavé avec un excès d'eau. Pour les autres parties du corps telles que les genoux et les coudes, le masque peut être laissé pendant 1 heure.

3. Résultats

Le bêta-carotène, présent dans les carottes, est un nutriment sans danger pour la peau qui est converti en vitamine A dans le corps. Il aide à réparer les tissus cutanés et protège des rayons du soleil. Les antioxydants et les caroténoïdes protègent et conditionnent la peau afin d'accroître son immunité contre le soleil et de guérir les coups de soleil. Riche en bêta-carotène, la carotte est un légume bénéfique qui peut éclaircir la peau. Lorsqu'elles sont utilisées dans les savons et les masques, les carottes agissent comme un hydratant et un antioxydant. Elles aident même le teint en éliminant les taches sombres de la peau causées par le soleil et la décoloration causée par d'autres facteurs.

4. Conclusion

L'utilisation régulière de produits cosmétiques à base de produits chimiques peut avoir des effets néfastes sur la peau et peut entraîner des dommages permanents. Le meilleur moyen d'éviter ces effets secondaires consiste à réduire l'utilisation de produits cosmétiques et à adopter des produits naturels ou à base de plantes. Par conséquent, on voit que le savon et le masque à base de carotte représentent un remède naturel efficace contre les taches brunes et la décoloration de la peau en général.

Références

Flavie Lacharme. Les produits cosmétiques biologiques : labels, composition et analyse critique de quelques formules. Sciences pharmaceutiques. 2011. ffdumas-00630667f

Iorizzo M, Senalik DA, Ellison SL, Grzebelus D, Cavagnaro PF, Allender C, Brunet J, Spooner DM, Van Deynze A, Simon PW. Genetic structure and domestication of carrot (Daucuscarota subsp. sativus) (Apiaceae). Am J Bot. 2013 May;100(5):930-8.

Kjeldsen F, Christensen LP, Edelenbos M. Quantitative analysis of aroma compounds in carrot (Daucuscarota L.) cultivars by capillary gas chromatography using large-volume injection technique. J Agric Food Chem. 2001 Sep;49(9):4342-8.

Kjellenberg L, Johansson E, Gustavsson KE, Olsson ME. Polyacetylenes in fresh and stored carrots (Daucuscarota): relations to root morphology and sugar content. J Sci Food Agric. 2012 Jun;92(8):1748-54.

Leja M, Kamińska I, Kramer M, Maksylewicz-Kaul A, Kammerer D, Carle R, Baranski R. The content of phenolic compounds and radical scavenging activity varies with carrot origin and root color. Plant Foods Hum Nutr. 2013 Jun;68(2):163-70.

Maksylewicz A, Baranski R. Intra-population genetic diversity of cultivated carrot (Daucuscarota L.) assessed by analysis of microsatellite markers. ActaBiochim Pol. 2013;60(4):753-60.

Analyse de l'évolution des facteurs de production agricole en Algérie : cas de la zone de Mesra sur le plateau de Mostaganem (Nord-Algérie)

Fettouch Dalila, Berkane Ibrahim, Boulenouar Houari & Larid Mohamed
Laboratoire : Biodiversité, Conservation de l'Eau et des Sols - Université de Mostaganem-Algérie
dalila.fettouch@yahoo.com

Résumé

Tous les problèmes, reliés à l'agriculture conventionnelle sont un indicatif à la recherche de solutions durables. Dans ce contexte, nous avons mené cette étude portant sur l'analyse de l'évolution des facteurs de production agricole dans la zone de Mesra sur le plateau de Mostaganem. Ce plateau est situé au Nord-ouest d'Algérie. La zone d'étude est caractérisée par un climat méditerranéen semi-aride avec une pluviométrie annuelle insuffisante pour satisfaire les besoins en eau des cultures. Les sols étudiés appartiennent aux classes texturales sablo-limoneuse à limono-argilo-sableuse. L'analyse des facteurs de production agricole dans cette zone, montre que la biodiversité agricole est le résultat de l'interaction entre l'environnement, la gestion des systèmes et les pratiques utilisées par des peuples culturellement distincts qui, en termes de production, gèrent la terre et les ressources en eau de manière différente. Ainsi, cette biodiversité englobe la variété et la variabilité des espèces animales, des plantes et des micro-organismes nécessaires au bon fonctionnement du système agricole. Ceci comprend le respect de sa structure ainsi que tout processus qui encourage la production et la sécurité alimentaire. La culture et les savoirs locaux peuvent par conséquent être considérés comme faisant partie intégrante de la biodiversité agricole, en tant que pratiques agricoles issues de la main de l'homme qui modèlent et conservent cette biodiversité.

Mots clés : Analyse, facteurs, productions agricole, Plateau de Mostaganem, Mesra.

1. Introduction

La problématique du développement agricole est indissociable des potentialités du secteur, de son devenir, des impacts régionaux avec les autres types d'agriculture et des objectifs qui lui sont assignés dans les orientations économiques. Ces relations et les enjeux qui les sous-tendent confèrent à l'agriculture une dimension stratégique dans la croissance économique, l'accumulation et l'alimentation de la population.

Les systèmes agricoles, intervenant sur le milieu naturel, se doivent de le préserver voire de d'améliorer sa qualité. La préservation de la biodiversité agricole est maintenant des dimensions prises en compte dans les politiques de développement économique et agricole.

Les systèmes de production agricole des régions du plateau de Mostaganem subissent depuis quelques décennies de nombreuses transformations sous la contrainte de changements socio-économiques (croissance de la population, globalisation des échanges, exode rural, etc…) ou environnementaux (sécheresse, perturbations des climats, insuffisante des ressources hydriques). Dans cette zone, les activités agricoles demeurent le principal moyen à court et moyen terme de diminution du chaumage et de la pauvreté que ce soit en milieu rural ou en milieu urbain. L'étude et l'analyse de ces différentes composantes de la problématique contribueront à une meilleure maîtrise du processus du développement de l'agriculture.

2. Matériels et méthodes

2.1. Présentation de la zone d'étude

La zone d'étude fait partie du plateau de Mostaganem. Ce plateau est situé au Nord-ouest d'Algérie (cf. fig.01). La zone d'étude est caractérisée par un climat méditerranéen semi-aride avec une longue période de sécheresse, une évapotranspiration de référence moyenne annuelle de 1171,32 mm et une pluviométrie moyenne annuelle de 378 mm insuffisante pour satisfaire les besoins en eau des cultures. Les sols de la zone d'étude appartiennent aux classes texturales sablo-limoneuse à limono-sableuse.

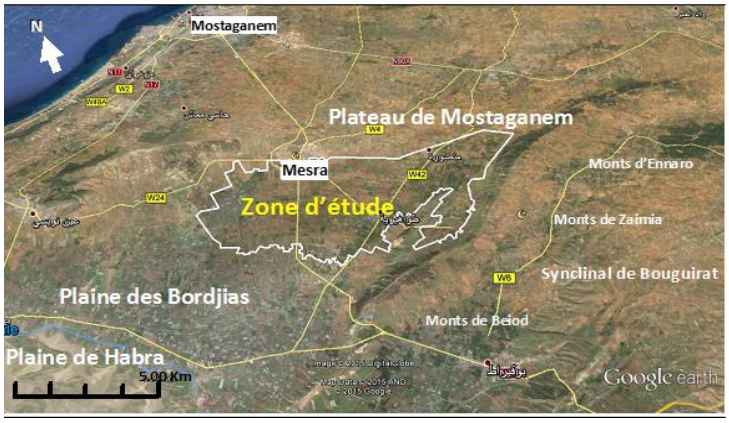


Fig.1 : Situation géographique de la zone d'étude

2.2. Approche méthodologique

Nous avons opté pour une approche expérimentale qui vise à étudier les caractéristiques les techniques agricoles pratiquées dans la zone d'étude. Des enquêtes réalisées sur terrain auprès des agriculteurs, nous ont permis, de collecter un ensemble de données. Ces résultats nous ont permis un traçage de l'évolution des superficies cultivées, de la production agricole, des forages ainsi que les types d'irrigation disponibles dans la région d'étude.

3. Résultats et discussions

La figure 02 montre que les cultures maraichères dominent nettement et représentent près de 70% des superficies cultivées dans cette zone. Le développement des cultures maraichères fortes consommatrices d'eau explique l'importance du volume d'eau affecté à la spéculation maraichère (DSA, 2018).

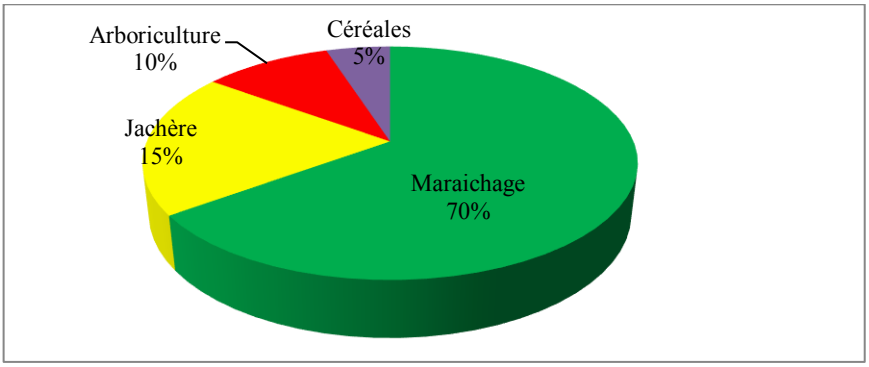


Fig.2. Activités agricoles de la zone d'étude

3. 1. Evolution des ressource en sol

Ce facteur de production est caractéristique de tous les processus de production agricole. Quand on parle de la terre on désigne l'ensemble du terrain de la production qui peut être divisé en deux catégories : la superficie agricole totale, elle correspond à la superficie globale de l'exploitation(SAT) tel qu'elle est enregistrée sur le plan cadastral, et la superficie agricole utile (SAU): elle correspond à la surface productive de l'exploitation (cf. tab.01).

Tab.1 : Les caractéristiques de la terre en tant que facteur de production (DSA, 2019)

Année	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Superficie agricole totale (SAT en hectares)	6200	6195	6190	6175	6150	6120	6113	6107	6100
Superficie agricole utile (SAU en hectares)	6000	5900	5800	5750	5700	5600	5540	5520	5500
Exploitation agricole commun -EAC en nombre)	56	56	56	56	55	55	55	54	54
Exploitation agricole individuelle (EAI en nombre)	200	200	198	196	196	194	192	191	190
Exploitation Privé (en nombre)	1070	1067	1065	1065	1065	1064	1063	1063	1063

La superficie agricole utile (SAU) se situe aux environs de 5500 d'hectares. En tenant compte de l'évolution démographique, le capital foncier n'a pas bénéficié de tous les efforts nécessaires pour sa préservation. Le potentiel terre constitue un déterminant économique au même titre que l'eau, le capital, la force de travail. L'ensemble des ces éléments conditionne la croissance de la production agricole. Ces EAC, EAI et exploitations privés comptent au total 1768 producteurs.

3.2. Evolution des ressources hydriques

Dans la zone d'étude (un climat semi-aride), l'eau est déterminante pour toute production agricole. L'irrigation par la petite hydraulique prend appui pour l'essentiel sur les eaux souterraines (forages et puits) qui constituent 100% des ressources utilisées.

Tab.2 : Evolution de la petite hydraulique (ABH, 2018)

Année	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Puits	652	656	660	660	660	680	686	690	693
Forages	05	05	05	05	07	08	09	10	10

3.3. Extension des superficies irriguées

L'eau est également un facteur limitant, les terres irriguées dans notre zone représentent environ 1935 hectares soit près de 35% du total de la SAU. Cette superficie est en régression compte tenu des terres perdues au profit des autres secteurs. Pour utiliser les ressources en eau et augmenter le potentiel productif agricole le programme de développement de l'irrigation mis en œuvre doit être renforcé pour couvrir une cadence annuelle moyenne de 2000 ha.

Plus de 90% de la superficie est irriguée par les puits (cf.fig. 03). L'irrigation par forage représente également 5% de la superficie irriguée. Le mode d'irrigation goutte à goutte et par aspersion renvoie généralement à l'exploitation agricole « moderne » qui occupe une place importante (soit 1 hectare sur 5 est irrigué).

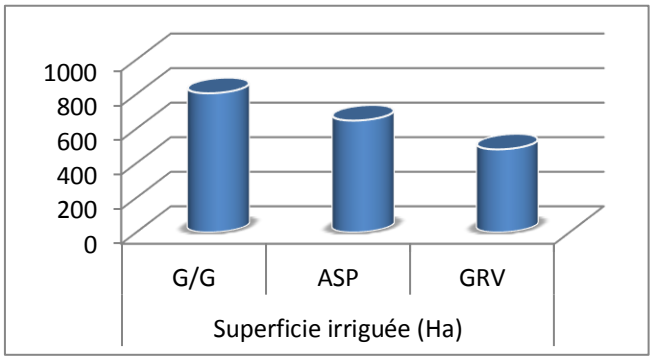


Fig.3. Répartition de la superficie irriguée par système d'irrigation

3.4. Evolution du potentiel arboricole dans la zone d'étude

Suivant la figure 4, la situation du potentiel arboricole dans cette zone se caractérise par :

- Concernant les agrumes, les actions entreprises au cours des différents plans de développement ont permis une augmentation des superficies de 10% et un accroissement de la production de 6% entre 2010-2018. En revanche, les rendements ont connu une stabilité voire même un léger recul de 0,5%.
- Concernant les olives, une augmentation des superficies de 14% et un accroissement de la production de 10% pour les olives entre 2010-2018.
- Concernant les grenades, une augmentation des superficies plantées entre 2010-2018. La production de grenadier a été perturbée par le manque de main-d'œuvre et l'insuffisance des ressources hydriques.

Les productions arboricoles et leurs rendements ont connu de faibles évolutions en raison notamment du vieillissement des vergers, de l'absence de traitement des parasites, du manque de vulgarisation et de suivi des

exploitations fruitières. Les actions entreprises en direction de l'arboriculture de montagne ont eu certes des retombées positives sur les revenus de la population.

La viticulture : Constituée de raisin de table et de vigne à cuve, la viticulture, suite aux opérations d'arrachage, a vu sa superficie régresser en moyenne de 5% (péride2010-2018). La production viticole s'est caractérisée par une baisse de 2% en moyenne annuelle pour la production de vignes et de 0,13% sur les rendements, pour la période 2010-2018, conséquence de la stagnation des superficies, du vieillissement des plantations, du manque d'entretien et de suivi des vergers. La baisse de la production s'est accompagnée par l'apparition d'un déséquilibre dans l'écosystème étant donné que les cultures de substitution n'ont pas les mêmes propriétés en termes de protection de l'environnement. A ces impacts, s'ajoutent une réduction des revenus agricoles et des ressources pour l'économie nationale.

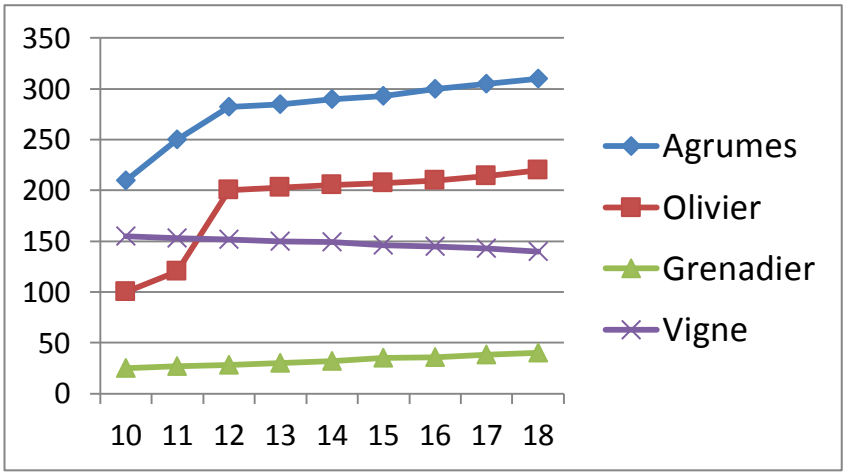


Fig.4 : Evolution des superficies arboricoles (période 2010-2018) (DSA, 2019)

3.5. L'environnement financier

La BADR (Banque de l'Agriculture et du Développement Rural) a été créée pour mission de financer les activités agricoles des secteurs public et privé.

Pour remédier à cette situation, les pouvoirs publics ont opté pour la réhabilitation du crédit mutuel agricole soutenu par les principaux fonds (FNDA, Crédit Ettahadi, Crédit Rfig…etc) destinés au financement du monde rural. D'après le tableau 03, malgré cette réorganisation des financements, le secteur reste confronté à l'inefficacité des remboursements des crédits accordés. Parmi les contraintes que rencontre le développement agricole dans cette zone, celle du financement constitue l'élément déterminant qui hypothèque l'augmentation de la production. A la rareté des ressources, s'ajoute le poids de l'endettement des fellahs et leur faible capacité de remboursement (Wilaya Mostaganem, 2018).

Tab.3. Récapitulatifs des projets réalisés dans le cadre des programmes de développement agricole (période 2010 -2018)

Rubrique	Actions	Réalisation Physique
Apiculture	Ruche pleines (nbr)	150
	Equipement de récoltes (nbr)	52
Matériels agricoles	Tracteurs (nbr)	20
	Matériels de travail du sol (nbr)	8
	Matériels de fertilisation (nbr)	5
	Autres matériels (remorque) (nbr)	1
Economie de l'eau	Goutte à goutte (ha)	195
	-Installation du réseau goutte à goutte sur culture maraîchères - Installation du réseau goutte à goutte sur arboriculture	75 120
	kit d'Aspersions (nbre)	52
	Fonçage de puits et de forage (nbr)	47
Arboriculture	Oléiculture (Acquisition de plants) Agrumiculture (Acquisition de plants)	100 ha **80** ha

3.6. Les contraintes de la production agricole

Dans cette zone, la production agricole rencontre un certain nombre de contraintes qui font d'elle une activité de risque nécessitant beaucoup de travail et de patience, ces contraintes tiennent de :

- La dépendance du climat : le climat détermine le volume de la production et conditionne la répartition des cultures, la production de la culture maraichère, des agrumes, des olives et vignes se concentre dans les exploitations où les ressources hydriques sont disponibles;

- Le travail avec des organismes vivants ; animaux et végétaux, sur lesquels l'agriculteur n'a que peu d'emprise, il ne peut modifier la durée d'évolution d'une culture pour la présenter plutôt au marché ;

- L'insuffisance de formations professionnelles des exploitants (encadrement technique et ouverture d'établissement d'enseignement agricole nécessaire) ;

-La faible rentabilité des moyens de production agricoles ; l'agriculture nécessite des moyens et capitaux importants dont la rentabilité est faible, pour un même chiffre d'affaires il en faut davantage que dans le commerce ou l'industrie, cela est dû aux couts chers des consommations intermédiaires : l'équipement en matériels agricoles adaptés au progrès technique, ainsi qu'à la lenteur du cycle biologique des plantations ;

- La rareté de la main-d'œuvre qualifiée pour certaines tâches et culture ;

- Le manque des ressources hydriques.

4. Conclusion

Les systèmes agricoles, intervenant sur le milieu naturel, se doivent de le préserver voire d'améliorer sa qualité. La préservation de la biodiversité agricole est maintenant des dimensions prises en compte dans les politiques de développement économique et agricole.

Le diagnostic du secteur met en évidence les traits caractéristiques susceptibles de favoriser une croissance durable de l'agriculture. Néanmoins, de l'étude et de l'analyse des facteurs de production, de leurs combinaisons et des résultats de l'activité agricole émergent une agriculture d'alimentation qui a enregistré un net recul. Ainsi, les réformes agraires et les politiques agricoles initiées ont donné à la production agricole une évolution contrastée, une instabilité du monde rural, un approvisionnement aléatoire en facteurs de production et le faible niveau d'encadrement technique des exploitations agricoles. Dans cette zone, les activités agricoles demeurent le principal moyen à court et moyen terme de diminution de la pauvreté que ce soit en milieu rural ou en milieu urbain.

Références bibliographiques

Agence du bassin hydrographique CHELIFF ZAHREZ (ABH), 2018-Enquête de terrain. Actualisation des inventaires des ouvrages et infrastructures de prélèvement d'eau du domaine public hydraulique à usage agricole.

Direction des services agricoles (DSA), 2019. Présentation du secteur agricole du plateau de Mostaganem, 02-09p.

Direction des services agricoles (DSA), 2018. Présentation de la subdivision agricole de Mesra. Mostaganem, 01-04p.

Wilaya de Mostaganem, 2018, Rapport du secteur agricole de la wilaya de Mostaganem.

L'accumulation des polyphénols totaux et flavonoïdes chez l'*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt stressée par les métaux lourds (plomb et cadmium)

Khedim Ikram*(1), Reguieg YssaadHoucine Abdelhakim (1) , Neggez Nour Elhouda(1) , OsmaneBadiaa (1),

(1) Laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université de Mostaganem, Algérie.

khedimikrambio@hotmail.com

Résumé

La pollution de l'environnement et des sols par les métaux lourds est l'un des problèmes majeurs de notre époque. Notre étude consiste à déterminer l'effet de cinq doses pour: le plomb etle cadmium (0, 2500, 5000, 7500 et 10000 ppm) appliqué à la l'*Atriplex canescens* après 60 jours de la croissance pendant deux semaines. Les résultats obtenus montrent une augmentation de la teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes en fonction de la concentration croissante des métaux lourds dans les feuilles et racines. Les feuilles présentent des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes plus élevées que celles des racines. Les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et flavonoïdesdans les feuilles (3.47 mg EAG/ gpoids sec de polyphénols totaux et 3.70 mg EQ/ gpoids sec de flavonoïdes) sont obtenues à la dose de 10000 ppm de (cadmium, plomb) respectivement. Par contre les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et flavonoïdes dans les racines sont obtenues à la dose métallique de 10000 ppm pour le cadmium respectivement (3.38 mg EAG/ g poids sec de polyphénols totaux et 0.61 mg EQ/ gpoids sec de flavonoïdes). Ces résultats indiquant que l'*Atriplex canescens* accumule massivementles antioxydants non enzymatiques (Polyphénols totaux et Flavonoïdes), pour le but de maintenir son statut oxydatif et réduire l'effet de stress oxydant causé par le stress métallique. Par conséquence l'*Atriplex canescens* semble d'être une espèce végétaletolérante au stress des métaux lourds : Pb et Cd.

Mots-clés: Plomb, cadmium,*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt, polyphénols totaux, flavonoïdes.

Introduction

La pollution métallique est l'un des problèmes environnementaux les plus graves à l'échelle mondiale (Wuana *et al.,* 2011). Les métaux lourds persistent dans l'environnement grâce à leur nature non dégradable. Ces élément peuvent provenir de l'altération des roches naturellement enrichies et/ou de sources anthropiques variées (Adriano, 2001 ; Abrahams, 2002).

Tous les métaux lourds sont potentiellement toxiques pour les végétaux en fonction de leur concentration dans un milieu et de leur caractère essentiel ou non pour la plante (Lotmani et Mesnoua, 2011).

Les métaux lourds non essentiels, ainsi que les métaux essentiels, lorsqu'ils sont présents à des concentrations supérieures à la concentration optimale, affectent différents composants cellulaires, interférant ainsi avec les fonctions métaboliques normales des cellules végétales (Tkalec *et al.,*2014).

Les métaux lourds sélectionnés pour ce travail sont parmi les polluants métalliques les plus fréquemment rencontrés dans les sols: le cadmium pour sa phytodisponibilité et sa toxicité élevée (Michel, 2009), et le plomb, considéré comme élément peu mobilisable mais également très toxique lorsqu'il est assimilé par les végétaux (Jopony et Young, 1994).

Afin de pallier les limites environnementales, des méthodes biologiques, qui sont actuellement employées pour le traitement des sols pollués telles que la phytoremédiation, c'est-à-dire l'utilisation des plantes pour remédier des environnements contaminés avec une application durable (Gupta *et al.,* 2016).

Les concentrations élevées de métaux lourds sont associée à la production accrue des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Emamverdian *et al.,* 2015).En réponse a ces perturbations, Les plantes possèdent divers mécanismes qui leur permettent de résister à la toxicité des métaux lourds (Emamverdian *et al.,* 2015). L'un des principaux mécanismes de tolérance est la synthèse des métabolites secondaires tel que polyphénols totaux et flavonoïdes, qui jouent un rôle crucial dans la détoxification des espèces réactives de 1'oxygène. L'efficacité puissante de ces substances à stopper les réactions radicalaires en neutralisant les radicaux libres est due principalement à leurs structures phénoliques avec la présence des groupements hydroxyles (Nijveldt *et al*., 2001).

Plusieurs espèces appartenant au genre Atriplex sont bien adaptées à des conditions environnementales extrêmes et peuvent présenter des propriétés accumulatrices de métaux lourds (Martinez et *al.,*2003). L*'Atriplex canescens* (Pursh) Nutt est une halophyte faisant partie de la famille des chénopodiacées, proviennent d'Amérique du Nord (Mulas et Mulas, 2004). Dans ce cadre s'inscrit notre travail qui vise à étudier l'effet de plomb et de cadmium sur l'accumulation des polyphénols totaux et flavonoïdes chez l'Atriplex *canescens* (Pursh) Nutt.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal ayant fait l'objet de la présente étude concerne les graines de l'*Atriplexcanescens*(Pursh) Nutt quiproviennent de la région d'El Bayedh sont décortiquées, désinfectées à l'hypochlorite de sodium à 5% durant quelques minutes et rincées à l'eau distillée.

Méthodes de culture

Les graines sont mises à germer dans des alvéoles remplies de terreau jusqu'au stade plantule dans une serre.

Ensuite, les plantules sont repiquées dans des cylindres (hauteur 50cm et diamètre 20cm), à fond tapissé d'une couche de graviers pour assurer le drainage, remplis d'un mélange sable/terreau (2V/V).

Un arrosage tous les trois jours est opéré à la solution nutritive de Hoagland (1938) à 30% de la capacité de rétention du substrat.

Application du stress

Après 60 jours, la plante a été stressée par les métaux lourds (Cd et Pb) à des doses 0,2500, 5000, 7500 et 10000ppm.

Après deux semaines du stress, les plantes sont prélevées, les feuilles, et racines séparées, et étuvées durant 24 heures à 80°C. Ensuite, les échantillons secs sont broyés est déposés dans des flacons fermés à l 'aide d'un bouchon plasma.

Teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est déterminée par la méthode du réactif de Folin - Cicalteu (Singleton et ***al.***, 1999) par la mesure de l'absorbance à 760 nm.

Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun*et al.,*1996)**.** Les teneurs sont exprimées en (mg EQ /g) de poids sec après lecture de la D.O à 430 nm sur un spectrophotomètre JENWAY 6505UV /Vis.

Analyses statistiques

Les résultats obtenus sont traités statistiquement à l'aide du logiciel Statbox. Version 6.4, d'une analyse de la variance faisant appel au test de Newman-Keuls P = 5%.

Résultats

Teneur en polyphénols totaux

Teneur en polyphénols totaux des feuilles et racines de l'Atriplex canescens *stressée au plomb :* Les résultats trouvés dans les plantes stressées au plomb à différentes concentrations (2500, 5000, 7500 et 10000 ppm), révèlent une augmentation de polyphénols totaux dans les feuilles et racines de l'*Atriplex canescens* (Figure 1). Les teneurs obtenus en polyphénols totaux sont élevées dans les feuilles de la plante (3.23, 3.28, 3.31 et 3.34 mg EAG/g poids sec de polyphénols totaux) que chez les racines (3.18, 3.18, 3.30 et 3.32 mg EAG/g poids sec de polyphénols totaux).

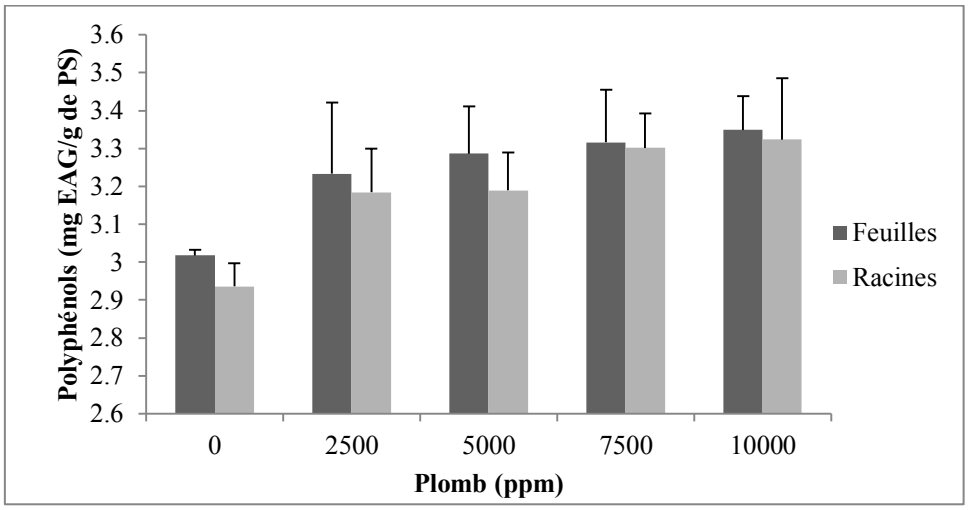


Figure 1 : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g de poids sec) des feuilles et racines de l'*Atriplex canescens (*Pursh) Nutt stressée au plomb.

L'analyse statistique à l'aide du test de Newman-Keuls révèle que les teneurs en polyphénols totaux accumulées dans les feuilles et racines de l'*Atriplex canescens* sont hautement significatives (P = 0.00) par rapport aux feuilles et racines des plantes témoins.

Teneur en polyphénols totaux des feuilles et racines *de l'Atriplex canescens*stressée au cadmium

Les résultats montrent que l'accumulation de polyphénols totaux est plus importante dans les feuilles que dans les racines de la plante *Atriplex canescens.* L'accumulation de polyphénols totaux dans les feuilles et racines de la plante augmente progressivement avec des doses croissantes de cadmium (Figure 2).

Dans les feuilles, la teneur en polyphénols totaux la plus élevé (3.47 mg EAG/g poids sec de polyphénols totaux) est obtenue pour un traitement à 10000 ppm de cadmium, la teneur en polyphénols totaux (3.25, 3.30 et 3.42 mg EAG/g poids sec de polyphénols totaux) est obtenue pour des traitements à 2500, 5000 et 7500 ppm de cadmium respectivement.

Dans les racines, la teneur en polyphénols totaux la plus élevé (3.38 mg EAG/g poids sec) est obtenue pour un traitement à 10000 ppm de cadmium.

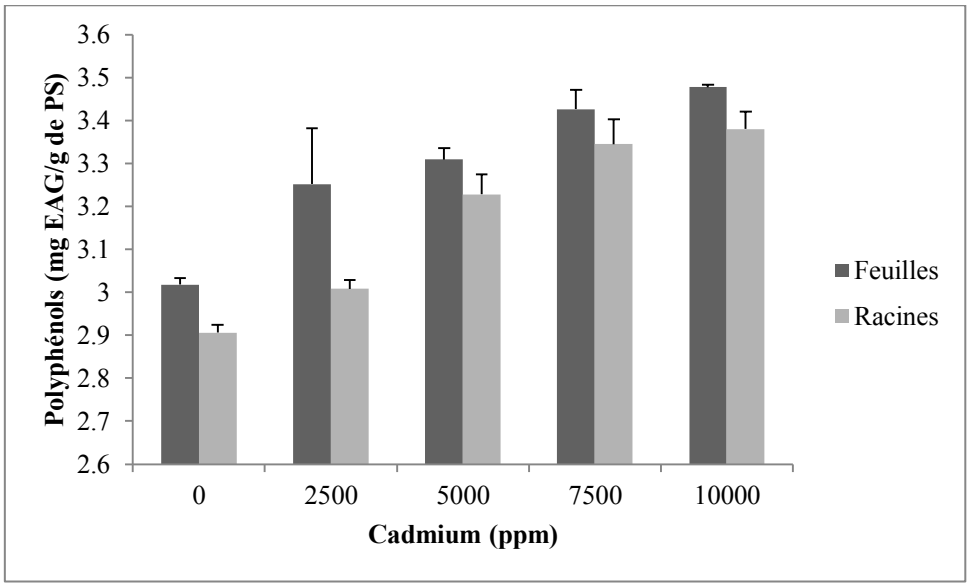


Figure 2: Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g de poids sec) des feuilles et racines de l'*Atriplex canescens (*Pursh) Nutt stressée au cadmium.

L'analyse de la variance montre une différence très hautement significative du cadmium sur l'accumulation de polyphénols dans les feuilles et racines des plantes stressées par rapport aux feuilles et racines des plantes témoins.

Teneur en flavonoïdes

Teneur en flavonoïdes des feuilles et racines de l'Atriplex canescens *stressée au plomb :* Le taux de flavonoïdes dans les feuilles et racines de l'*Atriplex canescens* augmente progressivement avec les doses croissantes du plomb appliquées à la plante. La teneur en flavonoïdes est plus importante dans les feuilles que dans les racines de la plante (Figure 3).

Dans les feuilles, la teneur en flavonoïdes la plus élevée (3.70 mg EQ/gpoids sec de flavonoïde) est obtenue pour le traitement de 10000 ppm de plomb. On note une légère diminution de flavonoïde pour la dose stressante de 2500 ppm de plomb (2.57 mg EQ/gpoids sec de flavonoïde) comparativement au témoin (2.58 mg EQ/gpoids sec de flavonoïde).

Au contraire dans les racines de la plante *Atriplex canescens* les flavonoïdes s'accumulent de manière très lente lorsque la concentration en plomb augmente.

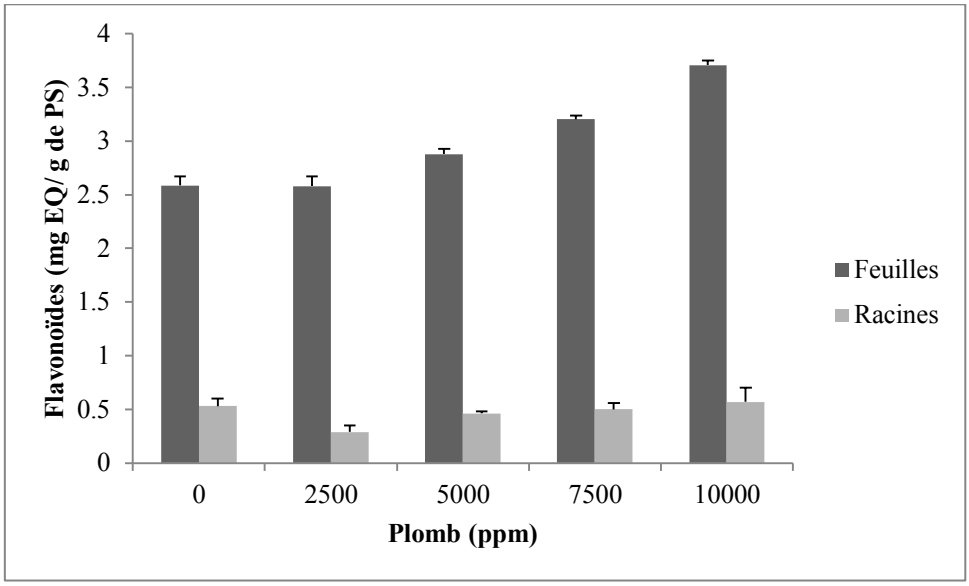


Figure 3: Teneur en flavonoïdes (mg EQ/gde poids sec) des feuilles et racines de l'*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt stressée au plomb.

L'analyse statistique indique que les flavonoïdes s'accumulent de manière hautement significative dans les feuilles et les racines de la plante avec tous les traitements de plomb.

Teneur en flavonoïdes des feuilles et racines de *l'Atriplex canescens stressée au cadmium :* Les résultats révèlent que le cadmium appliqué entraine une augmentation du taux des flavonoïdes dans les feuilles de la plante à 2500, 5000, 7500 et 10000 ppm (2.72, 3.30, 3.51 et 3.39 mg EQ/gpoids sec de flavonoïdes respectivement) par rapport au témoin (2.58 mg EQ/g poids sec de flavonoïdes), par contre dans les racines, l'accumulation des flavonoïdes diminue progressivement avec des doses croissantes du cadmium. Alors que dans les racines des plantes soumises à 10000 ppm la teneur en flavonoïdes augmente légèrement par rapport au témoin(Figure 4).

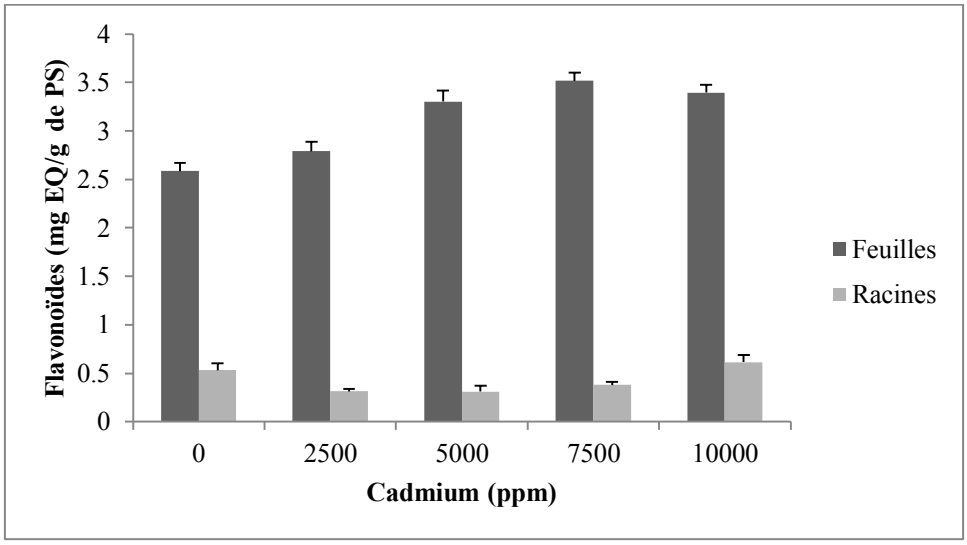


Figure 4 : Teneur en flavonoïdes (mg EQ/gde poids sec) des feuilles et racines de l'*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt stressée au cadmium.

L'étude statistique met en évidence une réponse hautement significative de l'effet du cadmium sur l'accumulation des flavonoïdes dans les feuilles et les racines des plantes stressés par rapport aux plantes témoins de l'*Atriplex canescens*.

Discussion

LES PRINCIPAUX RÉSULTATS OBTENUS MONTRENT QUE:

- Les teneurs en polyphénols sont élevées au niveau des feuilles et racines de l'*Atriplex canescens* sous stress métallique comparativement à la plante témoin. Ces résultats sont concordants avec ceux de Sgherri *et al*. (2007) ou il a observé une augmentation des polyphénols sous l'effet du stress métalliques chez *Vicia faba* L.Les composés phénoliques interviennent dans de nombreux mécanismes pour permettre à la plante de s'adapter à son milieu (Macheix ***et al.***, 2005).

Les polyphénols sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxyde et peroxyles (Anderson *et al.,*1996 ; Hu *et al.,*2005).

-L'accumulation importante des polyphénols dans la plante stressée aux métaux lourds (cadmium et plomb) est une réponse au stress métallique contrairement à la plante non stressée ou le taux des polyphénols est faible, car selon Macheix ***et al***. (2005), L'accumulation des polyphénols pourrait avoir un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante. Les polyphénols sont capables d'agir comme des antioxydants qui peuvent piéger des radicaux libres, La suppression de la formation des ERO par inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leurproduction, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Boudiaf, 2006).

En effet, les polyphénols possèdent des groupes hydroxy phénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydants sont attribuées en partie, à la capacité de ces composes naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH°) et superoxydes (O_2°) (Bartosz, 2003).

- Cette accumulation est plus importante dans les feuilles que dans les racines, à ce propos plusieurs auteurs **(**Abdel *et* ***al.,***2006; Jonnala, 2010; Chaib *et* ***al.,***2015 **)** ont montrées la richesse des feuilles du céréales en polyphénols lesquels possèdent grand pouvoir antioxydant.

- L'accumulation des composés phénoliques, notamment les flavonoïdes a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress biotique (War*et al.,* 2011), Aussi sous conditions abiotiques (Korkmaz *et al*., 2007).

-LA TENEUR EN FLAVONOÏDES DANS LES FEUILLES ET RACINES CHEZ *L'ATRIPLEX CANESCENS*AUGMENTE PROPORTIONNELLEMENT AVEC **LA CONCENTRATION** DES MÉTAUX LOURDS, CAR SELON **SMIRNOFF, (2005),** LES FLAVONOÏDES SE TROUVENT EN GRANDE QUANTITÉ DANS LES DIFFÉRENTES PARTIES DE LA PLANTE SOUS **L'**EFFET DES DIFFÉRENTS STRESS**.**

- Pour les concentrations de 2500, 5000 et 7500 de (plomb et cadmium), une diminution du taux de flavonoïdes est observée au niveau des parties racinaires ; ceci pourrait être expliqué par la résistance des plantes à ces concentrations. La réponse des plantes face aux stress métalliques varie donc d'une concentration à une autre. Les résultats obtenus sur l'accumulation importante du flavonoïde dans la plante stressée corroborent avec ceux de Walton et Brown (1999) qui lient les quantités accumulées des flavonoïdes à la tolérance aux stress. Concordant ainsi avec une étude faite par Morris (1995) montrant que les flavonoïdes sont de bons chélateurs de métaux lourds.

En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de

l'oxygène. Ces composés participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés (Macheix*et al.,*2005).

Conclusion

-La réponse d'*Atriplex canescens* au stress métalliques a entraîné une augmentation antioxydants (polyphénols, flavonoïdes) en fonction de la concentration croissante des métaux lourds, cette augmentation estplus importante dans les feuilles que les racines.

L'accumulation des polyphénols totaux et des flavonoïdes est très importante chez l'Atriplex stressée comparativement à la plante non stressée. Ces résultats nous ont permis de mieux comprendre la relation entre le stress métallique et le comportement d'*Atriplex canescens*. Cette plante est prometteuse pour être un modèle végétale importante pour une utilisation en phytoremédiation.

Références

Abdel-Aal, E.S.M., J.C. Young and I. Rabalski. 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, and red cereal grains. *Journalof Agricultural and Food Chemistry*., pp 544-696.

Abrahams, P.W. 2002. Soils: their implications to human health. Science of the Total Environnment., 291: 1–32.

Adriano, D.C. 2001. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. *2nd Edition Springer-Verlag*, New York, Berlin, Heidelberg., pp 867.

Anderson, C.M., A. Hallberg and T. Hogberg. 1996. Advances in the développement of pharmaceutical antioxidant drug. *Food Chemistry*., 28 : 65-180.

Bahorun, T., B. Gressier, F. Trotin, C. Brunete, T. Dine, J. Vasseur, J.C. Gazin, M. Pinkas, M. Luycky and M. Gazin. 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung.*, 46 :1086-1089.

Bartosz, G. 2003.Génération of reactive oxygen species in biological Systems. *Comments on Toxicology*.,9 :5-21.

Boudiaf, K. 2006. Study of anti-xanthine oxidoreductase and anti -radical effects of *Nigella sativa* seed extracts. Memory of magister -University of Sétif.

Chaib, G.H., A. Bouchelaleg and R. Talbi. 2015. Etude phytochimique de quelques variétés de blé tendre *(Triticuma estivum)* et d'orge *(Hordeum vulgare)* et leurs activités biologiques. *European Scientific Journal*., 11(30):1857 - 7881.

Emamverdian, A., Y. Ding, F. Mokhberdoran and Y. Xie .2015. Heavy metal stress and some mechanisms of plant defence response. *The Scientific World Journal* .,pp1–18.

Gupta, A., J. Joia, A. Sood, R. Sood, C. Sidhu and G .Kaur. 2016. Microbes aspotential tool for remediation of heavy metals. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*., 223:33–52.

Hänsch, R. and R.R. Mendel. 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology.,* 12 : 259-266.

Hoagland, D.R. and D.I. Arnon. 1938.The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station*.347: 1-39.

Hu, Z.Z., M. Narayanaswamy, K.E. Ravikumar, K. Vijay-Shanker and C.H. Wu. 2005. Literature mining and database annotation of protein phosphorylation using a rule-based System., pp 2759-2765.

Jonnala, R.S. 2010. Phenolics in the bran of waxy wheat and triticale.

Jopony, M. and S.D. Young.1994. "The solid solution equilibria of lead and cadmium in polluted soils." *European Journal of Soil Science*.,45(1): 59-70.

Korkmaz, A., M. Zuzunlu and A.R. Demirkiran. 2007.Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. Franciszedgorski institute of plant physiologie.polish academy of science. Krakaow.tyrkey.

Le Houérou, H.N. 1992. The role of salt bushes (*Atriplex* spp) in arid lands rehabilitation in the Mediterranean basin. A review. *Agroforestry systems*,. 18: 107-148.

Lotmani, B. and M. Mesnoua. 2011.Effects of copper stress on antioxidative enzymes, chlorophyll and protein content in *Atriplex halimus*. *African Journal of Biotechnology*.

Macheix, J.J., A. Fleuriet and C. Jay-Allemand. 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne., pp 4-5.

Michel, A. 2009.Action du cadmium sur les plants de moutarde indienne [*Brassica juncea* (L.) Czern] néoformés à partir de couches cellulaires minces et issus de semis. Analyses physiologiques et rôle des polyamines. Thèse de doctorat a l'Université de Bretagne occidentale., pp 100.

Morris, C.J., J.R. Earl, C.W. Trenam and D.R. Blake. ***1995.***Reactive oxygen species and iron a dangerous partnership in inflammation. *The* ***International Journal of Biochemistry*** *and* ***Cell Biology.,***27: 109-122.

Mulas, M. and G. Mulas. 2004. The potential for strategic use of plants of the genera *Atriplex* and *Opuntia* in the fight against desertification. Short and Medium - Term Priority Environmental Action Program. University of Studies of Sassari Research Group on Desertification., pp 112.

Nijveldt, R.J., E. Nood, D. E. Hoorn, P.G. Boelens, K. Norren and P. Leeuwen. 2001. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications.

Sgherri, C., M.F. Quartacci and F. Navari-Izzo. 2007. Early production of activated oxygen species in root apoplast of wheat following copper excess. *Journal of Plant Physiology*., 164(9) :1152-1160.

Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*., 16 : 144-158.

Smirnoff, N. 2005. Antioxidants and reactive oxygen species in plants. *Oxford Blackwell Publishing*., pp 53–86.

Tkalec, M., P.P. Stefanic, P. Cvjetko, S. Sikic, M. Pavlica and B. Balen. 2014. The effects of cadmium-zinc interactions on biochemical responses in tobacco seedlings and adult plants. *Plos One*., 9(1):e87582.

Walton, N.J. and D.E. Brown 1999. Chemivals from plants, Perspectives on secondary products,*World Scientific*., pp 56-66.

Wang, L.W. and A.M. Showalter. 2004. Cloning and salt-induced, ABA independent expression of choline mono-oxygenage in *Atriplex prostrata*. *Physiologia Plantarum*,. 120: 405-412.

War, A.R., M.G. Paulraj, M.Y. War and S. Ignacimuthu. 2011. Differential defensive response of groundnut to *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) *Journal of Plant*.

Wuana, R.A. and F.E. Okieimen. 2011. Heavy metals in contaminatedsoils: a review of sources, chemistry, risks and best availables trategies for remediation. Isrn Ecol.

Contribution à l'étude de la biométrie et de la croissance, d'un poisson Gadidae : le merlan bleu *Micromesistius poutassou* (Risso 1827), capturé sur la côte de Mostaganem.

BENAMAR Nardjess, ABASSA Farida, BENZIDANE Dehiba et BEKADA Djamel-Eddine.
Université de Mostaganem, Département Hydrobiologie Marine et Continentale.

1. Introduction

Le merlan bleu *Micromesistius poutassou* (Risso, 1826), aussi appelé "poutassou" ou merlan bleu, par les pêcheurs, est un poisson Appartenant à la famille des Gadidés. les populations vivent essentiellement au-dessus des fonds du sommet du talus continental (Hureau et *al.*, 1973), du nord de la Norvège au Maroc (cap Bojador) ainsi que dans le bassin occidental de la Méditerranée (Maurin, 1968; Robles, 1970).

Il se différencie du merlan, par sa lèvre inférieure, qui est plus longue que la lèvre supérieure. Ses yeux sont également plus grands et les nageoires dorsales, sont séparées les unes des autres. Le merlan bleu possède un corps allongé, avec une teinte bleu-grise et blanche et peut mesurer jusqu'à 50 cm de long. Il effectue chaque jour des migrations verticales : vers les eaux de surfaces, la nuit pour se nourrir, et vers le fond, la journée. Son régime alimentaire se compose essentiellement de petits crustacés, mais les plus gros spécimens chassent également de petits poissons et des céphalopodes.

Et tant donné que ce poisson est très apprécié par la population de l'ouest algérien, nous nous sommes intéressés à apporter des éléments d'informations sur quelques paramètres de la biométrie et de la croissance du merlan bleu *Micromesistius poutassou* , capturé sur la côte de Mostaganem.

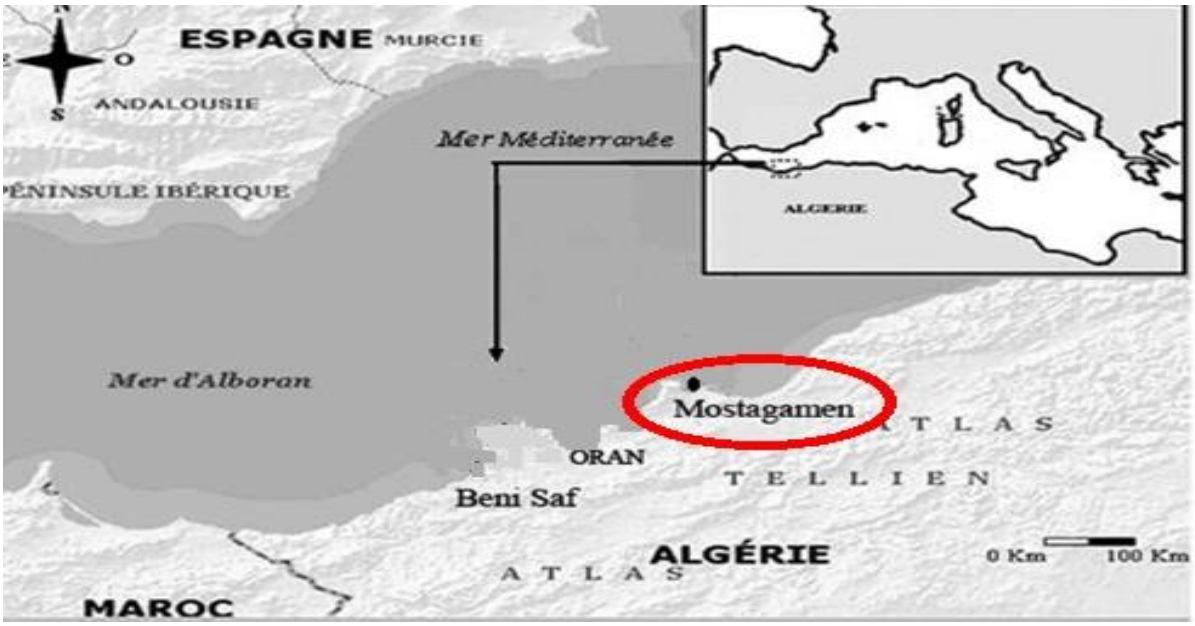


Figure 1: Localisation du port de Mostaganem.

2. Matériels et méthodes

2.1. Echantillonnage et mesures

L'échantillonnage de *M. poutassou* a été réalisé mensuellement, directement au niveau du port de Mostaganem (fig. 1), durant la période de février 2018 à avril 2018, au total, 113 individus ont été collectés.

Pour chaque poisson, la longueur totale (Lt) et la longueur à la fourche (Lf) ainsi que le poids total a été relevé à l'aide d'une balance à précision. Le nombre de vertèbres, a été compté en suivant la méthode de Lee (1960), c'est-à-dire du condyle occipital non compris à l'urostyle compris.

La relation entre la longueur et le poids chez l'espèce étudiée (Le Cren 1951) , est sous forme de : $W = aL^b$ où W est poids du poisson en (g), L la longueur du poisson en (mm), a une constante et b le taux d'allométrie. Le taux d'allométrie b varie, mais il est le plus souvent proche de 3. Quand b = 3 il y a isométrie de croissance. Si b>3, l'allométrie est majorante, le poisson grossit plus vite qu'il ne grandit. . Si b<3, l'allométrie est minorante, le poisson grandit plus vite qu'il ne grossit.

Les paramètres du modèle de croissance absolue, : où L∞ est la longueur maximale théorique, K est le taux avec lequel l'animal évolue à L∞, et to le temps de recrutement à la population),ont été estimés à partir de l'analyse de la distribution des fréquences de taille, en utilisant le logiciel Fisat II (version 1.2.0), logiciel recommandé par la FAO. L'équation de Von Bertalanffy, est sous forme: (**$Lt = Loo\ [1 - \exp^{(-K(t-to))}]$.**

3. Résultats et discussion

L'analyse de la composition démographique montre que les captures portent sur des tailles allant de 19,5 à 29,5 cm, les classes les plus représentées se situent entre 24 et 26 cm, soit représentant plus de 43,4 % des poissons étudiés ; de plus, On note un mode de 25,5 cm pour les mâles et les femelle.

3.1 Relation taille- poids

Chez les téléostéens, la relation taille / masse, est largement utilisée comme outil descriptif dans le domaine de la gestion des pêches et notamment en dynamique des populations (Petrakis et Stergiou, 1995 ; Lamprakis et *al.,* 2003). Chez le *Micromesistius poutassou*, l'équation d'allométrie entre les deux variables (Wt et Lf) est sous forme : $(Wt) = 0{,}019\ LT^{2{,}61}$ et met en évidence une allométrie minorante (b est inférieur à 3), donc le poids croit relativement moins vite que la longueur (fig. 2). Il a été bien clair que la valeur du taux d'allométrie b, dépend de certains paramètres comme la période de reproduction, la salinité, le stade de la maturité et l'abondance de la nourriture (Andrade et Campos, 2002). Nos résultats se rapprochent de ceux de (Kelig et *al.,*2016), qui ont trouvé l'équation suivante: $W = 0{,}007\ Lt^{2{,}988}$ sur le *Micromesistius poutassou* , capturé dans la région nord-est de l'océan Atlantique.

3.2 Relation taille totale-taille fourche

A partir du nuage de point traduisant les rapports entre la longueur totale et la longueur fourche des individus étudiés, nous pouvons déduire l'équation biométrique chez le *Micromesistius poutassou* qui est sous forme : Y= 0 ,86 X+0,65, traduisant une allométrie de croissance légèrement négative ou minorante (pente inferieure à 1). Le coefficient de corrélation, r, obtenu est proche de 1, Ce qui traduit, une très bonne corrélation entre les deux longueurs mesurées.

3.3 Caractères méristique (étude vertébrale)

Lors de détermination du nombre des vertèbres, l'urostyle a été assimilé à une vertèbre, la colonne vertébrale des poissons que nous avons étudiés est composée d'un nombre de vertèbres variant entre 53 et 54. Certains auteurs ont démontré que les conditions ambiantes au cours de l'embryogenèse influenceraient le nombre de vertèbres (Boely,

1982). Le nombre de vertèbres, qui peut être différent chez deux individus d'une même espèce, reste constant, chez un même individu durant toute la durée de son existence. Nos résultats se rapprochent de ceux cités par Fao, 1968 (55-59 vertèbres) et de ceux observés par Code and Reist (2018) (56-60 vertèbres).

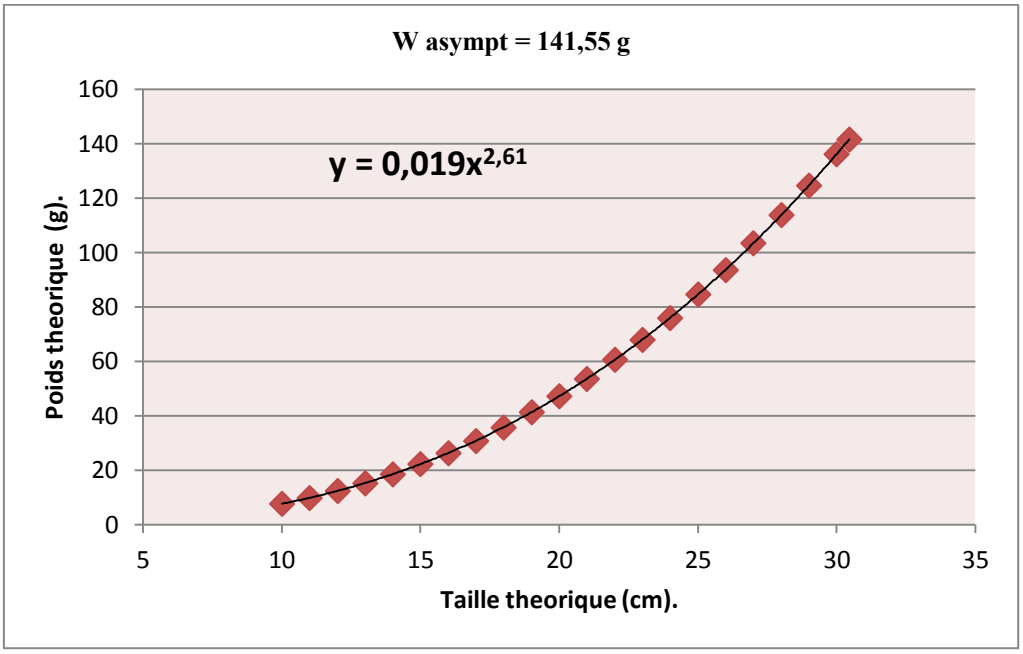


Figure 2 : Représentation de la relation taille-poids chez le *Micromesistius poutassou* pêchée sur la côte de Mostaganem.

3.4Paramètres de Croissance

Pour l'espèce étudiée, les différentes valeurs des paramètres de croissances (L∞) et (K) sont obtenues, à l'aide du logiciel FISAT II (version 1.2.0), logiciel recommandé par la FAO, en utilisant la méthode ELEFAN. Les valeurs du paramètre to sont calculés à partir de l'équation empirique proposée par (Pauly 1980 *in* Pauly, 1985) en remplaçant dans l'expression, L∞ et K par leurs valeurs respectives. Les résultats sont consignés dans le (Tableau 1). Ce qui aboutit à l'expression mathématique de croissance linéaire de Von Bertalanffy suivante : $Lt = 30.45\ (1\text{-}e^{(-0,77(t+0,47))}$. Chez *Micromesistius poutassou*, la valeur de la longueur asymptotique est de l'ordre de 30 ,45 cm.

Ces résultats trouvés sur la côte mostaganémoise, se rapprochent, des travaux de Carpentier (1996) et Godinho and Silva, 1998 (Tableau 1).Le coefficient de croissance (k) est estimé à 0,77 et la to à -0,47(an). Ces résultats se rapprochent, des travaux de Carpentier (1996) et de Vérin et *al* (2001) (Tableau 1).

Ces valeurs différent légèrement ; de celles trouvé sur les côtes Turquie, les côtes indiennes et les côtes espagnole (Tableau 1). Les différentes méthodes utilisées pour l'estimation des paramètres de croissance ainsi que les fluctuations des conditions du milieu (température, salinité,…), qui influencent directement les valeurs du K et du L∞ et donc la croissance du poisson.

Tableau 1 : les paramètres de croissance L∞, K et To obtenus dans différents sites chez *M. poutassou*.

Auteurs	Zone	L∞	K	To
Carpentier, 1996	Manche-Est	38,05	0,747	-0,369
Vérin et *al.*, 2001	Manche-Est	39,7	0,71	-0,472
Godinho and Silva, 1998	Côte Portuguese.	32.8	0.34	-1.74
Présente étude 2018	Côte de Mostaganem	30,45	0,77	-0,47

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus dans ce travail, l'estimation indirecte du stock de *Micromesistius poutassou*, de la région mostaganemoise, peut être entamée, du fait que l'étude de croissance, ne représente qu'une étape pour toute étude concernant l'exploitation et l'estimation du stock.

Références bibliographiques

Andrade., HA & Campos., RO. (2002). Allometry coefficient variations of the length-weight relationship of skipjack tuna (Katsuwonus pelamis) caught in the southwest Atlantic: *Fisheries Research, 55(307-312) pp.*

Boely, D. 1982. Cycle sexuel et migration de *S. aurita* sur le plateau continental ouest- africain des iles Bissagos a la Maturutanie. *Rapp. p.-v. RKun. Cons. int.Explor. Mer, 180, 350-335.*

Carpentier, A. 1996. Répartition et abondance du merlan (*Merlangius merlangus, L.)* en Manche orientale. Analyse des données des campagnes océanographiques CGFS de 1988 à 1994. *Mémoire de DESS. Univ. de Caen. IFREMER. 154p.*

Coad., J and Reist., D. 2018. Marine fish of Arcantic Canada. *Canadian Museum of Canada. 616 p.*

Food and Agriculture organization of united nation Rome, 1968. Synopsis of biological at the blue whiting (*Micromesistius poutassou*) (Risso, 1810). *Rome, July 1968*

Godinho., S and Silva., A. 1998. The growth of blue whiting (Micromesistius poutassou) off the Portuguese coast. Conférence: *ICES CM 1998, Volume: Ouvert: 11*

Hureau., JC. 1970. - *Micromesistius poutassou* (Risso) dans le golfe de Gascogne. *Rev. Trau. Inst. Pêches macit., 34 (l) : 69-72.*

Mahe., K, Oudard.,C, Mille.,T, Keating.,J, Gonçalves., P, Worsoe Clausen., L, Petursdottir., G, Rasmussen., H, Meland.,E, Mullins., E, John., K, Åge Hoines., A, Verena., M, Trenk., E. 2016. Identifying blue whiting (*Micromesistius poutassou*) stock structure in the Northeast Atlantic by otolith shape analysis. *Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques*, *2016, 73(9): 1363-1371,*

Lamprakis., MK., Kallianiottis., AA., Moutopoulos., DK & Stergiou., KI. 2003. Weight-length relationships of fishes discarded by trawlers in the north Aegean Sea. *Acta Ichthyol. Piscat., 33(2): 145-152.*

Le Cren, ED. 1951. The lenght-weight relationship and season cycle in gonad weight and condition in the perch *(Perca fluviatilis). J. Anim. Ecol., 20 (1951) 201-219.*

Pauly, D. 1980. On the interrelationships between natural mortality, growth parametre and mean enviromental temperature in 175 fish stochs. *L. Cons. Ciem., 39(2): 175-192.*

Petrakis., G & Stergiou., KI. 1995. Weight-length relationships for 33 fish species in Greek waters. *Fish. Res., 21: 465- 469.*

Maurin, C. 1968. Ecologie ichthyologique des fonds chalutables atlantiques (de la baie ibéro-marocaine à la Mauritanie) et de la Méditerranée occidentale. *Reu. Trau. Inst. Pèches Macit., 32 (1), 147 p.*

Roblés, R. 1970. La bacaladilla *Micromesistius poutassou* (Risso, 1810). *Bul. Inst. Esp, ocean, 142, 16p.*

Silva, A., Pestana, G., Dias, C., Godinho, S. 1996. Preliminary results on the distribution and spawning of blue whiting (*Micromesistius poutassou*) off the Portuguese coast. *ICES C.M. 1996/H:16.*

Vérin, Y., Coppin, F., Delpech, J-P., Dufour, J-L. & Carpentier, A., 2001. Campagnes d'évaluation des Ressources Halieutiques en mer du Nord et Manche Orientale. *Rapport final du Contrat BIOECO n° 98/058, 47+150p.*

Von Bertalanffy, L. 1938. A quantitative theory of organic growth. *Hum. Biol., 10,181-213.*

EFFET DE L'INTERACTION CUIVRE-SALINITÉ SUR LES TENEURS EN PROLINE ET SUCRES SOLUBLES CHEZ LE RADIS (*RAPHANUS SATIVUS* L.)

NEGGAZ Nour Elhouda[1*], REGUIEG YSSAAD Houcine Abdelhakim[1], KHEDIM Ikram[1]
[1]Laboratoire de Biodiversité et Conservation des Eaux et des Sols, Département de Biologie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie.

nourelhouda.neg@gmail.com

RÉSUMÉ

La dégradation des sols par la salinité et la pollution en métaux lourds posent un problème environnemental inquiétant. A cet effet, ce travail consiste à déterminer l'action de Cuivre et NaCl, sur *Raphanus sativus* L. ; une plante appropriée pour les investigations éco-toxicologiques. Le stress est appliqué durant deux semaines après 45 jours de culture du Radis. Les paramètres analysés ; proline et sucres solubles, sont dosés à l'aide d'un Spectrophotomètre UV-Visible JENWAY6505. Les résultats obtenus révèlent une augmentation de proline et sucres en fonction de l'accroissement de NaCl et l'interaction Cuivre-NaCl particulièrement dans le système aérien, et une diminution de ces derniers face à l'augmentation de Cuivre. Les plus hautes teneurs en proline (0.143Mg/g MS à 80 Meq/g) et en sucres (2.73 Mg/g MS dans le témoin) sont enregistrées au niveau aérien de Radis. D'après ces résultats, il s'avère que la salinité augmente la tolérance au stress métallique déclenché dans la partie aérienne du Radis, et ce par l'augmentation des teneurs en proline et sucres, ce qui favorise la phytoextraction et le transport de cuivre vers ces parties aériennes.

MOTS CLÉS : ***RAPHANUS SATIVUS*, CUIVRE, NACL, PROLINE, SUCRES.**

INTRODUCTION

La présence des métaux lourds dans des milieux salins est un problème de plus en plus important en raison de la pollution croissante des sols salins par les éléments métalliques. C'est dans les régions arides et semi-arides que le degré de salinité est le plus élevé (Valentina *et al.,* 2010). Les terres agricoles sont polluées par les métaux lourds grâce à l'utilisation non rationnelle d'engrais et d'autres méthodes de protection des plantes. La teneur totale en métaux lourds des sols pollués peut dépasser de 10 à 1 000 fois celle des sols non pollués (Valentina *et al.,* 2010). Le cuivre, comme les autres éléments essentiels B, Mn, Mo et Zn, est un oligoélément potentiellement phytotoxique en trop forte concentration. La phytotoxicité de Cu se manifeste principalement a travers de la rhizotoxicité et parfois de la mise en place d'une déficience induite en Fe (Woolhouse et Walker 1981 ; Kabata-Pendias et Pendias 1992 ; Marschner 1995). Le Cu au niveau des plantes se trouve sous deux états d'oxydation, Cu^{2+} et Cu^{+}, et le cycle redox entre ces états produit des radicaux hydroxyles (Li *et al.,* 2002).

La plupart des espèces végétales accumulent certains solutés organiques (sucre, alcool, proline, composés d'ammonium quaternaire) en réponse au stress. Ces solutés organiques sont appelés osmoprotecteurs parce qu'ils n'interfèrent pas avec les activités enzymatiques même à des concentrations élevées (Johnson et al. 1968 ; Chen *et al.,* 2007 ; Tavakkoli *et al.,* 2012). La proline joue de multiples rôles dans les tissus végétaux exposés à des stress abiotiques tels que la réserve nutritionnelle pour la croissance, la stabilisation des protéines et des membranes, l'osmoprotection et le balayage des radicaux libres (Zouari *et al.,* 2016). Les sucres solubles sont des indicateurs de degrés de stress, à cause de son importante augmentation lors de la sévérité, les sucres métaboliques (glucose, galactose, saccharose, et fructose) permettent la résistance aux différents stress (Zerrad *et al.,* 2006). ils semblent jouer un rôle important dans le maintien d'une pression de turgescence qui est la base des différents processus contrôlant la vie d'une plante (Hare *et al.,* 1998).

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est le Radis (*Raphanus sativus* L.) de la famille des Brassicacées, la plante a été choisie en raison de son utilisation au laboratoire comme plante modèle pour les études d'éco-toxicologie de différents polluants (Sun *et al.,* 2010), ainsi pour son meilleur taux de germination, sa croissance rapide et sa biomasse importante (Bitour, 2012).

L'objectif de ce travail est d'étudier le comportement de *R. sativus* face aux différents stress ; métallique (Cuivre), salin (NaCl) et l'interaction entre les deux stress (Cuivre-NaCl), par l'estimation des teneurs en osmorégulateurs ; proline et sucres solubles, et la détermination de l'action de la salinité sur la réponse de *R. sativus* au contrainte de cuivre.

Matériels et méthodes

Matériel végétal et Méthode de culture

Les graines de *Raphanus sativus* L. de variété National, sont désinfectées à l'hypochlorite de sodium à 2% pendant 10 min, puis lavées plusieurs fois à l'eau distillée. Ensuite, ils sont mises en germination dans des alvéoles contenant du terreau pendant 15 jours avant d'être repiquées dans des cylindres de 30 cm de hauteur et 20 cm de diamètre durant un mois et demi (45 jours), ces cylindres contiennent un mélange de sable et terreaux avec des proportions de (2V/V). L'arrosage a été fait 3 fois par semaine, deux fois avec l'eau distillée et une fois avec une solution nutritive de Hoagland (1938). Après deux mois de culture (60 jours) dans les alvéoles et les cylindres, les plantes du R. sativus sont récoltées et transportées au laboratoire afin d'être découpées en deux partie aérienne et racinaire, puis séchées à 80°C pendant 48h (Neggaz et Reguieg Yssaad, 2018).

Application du stress

Les plantes de *R. sativus* sont soumis à des stress abiotiques deux fois pendant deux semaines, les doses utilisées dans le stress métallique de cuivre sont (0, 400, 800 et 1000 PPM) et les doses utilisées dans le stress salin de NaCl sont (0, 40, 80 Meq/g), ainsi une interaction entre ces deux stress a été appliquée sur les plantes de *R. sativus*, et elle est représentée dans le tableau suivant (Tab.1):

Tableau 1 : Les doses de l'interaction entre le stress métallique (Cu en PPM)

et le stress salin (NaCl en Meq/g)

Doses de Cu / Doses de NaCl	0	400	800	1000
0	0	400	800	1000
40	40	400 + 40	800 + 40	1000 + 40
80	80	400 + 80	800 + 80	1000 + 80

Paramètres analysés

Les paramètres analysés dans ce travail sont la Proline et les Sucres solubles, considérés comme indicateurs et osmorégulateurs des stress comme le métallique et le salin chez les plantes. La méthode utilisée pour doser la proline est celle de Troll et Lindsley, (1955) modifiée par Dreier et Goring, (1974) et ensuite par Monneveux et Nemmar, (1986), et le dosage des sucres solubles est réalisée par la méthode de Dubois, (1956). L'appareillage utilisé pour doser ces paramètres est le spectrophotomètre uv-visible JENWAY 6505, la teneur de proline et des sucres solubles est exprimée en mg/g de matière sèche.

Analyses statistiques

Le logiciel choisi pour analyser les résultats obtenus est le STATBOX software. Version 6.4. Les analyses statistiques réalisées sont la variance (ANOVA) et le test de NEWMAN-KEULS avec un seuil de signification P=5%.

Résultats et Discussion

EFFET DE L'INTERACTION CUIVRE-SALINITÉ SUR LA TENEUR EN PROLINE

L'étude quantitative de la teneur en proline de *R. sativus* soumis à des concentrations croissantes du NaCl (40 et 80 Meq/g), révèle une augmentation importante de proline dans les deux parties aérienne et racinaire du *R. sativus*, ces teneures sont plus élevées comparativement aux ceux enregistrées chez le témoin. Par contre, le traitement par le Cu conduit à une nette diminution de proline dans les deux parties de *R. sativus* (Tabl.02, Fig.01). Lorsque le Cu, à concentration (400, 800, 1000 PPM), est combiné au NaCl (40 et 80 Meq/g), les teneurs en proline racinaire diminue proportionnellement avec l'augmentation des doses métalliques et salines, mais ces teneurs reste plus importante dans l'interaction Cu-80Meq/g que l'interaction Cu-40 Meq/g et le traitement par le Cu seul. En revanche, les teneures en proline aérienne diminuent dans la dose 800 PPM de Cu additionné à 40 Meq/g de NaCl. Au delà de cette dose la teneur en proline commence à augmentée progressivement avec l'accroissement des doses de l'interaction Cu-NaCl (Tabl.2, Fig.1).

Tableau 2 : La teneur en proline (Mg/g Matière Sèche) ± l'écart type dans le Radis (*Raphanus sativus* L.) sous stress combiné de cuivre (PPM) et de NaCl (Meq/g)

	Cooper / NaCl	0	400	800	1000
Arial part	0	0.065±0.01	0.054±0.009	0.037±0.01	0.031±0.007
	40	0.14±0.013	0.049±0.012	0.028±0.002	0.037±0.005
	80	0.143±0.013	0.035±0.004	0.038±0.011	0.056±0.008
Root part	0	0.079±0.005	0.059±0.005	0.05±0.008	0.046±0.013
	40	0.086±0.014	0.066±0.013	0.04±0.012	0.042±0.002
	80	0.1±0.01	0.091±0.004	0.069±0.007	0.065±0.01

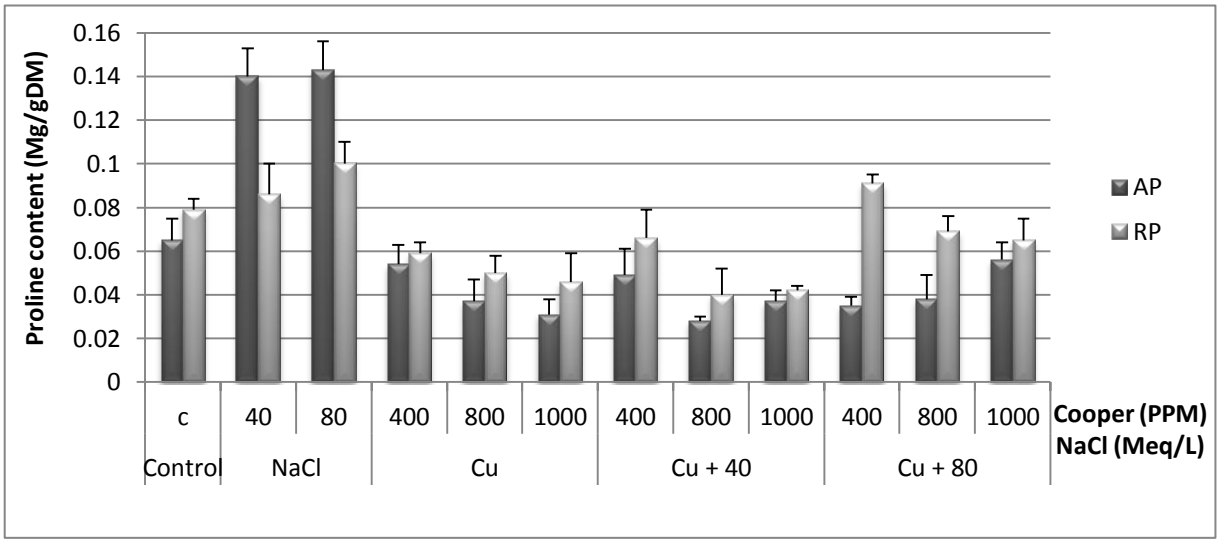


Figure 1 : Effet de l'interaction Cuivre-NaCl sur la teneur en proline (Mg/gMS) dans la partie aérienne et racinaire de *Raphanus sativus* L.

Les analyses statistiques indiquent que l'effet de NaCl et Cu sur les teneurs en proline aérienne et racinaire de *R. sativus* est hautement significatif ($P \leq 0.005$), et l'effet de l'interaction Cu-NaCl n'est pas significatif sur la teneur en proline racinaire ($P > 0.05$), mais hautement significatif sur sa teneur aérienne ($P \leq 0.005$).

La teneur en proline obtenue chez *Raphanus sativus* soumis à différentes concentrations de cuivre diminue progressivement avec l'augmentation des doses (0, 400, 800, 1000 PPM). Ces résultats sont en conformité avec plusieurs chercheurs montrant une diminution de la teneur en proline dans *Raphanus sativus* L. stressées par le zinc (Tihana *et al.,* 2008), *Brassica juncia* soumis à haute dose de plomb et de cadmium (Jhon *et al.,* 2009), et l'*Atriplex caniscencs* stressée par le plomb (Babou, 2014). D'après Chen, (2004) la teneur en proline diminue aussi dans les racines de Riz sous stress métallique. L'accumulation de proline dans les plantes soumises à la pollution par les métaux lourds a été examinée dans plusieurs espèces *Cicer arietinum* L. (Tantrey et Agnihotri 2010), *Rosa hybrida* L. (Kumar *et al.,* 2010), *Pinus sylevstris* L (Kandziora-Ciupa *et al.,* 2016). Globalement, les espèces qui se sont montrées les plus sensibles au stress, réagissent en accumulant plus rapidement de la proline. Par contre, celles qui se sont montrées tolérantes, présentent une stabilité relative ou une faible accumulation de leur teneur en proline (Lemziri *et al.,* 2007). Brinis et Belkhoudja (2015) ont justifié les taux réduits de la proline dans les plantes stressées par le niveau de stress qui ne semble pas avoir déclenché la protéolyse nécessaire pour l'obtention de quantité importante de proline, par conséquence il n ya pas de réponse au point d'envisager un blocage possible de l'activité métabolique en cours. Ainsi, Kadri et Midoun (2015) justifient la diminution de la teneur en proline chez certaines espèces en cas de stress, par leur capacité à assurer un ajustement osmotique en utilisant d'autres osmorégulateurs.

La teneur en proline enregistrée chez *Raphanus sativus* L. sous stress salin augmente progressivement avec l'accroissement des doses salines. Ces résultats concordent avec plusieurs travaux signalant l'augmentation de la proline sous stress salin chez plusieurs espèces à savoir *Citrus auranthium* (Atmane *et al.,* 2003), *Cathanathus roseus* (Cheruth Abduljaleel, 2007), *Atriplex halimus* (Boukraa, 2008), *Brassica juncea* (Mittal *et al.,* 2012), *Portulaca aleraceae* (Rahdari *et al.,* 2012), le trèfle (Laaziza *et al.,* 2003), et *Phaseolus vulgaris* (Tahri, 2018). L'accumulation de proline en réponse au stress salin peut être due à l'augmentation de sa biosynthèse, la diminution de leur catabolisme, ou une combinaison entre les deux. (Trinchant *et al.,* 2004).

EFFET DE L'INTERACTION CUIVRE-SALINITÉ SUR LA TENEUR EN SUCRES SOLUBLES TOTAUX

L'augmentation des doses de Cu provoque une diminution progressive de la teneur en sucres solubles dans les deux parties de la plante étudiée comparativement à celle enregistré dans le témoin. Contrairement au Cu, le NaCl et l'interaction Cu-NaCl provoquent une augmentation des teneurs en sucres solubles du système aérien et racinaire (Fig.02). La plus haute teneur en sucres des parties aériennes est enregistrée chez le témoin, et celle des parties racinaires est marquée au niveau du traitement 1000 PPM de Cu combinée à 40 Meq/g de NaCl (Tabl.03). Cependant, la plus faible teneur des sucres dans les deux parties aérienne et racinaire est enregistrée au niveau du traitement 1000PPM de Cu combiné à 40 Meq/g de NaCl et 800 PPM Cu combiné à 80 Meq/g de NaCl respectivement (Tabl.3).

Tableau 3 : La teneur en sucres solubles totaux (Mg/g Matière Sèche) ± l'écart type dans le Radis (*Raphanus sativus* L.) sous stress combiné de cuivre (PPM) et de NaCl (Meq/g)

	Cooper / NaCl	0	400	800	1000
Arial part	**0**	2.73±0.325	2.479±0.197	1.484±0.125	1.378±0.209
	40	2.529±0.357	2.382±0.265	1.987±0.279	1.254±0.189
	80	2.703±0.203	2.108±0.234	1.532±0.137	2.19±0.219
Shoot part	**0**	1.877±0.085	1.758±0.225	1.408±0.266	1.359±0.368
	40	2.248±0.05	1.876±0.294	1.868±0.128	2.603±0.19
	80	2.381±0.039	1.396±0.23	1.325±0.186	1.804±0.237

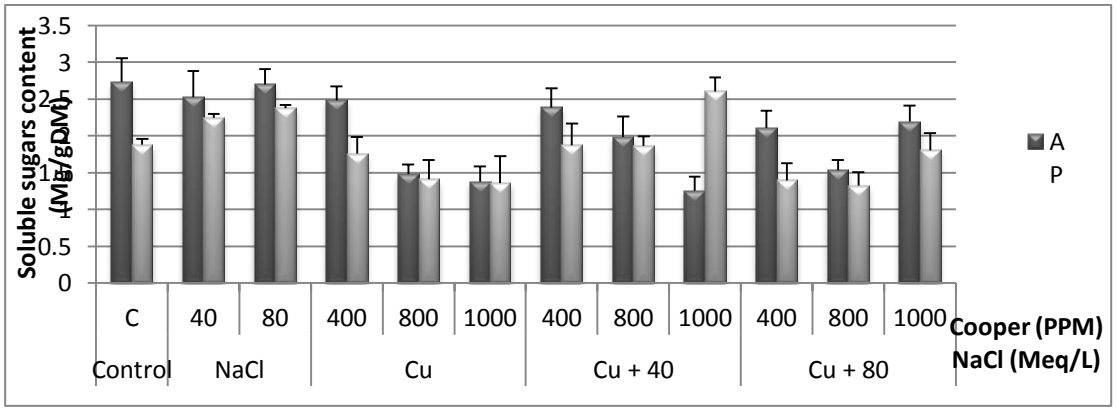


Figure 2 : Effet de l'interaction Cuivre-NaCl sur la teneur en sucres solubles (Mg/gMS) dans la partie aérienne et racinaire de *Raphanus sativus* L.

Statistiquement, la variation des teneurs en sucres solubles de plante traitée par le Cu et le Cu-NaCl est hautement significative pour les deux parties aérienne et racinaire (P≤0.005). En revanche, l'effet de NaCl sur les

taux de sucres solubles n'est pas significatif dans la partie aérienne (P>0.05), mais hautement significatif dans la partie racinaire (P≤0.005).

Les sucres solubles diminuent dans les parties aérienne et racinaire de *R. sativus* en fonction de l'augmentation des doses de cuivre. Cette réponse est similaire à celle rapportée par (Choudhary *et al.,* 2012 a,b), où la teneur en sucres solubles de *R. sativus* a été réduit d'environ 2,1 fois en réponse à la contrainte de Cu et 2,80 fois sous l'effet d'une contrainte de Cr. Il a été démontré aussi que la salinité et les basses températures augmentent les concentrations de sucre soluble, et les métaux lourds généralement conduisent à une diminution de celui-ci (Rosa *et al.,* 2009).

D'autres études signalent aussi la réduction des taux en sucres solubles chez *R. sativus* sous l'effet de Zn (Vijayarengan, 2012), et sous l'effet de Co (Kaliyamoorthy *et al.,* 2007). Divers études ont rapportés la baisse de la teneur en sucres solubles chez d'autres espèces végétales a savoir : *Phaseolus vulgaris* (Samarakoon et Rauser, 1979), *Zea mays* L. (Shrotri *et al.,* 1979), *Beta vulgaris* L. (Greger et Lindberg, 1986), *Cyamopsis tetragonoloba* L. Taub (Manivasagaperumal *et al.,* 2011), et les feuilles de *Triticum aestivum* sous l'action de Zn (Kumar *et al.,* 2012). Bhardwaj et ses collaborateurs (2009) ont signalé aussi une diminution des sucres solubles chez *Phaseolus vulgaris* sous l'action de Cd et Pb. Cette diminution est causée par la toxicité de cuivre car il manifeste principalement à travers la rhizotoxicité (Woolhouse et Walker 1981 ; Kabata-Pendias et Pendias 1992 ; Marschner 1995), parce qu'il empêche le transport des nutriments à partir des cotylédons, réduit le taux d'acides aminés dans les cotylédons par l'inhibition de la protéolyse, diminue le transport des sucres et des carbohydrates vers les cellules en croissance, et inhibe les amylases et phosphatases (Mihoub *et al.,* 2005).

Les résultats obtenus révèlent une augmentation progressive de la teneur en sucres solubles lorsque les doses de NaCl s'élèvent. Ces résultats concordent avec ceux enregistrés chez les feuilles de *Solanum lycopersicum* (Khavarinejad et Mostofi 1998), les feuilles de *Bruguiera parviflora* (Parida *et al.,* 2002), *Cucurbita pepo* (Ialelou *et al.,* 2013), *Trifolium repens* (Laaziza *et al.,* 2003), *Citrus aurantium* (Atmane *et al.,* 2003), *Medicago sativa* (Kadri et Midoun, 2015), et certains génotypes du riz (Alamgir et Ali 1999), dont une augmentation des sucres solubles est enregistrée en fonction de l'élévation des doses salines. Selon Singh *et al.,* (2000), le stress salin augmente les sucres réducteurs (glucose, fructose), le saccharose et les fructanes dans un certain nombre de plantes. D'après Ialelou *et al.,* (2013), l'augmentation des sucres a été liée à la dégradation de l'amidon, par ailleurs Subba *et al.,* (2014), justifient cette augmentation par la perturbation de l'activité photosynthétique qui pourrait modifier le métabolisme des sucres.

Effet de la salinité sur la tolérance de Raphanus sativus au Cuivre

Dans certaines œuvres, lorsque les effets de salinité combinée aux métaux lourds ont été examinés, différentes réponses (positives, neutres ou négatives) ont été obtenues pour plusieurs concentrations de sel (Demirezen 2007 ; Lopez-Chuken et Young 2005 ; Kadukova et Kalogerakis 2007 ; Khoshgoftarmanesh *et al.,* 2006). Compte tenu de ces observations, il n'est pas totalement inattendu que la salinité ait exercé un effet positif sur la tolérance des plantes au stress métallique (Valentina *et al.,* 2010). En revanche, des données significatives indiquant l'affaiblissement ou la neutralisation de la toxicité des métaux lourds et une amélioration de l'état de la plante sont présentées dans quelques rapports seulement, et ont été obtenues principalement pour les halophytes, comme le pourpier de mer, le cèdre salé, la plante à glace commune et la lentille d'eau commune (Volkov *et al.,* 2006 ; Ghnaya *et al.,* 2007 ; Kadukova et Kalogerakis, 2007 ; Demirezen, 2007).

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en proline et en sucres solubles dans R. sativus traité par le Cu combiné au NaCl augmentent comparativement à celles enregistrées sous l'effet de Cu seul. Il s'avère que la

salinité favorise la tolérance de R. sativus contre le cuivre par l'augmentation de la synthèse des Proline et Sucres solubles ; afin de maintenir son ajustement osmotique. L'interaction Cu-NaCl a révélé un effet positif de la salinité sur l'augmentation des teneurs en proline et sucres solubles dans la partie aérienne de *R. sativus* comparativement à l'effet de cuivre seul sur ces teneurs. Cela indique que la salinité favorise la phytoextraction de cuivre et leur passage vers les pousses de R. sativus. Ces résultats sont semblable à ceux obtenues par Azzouz (2011), montrant que la plante de *Vicia faba* accumule les sucres solubles et la proline sous l'effet de l'interaction plomb-NaCl d'une manière excessive comparativement à leurs accumulation sous stress de plomb et NaCl séparément. Ainsi, cette accumulation reste importante dans la partie aérienne que la partie racinaire de *Vicia faba*.

Conclusion

L'exposition de *Raphanus sativus* L. au stress métallique et salin, résulte un accroissement de la teneur en Proline et sucres solubles en fonction de l'élévation des doses de NaCl, et la diminution de cette teneur face à l'augmentation des doses de cuivre ; dans les deux partie aérienne et racinaire de *Raphanus sativus* L. L'interaction Cuivre-NaCl, révèle une augmentation des teneurs en proline et sucres solubles comparativement à l'effet de cuivre seul, cela signifie que la salinité à une action positive sur la tolérance des plantes au cuivre, et elle peu augmenté le niveau de proline et sucres solubles du système aérien et racinaire afin de maintenir son ajustement osmotique. Le cuivre seul affecte beaucoup plus le système racinaire, car la teneur de proline et sucres solubles est plus importante au niveau racinaire. En revanche, l'ajoute de NaCl au cuivre augmente cette teneur au niveau aérien, ce qui montre que le niveau de cuivre s'élève dans la partie aérienne. Les résultats obtenus montrent que la salinité modérée peut améliorer assez efficacement la tolérance de *Raphanus sativus* au cuivre, ce qui devrait être pris en compte lors du développement de technologies innovantes de phytoremédiation.

Références bibliographiques

- Alamgir, A.N.M., Ali, M.Y. (1999). Effect of salinity on leaf pigments, sugar and protein concentrations and chloroplast ATPAase activity of rice (*Oryza sativa* L.). *Bangladesh Journal of Botany*, **28**:145–149
- Atmane, R., Houda, E., Abdellatif, R. (2003). Behaviour towards the salinity of citrus rootstock calluses *Citrus aurantium, Citrange troyer* and *Poncirus trifoliata*: evaluation of criteria certifying the response of citrus fruits to saline stress. Agronomy, *Édition Diffusion Presse Sciences*, **23 (7)**:643-649
- Azouz, F. (2011). Effect of lead-salinity interaction on the physiological and biochemical responses of a halophyte (*Atriplex halimus* L) and a glycophyte (*Vicia faba* L.). Memory of Magister, Oran University, Algeria, pp:62-68
- Babou, F.Z. (2014). Lead action on *Atriplex halimus* and *Atriplex canescens* (Push) Nutt resistance markers. Memory of Magister, Oran University, Algeria, pp:27-28.
- Bhardwaj, P., Ashish, K.C., Prasad, P. (2009). Effect of enhanced lead and cadmium in soil on physiological and biochemical attributes of *Phaseolus vulgaris*. *Nature Science*, **8**:63–75.
- Biteur, N. 2012. Tests for the use of R. sativus h (*Raphanus sativus* L.) in phytoremediation (biodepollution) in soil contaminated by heavy metals (Lead): Study of oxidative stress and some enzymatic parameters. PhD thesis, Oran University, Algeria p:61.
- Boukraa, D.J. (2008). Interaction of sulfosalicylic acid and salinity on proline response and mineral variations in juvenile plants of Atriplex halimus L. Memory of Magister, Oran University, Algeria.
- Brinis, A., Belkhodja, M. (2015). Salinity effect on physiological and biochemical parameters of *Atriplex halimus* L. *Science and Technology*, Synthèse, **31**, 42 -51
- Chen, C.T., Chen, T.H., Lo, K.F., Chiu, C.Y. (2004). Effects of proline on copper transport in rice seedlings under excess copper stress. *Plant Science*, **166**:103–111.

- Chen, Z., Cuin, T.A., Zhou, M., Twomey, A., Naidu, B.P., Shabala, S. (2007). Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance. Journal Of Experimental Botany, **58**:4245–4255
- Cheruth, A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. (2007). Induction of drought stress tolerance by ketoconazole in *Catharanthus roseus* is mediated by enhanced antioxidant potentials and secondary metabolite accumulation. Article in *Colloids and surfaces B: Biointerfaces,* **60(2)**:201-6 DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.06.010}
- Choudhary, S.P., Kanwar, M., Bhardwaj, R., Yu, J.Q., Tran, L.S.P. (2012b). Chromium Stress Mitigation by Polyamine-Brassinosteroid Application Involves Phytohormonal and Physiological Strategies in *Raphanus sativus* L. *Public Library of Science,* **7(3)**:e33210. doi:10.1371/journal.pone.0033210
- Choudhary, S.P., Volkan, O.H., Bhardwaj, R., Yu, J.Q., Tran, L.S.P. (2012a). Interaction of brassinosteroids and polyamines enhances copper stress tolerance in *Raphanus sativus* L. *Journal of Experimental Botany*, **63(15)**:5659-5675 Published by: Oxford University Press http://www.jstor.org/stable/26205574
- Demirezen, D.Y. (2007). Effects of salinity on growth and nickel accumulation capacity of *Lemna gibba* (Lemnaceae). *Journal of Hazardous Materials*, **147**:74–77
- Dreier, W., Göring, M. (1974). Dereim slushohersolz kongentrasion en aiesverschideu physiologcshe parameter van-maiswrzelnwiss.Z. Drh. Berlin Nath. Naturwiss R, **23**:641-4.
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, **28**:350-356. https://doi.org/10.1021/ac60111a017.
- Ghnaya, T., Slama, I., Messedi, D., Grignon, C., Ghorbel, M.H., Abdelly, C. (2007). Cd-induced growth reduction in the halophyte *Sesuvium portulacastrum* is significantly improved by NaCl. *Journal of Plant Research*, **120**:309–316
- Greger, M., Lindberg, S. (1986). Effects of Cd^{2+} and EDTA on young sugar beets (*Beta vulgaris* L.) Cd^{2+} uptake and sugar accumulation. *Physiologia Plantarum*, **66**:69-74,
- Hare, P.D., Cress W.A., Van Staden, J. (1998). Dissecting the rôles of osmolyte accumulation during stress. Plant, Cell and Environment, Natal University Research Unit for Plant Growth and Development, University of Natal Pietermaritzburg, Private Bag X01, Scottsville, 3209, South Africa, P:542.
- Hoagland, D.R., Arnon, D.I. (1938). The water-culture method for growing plants without soil. Berkeley, California: College of Agriculture, University of California. Circular, **347**:1-39.
- Ialelou, F.S., Shafagh-Kolvanagh, J., Fateh, M. (2013). Effect of various concentrations of Zn on chlorophyll, starch, soluble sugars and proline in naked pumpkin (*Cucurbita pepo*). *International Journal of Farming and Allied Sciences*, **2(24)**:1198–1202.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S. (2009). Heavy metal toxicity: effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production*, **3**:65-75.
- Johnson, M.K., Johnson, E.J., MacElroy, R.D., Speer, H.L., Bruff, B.S. (1968). Effects of salts on the halophilic alga *Dunaliella viridis* . *Journal of Bacteriology*, **95**:1461–1468
- Kabata-Pendias, A. and Pendias, H. (1992). Trace Elements in Soils and Plants. 2nd Edition, CRC Press, Boca Raton.
- Kadri, A., Midoun, N. (2015). Effect of salt stress on some biochemical parameters of cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.). Kasdi Merbah University, Ouargla, Algeria, pp:31-40
- Kadukova, J., Kalogerakis, N. (2007). Lead accumulation from non-saline and saline environments by *Tamarix smyrnensis* Bunge*. European Journal of Soil Biology*, **43**:216–223
- Kaliyamoorthy, J., Cheruth, A., Packirisamy, V. (2007). Changes in Growth, Biochemical Constituents, and Antioxidant Potentials in R. sativus h (*Raphanus sativus* L.) under Cobalt Stress. *Turkish Journal of Biology*, **31**:127-136
- Kandziora-Ciupa, M., Ciepał, R., Nadgórska-Socha, A., Barczyk, G. (2016). Accumulation of heavy metals and antioxidant responses in *Pinus sylvestris* L. needles in polluted and non-polluted sites. *Ecotoxicology*, **25**:970–981. doi: 10.1007/s10646-016-1654-6

- Khavarinejad, R.A., Mostofi, Y. (1998). Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides, and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. *Photosynthetica*, **35**:151–154
- Khoshgoftarmanesh, A.H., Shariatmadari, H., Karimian, N., Kalbasi, M., van der Zee, S.E.A.T.M. (2006). Cadmium and zinc in saline soil solutions and their concentrations in wheat. Soil Science Society of America Journal, **70**:582–589
- Kumar, N., Pal, M., Singh, A., Kumar SaiRam, R., Srivastava, G.H. (2010). Exogenous proline alleviates oxidative stress vase life in rose (***Rosa hybrid***a L. 'Grand Gala') *Scientia horticulturae*, **127**:79–85. doi: 10.1016/j.scienta.2010.09.009.
- Kumar, V., Awasthi, G., Chauhan, P.K. (2012). Cu and Zn tolerance and responses of the Biochemical and Physiochemical system of Wheat. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, **8(3)**:203-213
- Laaziza, B.K., Asunćion, G., Mario, H., Abdallah, O. (2003). Effect of saline stress in a hydroponic environment on clover inoculated by Rhizobium. Agronomy, *Édition Diffusion Presse Sciences*, **23(7)**:553-560.
- Lemzeri, H. (2007). Ecophysiological responses of three forest species of the genus Acacia, Eucalyptus and Schinus (*A. cyanophylla, E. gomphocephala* and *S. mölle*) under saline stress. Memory of Magister, Constantine University, Algeria 180p.
- Li, Y., Seacat, A., Kuppusamy, P., Zweier, J.L., Yager, J.D., Trush, M.A. (2002). Copper redox-dependent activation of 2-tert-butyl(1,4) hydroquinone: formation of reactive oxygen species and induction of oxidative DNA damage in isolated DNA and cultured rat hepatocytes. *Mutation Research* , **518**:123–133
- Lopez-Chuken, U.J., Young, S.D. (2005). Plant screening of halophyte species for cadmium phytoremediation. *Zeitschrift fuer Naturforschung*, **60c**:236–243
- Manivasagaperumal, R., Balamurugan, S., Thiyagarajan, G., Sekar J. (2011). Effect of Zn on Germination, Seedling Growth and Biochemical Content of Cluster Bean (*Cyamopsis tetragonoloba* L. Taub). *Current Botany*, **(2)**:11-15.
- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2nd Edition. Academic Press, San Diego. 889pp.
- Mihoub, A., Chaoui, A., Ferjani, E.E. (2005). Biochemical changes induced by cadmium and copper during pea seed germination (*Pisum sativum* L.). *Comptes rendus Biologies*, **328**: 33-41
- Mittal, S., Kumari, N., Sharma, V. (2012). Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry*, **54**:17–26
- Monneveux, P.H., Nemmar, M. (1986). Contribution to the study of drought resistance in soft wheat (*Triticum aestivum* L.) and durum wheat (*Triticum durum* Desf.): study of proline accumulation during the development cycle. Agronomy, *Édition Diffusion Presse Sciences*, **6(6):**583-590. https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00884913
- Neggaz, N.H., Reguieg Yssaad, H.A. (2018). Effect of lead stress on polyphenols, flavonoids, and proline contents in R. sativus h (*Raphanus sativus* L.). *International Journal of Biosciences*, **12(5)**:135-144 http://dx.doi.org/10.12692/ijb/12.5.135-144
- Parida, A., Das, A.B., Das, P. (2002). NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology*, **45**:28–36
- Rahdari, P., Tavakoli, S., Hosseini, S.M. (2012). Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Leaves. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, **8(1)**:182–193
- Rosa, M., Prado, C., Podazza, G. (2009). Soluble sugars—Metabolism, sensing and abiotic stress: A complex network in the life of plants. *Plant Signaling & Behavior*, **4(5)**:388-393
- Samarakoon, A.B. and Rauser, W.E. (1979). Carbohydrate levels and photostimulate export from leaves of *Phaseolus vulgaris* exposed to excess cobalt, nickel and zinc. *Plant Physiology*. **63**:1162-1169.
- Shrotri, C.K., Tewari M.N., Rathorem, V.S. (1979). Effect of zinc on chlorophyll, sugars and starch contents in maize (*Zea mays* L.). *Indian Journal of Experimental Biology* ., **17**:58-60.
- Singh, S.K., Sharma, H.C., Goswami, A.M., Datta, S.P., Singh, S.P. (2000). In vitro growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. *Biologia Plantarum*, **43(2)**:283–286

- Subba, P., Mukhopadhyay, M., Mahato, S.K., Bhutia K.D., Mondal T.K., Ghosh S.K. (2014). Zinc stress induces physiological, ultra-structural and biochemical changes in mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco) seedlings. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, **20(4)**:461–473.
- Sun, B.Y., Kan, S.H., Zhang, Y.Z., Deng, S.H., Wu, J., Yuan, H., Qi, H., Yang, G., Li, L., Zhang, X.H., Xiao, H., Wang, Y.J., Peng, H., Li, Y.W. (2010). Certain antioxydant enzymes and lipid peroxydation of R. sativus h (*Raphanus sativus* L.) as early warning biomarkers of soil copper exposure. *Journal of Hazardous Materials*, **183**:833-838. http://doi:10.1016/j.jhazmat.2010.07.102
- Tahri, M. (2018). Research of parameters related to salt tolerance in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) PhD thesis from Mostaganem University of Algeria, pp:70-78
- Tantrey, M.S., Agnihotri, R.K. (2010). Chlorophyll and proline content of gram (*Cicer arietinum* L.) under cadmium and mercury treatment. *Research Journal of Agricultural Sciences*, **1(2)**:119-122.
- Tavakkoli, E., Fatehi, F., Rengasamy, P., McDonald, G.K. (2012). A comparison of hydroponic and soilbased screening methods to identify salt tolerance in the fi e ld in barley. *Journal of Experimental Botany*, **63(10)**:3853-67. doi: 10.1093/jxb/ers085
- Tihana, T., John, T.H., Meri, E., Nada, P., Vera, C., Hrvoje, L., Ivna, Š., Drago, B. (2008). Antioxidative responses in R. sativus h (*Raphanus sativus* L.) Plants stressed by copper and lead in nutrient solution and soil. Acta biologica cracoviensia. Series Botanica, **50(2)**:79–86
- Trinchant, J.C., Boscari, A., Spennato, G., Van de Sype, G., Le Rudulier, D. (2004). Proline betaine accumulation and metabolism in alfalfa plants under sodium chloride stress. Exploring its compartmentalization in nodules. Plant Physiol, **135(3)**:1583-94 DOI:10.1104/pp.103.037556
- Troll, W. and Lindsley, J. (1955). A photometric method for the determination of proline. Journal of Biological Chemistry, **215(2)**:655-660
- Valentina, K., Kirill, V., Vladimir, K. (2010). Plants Under Heavy Metal Stress in Saline Environments. I. Sherameti and A. Varma (eds.), Soil Heavy Metals, Soil Biology, Vol 19, DOI 10.1007/978-3-642-02436-8_8
- Vijayarengan, P. (2012). Growth and biochemical variations in R. sativus h under zinc applications *International Journal of Research in Plant Science*, **2(3)**:43-49
- Volkov, K.S., Kholodova, V.P., Kuznetsov, V.l.V. (2006). Plant adaptation to salinity reduces copper toxicity. Doklady Biological Sciences, **411**:479–481
- Woolhouse, H.W. and Walker, S. (1981). In copper soils ans plants. Eds. J Loneragan, AD Robson and RG Graham. PP 235-262. Academic Press, Inc., New York
- Zerrad, W., Hillali, S., Mataoui, B.S., Elantri, E ., Elhmyene, A. (2006). Study of the biochemical and molecular mechanisms of water stress resistance of two varieties of durum wheat. International Congress of Biochemistry, Agadir 9-12 Mai 2006.
- Zouari, M., Ben Ahmed, Ch., Zorrig, W., Elloumi, N., Rabhi, M., Delmail, D., Ben Rouina, B., Labrousse, P., Ben Abdallah, F. (2016). Exogenous proline mediates alleviation of cadmium stress by promoting photosynthetic activity, water status and antioxidative enzymes activities of young date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **128**:100–108. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.02.015.

Effet de l'huile de moteur usée sur certains paramètres morpho-physiologiques du soja *Glycine max* L. Merr.

Ahmed MORTET[(1*)], Abdelwaheb CHIBANI[(1)], Houcine A H REGUIEG YESSAD[(1)]
[(1)]*Département de biologie, Faculté de SNV, Université Abd El Hamid Ben Badiss Mostaganem, ALGÉRIE.*
Ahmedokmortet@gmail.com

Résumé

L'huile de moteur usée est l'un des polluants les plus couramment rencontrés dans les sols, leur accumulation pouvait endommager de manière permanente les caractéristiques des sols, entraînant une faible croissance et même une très faible production de biomasse végétale. Le but de ce travail est d'étudier l'effet de ce composé sur certains paramètres morpho-physiologiques du soja Glycine max. Les plantules ont été semées dans cinq différentes concentrations de l'huile de moteur usée (0%, 1,25%, 2,5%, 3,75% et 5%) pendant 75 jours dans une serre. Les résultats montrent une réduction significative de la longueur avec l'augmentation progressive de la concentration de l'huile de moteur, notant que les valeurs les plus faibles ont été obtenues avec la dose 5% (avec une réduction de 41,09%). Cette diminution a également été observée pour la surface foliaire totale qui est diminuée de 76,90% par rapport au témoin. Cela a ensuite entraîné une augmentation de la perte en eau relative (RWL) par rapport au témoin et une stabilité des valeurs de la teneur en eau relative (RWC). Ces changements ont affecté la productivité du soja où les plantes testées ne produisaient qu'un fruit (corne) par plante avec les doses élevées de l'huile de moteur usée.

Mots clés: L'huile de moteur usée, le soja *Glycine max*, les paramètres morpho-physiologiques, le stress.

Introduction

La contamination de l'environnement suite à l'utilisation des hydrocarbures est devenue un problème mondial. Un de ces polluants est l'huile de moteur qui, par son accumulation, peut endommager les caractéristiques des sols. En conséquence, un déséquilibre nutritionnel peut s'être produit dans les semis avec des sols contaminés, ce qui peut le rendre défavorable à la survie et au développement de la plante, entraînant une faible croissance et même une très faible production de biomasse végétale (Edema *et al.,* 2009). L'action des plantes sur la dégradation des hydrocarbures peut se faire de manière directe ou indirecte. En effet, les racines produisent des enzymes de type peroxydase capables d'oxyder les hydrocarbures. Dans la plupart des sols contaminés par les hydrocarbures, le rapport C/N est souvent déséquilibré en raison de l'enrichissement total en carbone et de la diminution de l'azote (Morot, 1997).

De ce fait, l'activité symbiotique des légumineuses est plus qu'indispensable pour assurer leur croissance. À l'appui de cette affirmation, les légumineuses se sont avérées les plus abondantes dans les sites contaminés par des hydrocarbures pétroliers (Adam et Duncan, 1999). Ce qui justifie le choix du soja Glycine max dans la phytoremédiation de l'huile de moteur usée.

Dans ce cadre, notre travail vise à étudier l'effet de l'huile de moteur usée sur et quelques paramètres morpho-physiologiques du soja.

Matériel et Méthodes

1. Application de stress

Le sol est mélangé avec de l'huile à moteur usée selon les doses indiquées dans le tableau 1

Tableau 1. Les doses l'huile de moteur usée dans le sol

HMU	0%	1.25%	2.5%	3.75%	5%

2. Matériel végétal

La variété utilisée est la variété française Queen (obtenue pour la première fois en 1992 par Dekalb et distribuée par le RAGT Rouergue Auvergne Gévaudan Tarnais).

3. Méthodes de culture

Les graines sont mises à germer directement dans les pots (2.5 Kg du sol) pour assurer le stress depuis le premier jour. L'arrosage est fait 3 fois par semaine avec l'eau de robinet, avec une fois entre les deux par la solution nutritive de Hoagland (1938). Après 75 jours du stress, les plantes sont prélevées, les racines sont rincées et séparées de tiges et feuilles pour faire les analyses.

4. Paramètres étudiés

4.1. Surface foliaire totale: par la méthode de Bezzala, 2005.

4.2. Longueur aérienne, racinaire et totale: par l'utilisation d'une règle graduée

4.3. Productivité: le nombre de cornes du soja a été calculé pour déterminer la capacité de la plante à produire des fruits sous la pression de l'huile moteur.

4.4. RWC: par la méthode de Scippa *et al.,* 2004 ; en utilisant la formule de Clarke et Mc-Caig, 1982.

4.5. RWL: par la méthode de Clarke et al., 1989, et la formule utilisée est de Monneveux, 1991.

5. Analyses statistiques

Les analyses ont été appliquées à l'aide d'un logiciel STAT-BOX 6.4 par utilisation de l'analyse de variances ANOVA appelant au test Newman Keuls avec un seuil p = 5%.

Résultats & Discussion

1. Surface foliaire totale

Concernant la figure 1, les feuilles de témoin atteignent une surface totale de 576.01±78.09 cm^2, cette surface est diminuée pour les deux doses suivantes 1.25% et 2.5% par 59.89% et 59.54%, et reste diminuer avec l'augmentation de la dose où atteint 186.27±16.77 cm^2 pour la dose 3.75% et 133.03±15.57 cm^2 pour 5%de l'huile de moteur avec une réduction de 67.70% et 76.90% respectivement par rapport à la dose 0%.

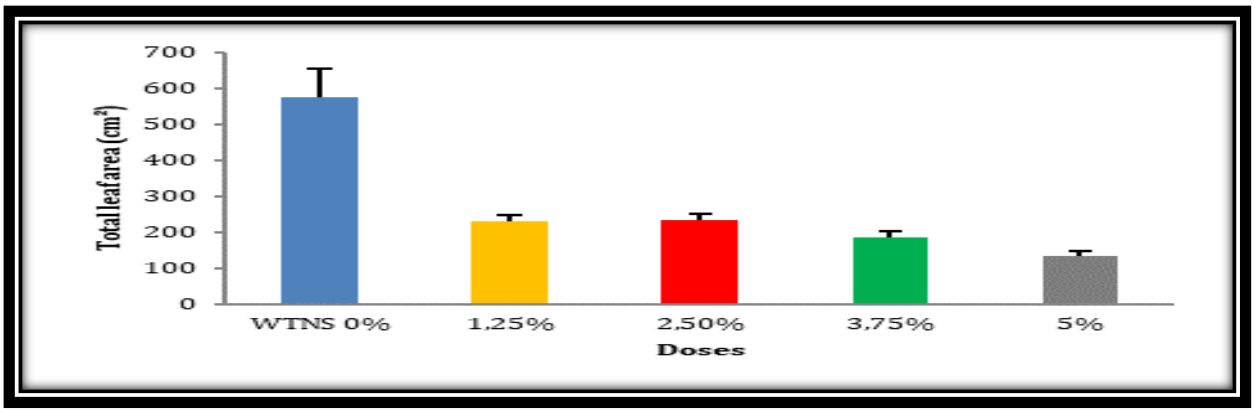


Figure 1. Surface totale des feuilles du soja (*Glycine max* L. Merr) stressée par l'huile de moteur usée.

2. Longueur aérienne, racinaire et totale

Pour la longueur racinaire, la dose 1.25% provoque une augmentation de 10.58% par rapport au témoin (34.66±3.05cm), mais après ça, les doses suivantes (2.5% et 3.75%) exercent une diminution de 14.42% arrivant à une réduction atteinte à 32.68% pour la dernière dose (5%) qui a une longueur de 23.33±0.57 cm. La longueur aérienne décroit avec l'augmentation de la dose où elle commence par 62.66±0.57 cm (témoin) passant à 44.33±0.57 cm (1.25%), 41.66±1.52 cm (2.5%), 35±2.00 cm (3.75%) et arrivant à 34±3.00 cm (5%) qui enregistre une chute de 45.45% par rapport au témoin (0%).La longueur totale, comme conséquence des deux longueurs (aérienne et racinaire), commence à diminuer depuis la dose 1.25% (82.66±2.51 cm) par rapport au témoin (97.33±2.51 cm), et reste diminuer jusqu'à la dernière dose avec des valeurs de 71.33±1.15 cm, 64.66±1.15 cm et 57.33±3.05 cm respectivement pour les doses 2.5%, 3.75% et 5% ce que signifie une réduction atteinte à 41.09% par rapport au témoin.

Figure 2. Longueur finale du soja (*Glycine max* L. Merr) stressée par l'huile de moteur usée.

3. Productivité (nombre de cornes)

Pour le soja, les doses de l'huile ont un effet négatif plus la concentration est élevée sur le nombre de cornes où on remarque que la dose 0% (témoin) a 8.33±0.57 fruits par plante, les doses suivantes 1.25% et 2.5% ont 2±0.00 fruits (diminution de 75.99%) et les deux dernières doses 3.75% et 5% ne produisent que 1±0.00 corne par plante du soja avec une réduction de 87.99%.

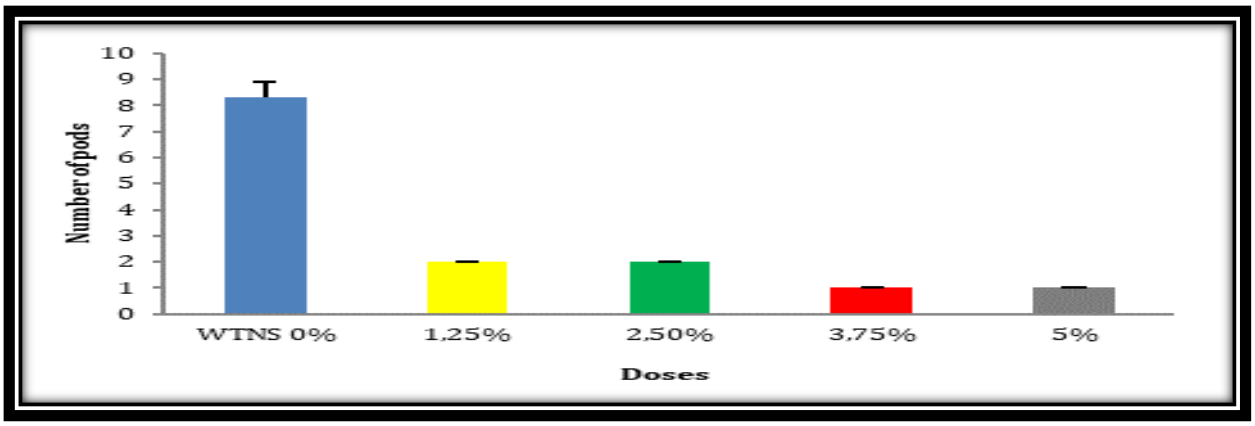


Figure 3. Nombre de cornes du soja (*Glycine max* L. Merr) stressée par l'huile de moteur usée.

4. RWC et RWL

Concernant le RWC, La figure illustre une augmentation de la teneur relative en eau dans la dose 1.25% (74.39±4.80%) par rapport au témoin qui enregistre une valeur de 71.62±2.46% ; mais après ça, on remarque une baisse à un taux très bas où les dernières doses de l'huile de moteur usée 2.5%, 3.75% et 5% enregistrent respectivement des teneurs de 71.22±4.52%, 70.43±4.44% et 70.34±2.46%.

Pour le RWL ; et à 30 minutes, on remarque l'existence de 03 groupes homogènes, le groupe (A) représentant la dose 5% (0.0019±0.0001 $g.cm^{-2}.min^{-1}$), le groupe (B) regroupant les doses 3.75% (0.0014±0.0003 $g.cm^{-2}.min^{-1}$), 2.5% (0.0013±0.0003 $g.cm^{-2}.min^{-1}$) et 1.25% (0.0012±0.0001 $g.cm^{-2}.min^{-1}$), et le groupe (C) qui est spécifique pour le témoin (0%) (0.0005±0.0000 $g.cm^{-2}.min^{-1}$).

A 60 minutes, 04 groupes homogènes apparaissent : la grande dose (5%) s'installe dans le premier groupe (A) avec une valeur de 0.0016±0.0000 $g.cm^{-2}.min^{-1}$, la dose 3.75% s'installe dans le deuxième groupe (AB) avec 0.0013±0.0003 $g.cm^{-2}.min^{-1}$, les doses 2.5% (0.0012±0.0002 $g.cm^{-2}.min^{-1}$) et 1.25% (0.0011±0.0002 $g.cm^{-2}.min^{-1}$) prennent le troisième groupe (B), et le témoin représente le dernier groupe homogène (C) avec une teneur de 0.0004±0.0001 $g.cm^{-2}.min^{-1}$.

A 120 minutes, les valeurs de RWL restent diminuer formant aussi 04 groupes : (A), (AB), (B) et (C) s'installent respectivement pour la dose 5% (avec 0.0014±0.0001 $g.cm^{-2}.min^{-1}$) / les doses (3.75% et 2.5%) avec 0.0011±0.0004 $g.cm^{-2}.min^{-1}$ et 0.0010±0.0002 $g.cm^{-2}.min^{-1}$ / la dose 1.25% (avec 0.0008±0.0001$g.cm^{-2}.min^{-1}$) / et le témoin qui atteint une valeur de 0.0003±0.0001 $g.cm^{-2}.min^{-1}$.

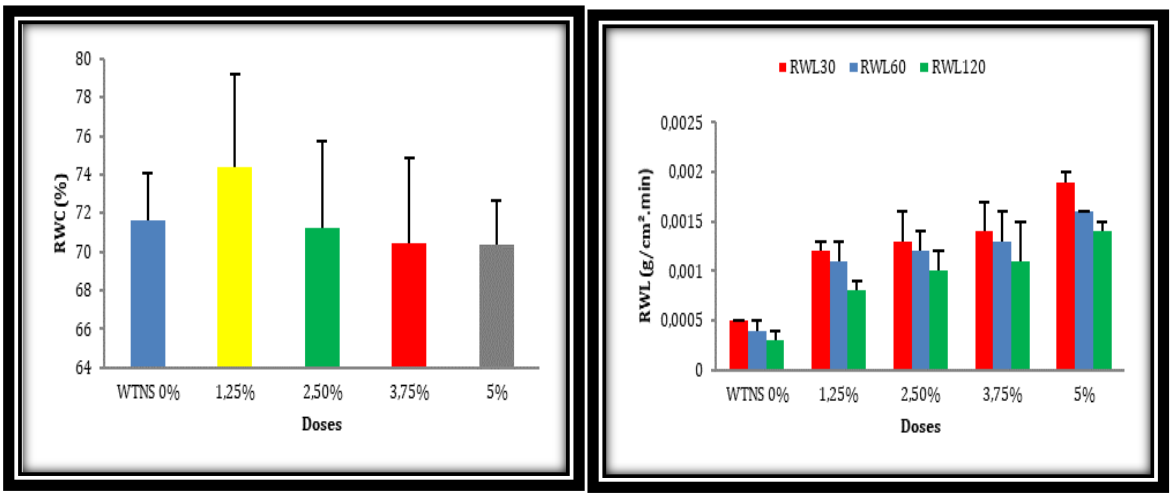


Figure 4. RWC et RWL du soja (*Glycine max* L. Merr) stressée par l'huile de moteur usée.

Discussion

D'après Baker (1970), les symptômes causés par la contamination avec le pétrole (ou bien ses dérivés) sont innombrables et ne sont généralement pas spécifiques. La même substance peut induire des effets différents chez les différentes espèces, et à l'inverse, les mêmes symptômes peuvent résulter d'une exposition à différentes substances. Alerte *et al.,* (2008) ont conclu que la longueur plus courte des plantules de *Corchorusolitorius* L. (Tilicaceae) dans le sol contaminé par l'huile a été causée par la disponibilité de l'eau réduite dans le sol. Selon Hester et Mendelssohn (2000), la croissance des plantes pourrait être entravée par les altérations physiques et chimiques du sol causée par le pétrole. La présence des hydrocarbures peut modifier la fertilité du sol (Wyszkowska*et al.,* 2001, 2002). Par conséquent, un déséquilibre nutritionnel peut avoir eu lieu dans les semis aux sols contaminés, entraînant une faible croissance et même une très faible production de biomasse.(Muhammad*et al.,* 2016) ont observé une nette diminution dans la racine, la tige, la longueur des semis et la productivité de *Parkinsoniaaculeata* à la concentration la plus élevée (5%) du traitement des sols pollués par l'huile de moteur par rapport au témoin. Cette diminution peut-être à cause de la grande variété d'éléments, dans l'hydrocarbure utilisé, tels que le carbone, l'hydrogène, le soufre, l'azote et l'oxygène (Maranho*et al.,* 2009).

Comme explication de l'état physiologique (ou bien hydrique), la teneur relative en eau dans les feuilles est un bon indicateur de l'état hydrique, l'analyse de cette dernière permet de décrire d'une manière globale le statut hydrique de la plante et d'évaluer l'aptitude à réaliser une bonne osmorégulation et de maintenir une turgescence cellulaire (Aboussouane et Planchan, 1985).Han *etal.,* (2016) ont dit que les chiffres de RWC sous les concentrations de pétrole de 5 et 10 $g.kg^{-1}$ n'ont pas eu de changements significatifs avec le témoin au cours des trois périodes d'échantillonnage, mais elles ont montré une tendance à la baisse au cours de la période d'échantillonnage tardif. Le chiffre sous la concentration de pétrole de 15 $g.kg^{-1}$ n'a pas montré de changement spectaculaire pendant les périodes d'échantillonnage précoce et intermédiaire mais a diminué significativement de 9,21%; bien que le chiffre sous la concentration de pétrole de 20 $g.kg^{-1}$, ne montrant aucun changement significatif pendant la période d'échantillonnage à mi-parcours, a augmenté sensiblement de 11,20% au début de l'échantillonnage et a diminué de 17,53% à la fin.

Dans la même expérience, les légères diminutions sans signification statistique,qui ont été observées dans la capacité de rétention d'eau des sols traités avec le pétrole, peuvent être attribuées aux propriétés hydrophobes du pétrolequi ont altéré l'infiltration de l'eau et l'humidité du sol (Merkl*et al.,* 2004, 2005).Par conséquent, les résultats de la RWC ont reflété directement l'effet de la contamination du sol par le pétrole sur le statut hydrique des plantules d'*Amorpha fruticosa*.

Conclusion

Notre étude a expliqué que l'augmentation des doses de l'huile de moteur usée induisait une diminution de la croissance des plantes su soja testées. Cette réduction est représenté par une diminution significative de la hauteur et de la surface totale des feuilles, avec un état d'humidité maintenu par une stabilité de RWC et RWL, ce qui réflète sur la productivité de nos plantes testées.

Références

Adam, G., Duncan, H. J., 1999. Effect of diesel fuel on growth of selected plant species. Environmental Geochemistry and Health, 21, 353-357.

Aboussouane-Seropian, C., Planchan, C., 1985. La réponse de la photosynthèse de deux variétés de blé à un déficit hydrique foliaire. *Edition Agronomie*, Vol. 5 (7): 639-644.

Bezzala, A., 2005. Essai de l'introduction de l'arganier (*Arganiaspinosa* L) dans la zone de M'doukel et évaluation de quelques paramètres de résistance à la sécheresse.Thése de Magister, Université de Elhadj Lakhdar de Batna, 25-28.
Clarke, J. M., Mc caig, T. N., 1982. Excised-leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. Canadian Journal of Plant Sciences, 62, 571-587.
Clarke, J. M., Romagosa, I., Jana, S., Srivastava, J. P., Mc caig, T. N., 1989. Relation of excised-leaf water loss rate and yield of durum wheat in diverse environments. Canadian Journal of Plant Sciences, 69, 1057-1081.
Edema, N. E., Obadoni, B. O., Erheni, H., Osakwuni, U. E., 2009. Eco-Phytochemical studies of plants in a crude oil polluted terrestrial habitat located at Lwhrekan, Ughelli North Local Government Area of Delta State. Nature and Science, 7(9), 49-52.
Han, G., Cui, B.X., Zhang, X.X., Li, K.R., 2016. The effects of petroleum-contaminated soil on photosynthesis of *Amorphafruticosa* seedlings, *International Journal of Environmental Science and Technology*, Vol. 10 (13): 2383-2392.
Merkl, N., Schultze-Kraft, R., Infante, C., 2004. Phytoremediation in the tropics, the effect of crude oil on the growth of tropical plants. *Bioremediation Journal*, Vol. 8: 177-184.
Merkl, N., Schultze-Kraft, R., Infante, C., 2005. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. *Water, Air and Soil Pollution*, Vol. 165: 195-209.
Monneveux, P., 1991. Quelles strategies pour l'amélioration génétique danc la tolérance au déficit hydrique des céréales, les outils d'amélioralion des plantes par l'adaplation aux milieux arides. AUPELI'-UREF, John LibbeyEurotesr, 165-l86.
Morot-Gaudry, J. F., 1997.Assimilation de l'azote chez les plantes. Aspects physiologique, biochimique et moléculaire. Edition INRA, Paris, 75-90.
Scippa, G., Di Michele, M., Onelli, N. E., Patrignani, G., Chiatante, D., Bray, E., 2004. The histone-like protein H1-S and the response of tomato leaves to water deficit. Journal of ExperimentalBotany, 55(394), 99-109.

Antifungal activity of essential oil from Thymus sp against *Fusarium oxysporum* under saline conditions

Boualem Boumaaza[123*] and Mohamed Benkhelifa[1]

[1]Biodiversity and Water and Soil Conservation, Department of Agronomy, University of Abdelhamid Ibn Badis, BP 300, 27000, Mostaganem, Algeria

[2]Conservation Laboratory Wetlands: University of 8th May, 1945 Guelma, BP 401 24000 Guelma, Algeria

[3]University of Ibn khaldoun Tiaret. Algeria

Abstract

Thyme *(Thymus sp.*), a medicinal plant of the Lamiaceae family, is used in traditional medicine, contains a wide array of medicinally active components, including oxygenated monoterpenes, Sesquiterpene hydrocarbons and oxygenated sesquiterpene. Salinity stress in the arid and semiarid regions of the world severely affect growth and productivity of plants. It is one of the most important factors may increase the incidence and severity of some plant diseases. The aims of this study were to evaluate the efficacy of *Thymus sp* essential oil on the fungal growth in *Fusarium oxysporum* strains under saline condition. Essential oil was extracted by hydrodistillation technique using Clevenger apparatus. Essential oil compound was identified by gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS). Antifungal activity of essential oil against *F. oxysporum* was investigated by macro- broth method of dilution. The main constituents of thyme essential oil were thymol (76.96%) and ρ-cymene (9.89%). The results suggested that sodium salts stimulated mycelial growth of *F. oxysporum* in 0.6 to 1.5 %. On the contrary, it decreased at concentration of 2% of NaCl. Application of sodium salt caused a significant increase in the production of conidiogenesis at various concentrations tested compared with control. Conidial germination was slightly inhibited by sodium chloride only when the concentration was over 2%. Thymus sp presented high *in vitro* activity, in controlling the conidia germination and mycelial growth of *F. oxysporum*. However, the oil was significantly not active against the spore production. This study demonstrated that effeteness essential oil of Thymus sp can be significantly affected by NaCl. The results of this study indicate that salinity decrease the efficacy of essential oil against the pathogen.

Key words: Antifungal activity, Essential oil, *Fusarium oxysporum,* NaCl, Thyme.

Introduction

Fusarium oxysporum is ubiquitous fungi, widely distributed in soil, plants, plant debris and other organic substrates. This fungus is some of the most important phytopathogenic and toxigenic fungi, affecting the fitness and survival of plants in more than 100 different crops (Al-Hatmi et *al*., 2016; Enciso-Rodríguez et *al*., 2013; Silva, 2016). In addition, *F. oxysporum* has numerous specialized forms (f.sp.) that infect a range of host plants causing diseases such as vascular wilt, corm rot, root rot (McGovern, 2015) . Another important characteristic of the species of this genus is their ability to produce a variety of mycotoxins that can enter the food chain human and animal (Scherm et *al*., 2013; Wolny-KoladkaK, 2015). Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) is one of the most widely grown vegetable food crops in the world, second only to the potato, with an annual production of 164 million tonnes from 4.73 million hectares of area under cultivation in 2013 (FAOSTAT, 2015). However, this culture is confronted with the attacks of fungal diseases, and is especially sensitive to vascular wilt by *F. oxysporum* (Inami et *al*., 2014). The disease results in severe losses in the greenhouse, field crops and hydroponic cultures (McGovern, 2015). Preventive measures such as chemical pesticides have controlled the disease to some extent. However, excessive application of fungicides to control plant diseases has led to severe damage to soil microbial

communities, fertility and may leave behind toxic residues in treated products (Kordali et *al*., 2008). In addition, intensive use of fungicides can result in the development of pathogen resistance (Salamci et *al*., 2007).

Due to the problems caused by chemical control, development of alternative control measures is of great importance. Therefore, the search for biological control has been considered as a desirable and realistic alternative. Over the last few years, biological control of plant pathogens is accepted as a key practice in sustainable agriculture because it is basically based on the management of natural resources (Jie et *al*., 2015). Numerous studies have demonstrated the ability of several essential oils to possess antibacterial, antifungal, antiviral, antioxidant activities, and play an important role in the protection of the plants against plant pathogens both *in vitro* and *in vivo* (Mollaei et *al*., 2011; Reddy et *al.,* 1998).

The plants of genus Thymus are widely used in food flavouring, as well as aroma additives, in perfumery, folk medicine and in pharmacological sector as natural antioxidants and antimicrobial agents. Many authors have reported antioxidant and antibacterial activities of the essential oils of Thymus (Ballester-Costa et *al*., 2017; Adrar et *al.,* 2015; Abdulhmid et *al*., 213). Numerous papers have been conducted to show *in vivo* antifungal activity of essential oils against pathogenic fungi (Soylu EM,Kurt & Soylu., 2010; Tian et *al*., 2011). This activity has mainly been attributed to its components thymol and carvacrol, they are exhibits multiple biological activities including antibacterial antifungal activities (Hernández-Hernández et *al*., 2014; Jesus et *al*., 2015). According to European Pharmacopoeia 5.0 (2005), the minimum content of EO in Thymus sp is 12 mL/kg, but the chemical composition shows variations, six chemotypes being mainly reported namely geraniol, linalool, gamma-terpineol, carvacrol, thymol and trans-thujan-4-ol/terpinen-4-ol(Rota et *al*., 2008; Thompson et *al*., 2003).

The antifungal potential of essential oil is the first step in utilizing the full potential of essential oils for specific applications. Therefore, the essential oil composition is strongly influenced by many factors such as high temperature, low water activity, low nutrient conditions, and UV light for effective establishment and disease control.

Taking into consideration that microorganisms ca be affected by salinity, as an example, the low levels of salinity could increase the severity of *phytophthora root rot* of tomato with high Na:Ca ratios (10:1), Phytophthora (Roubtsova & Bostock., 2009; Blaker & MacDonald, 1986; Sanogo, 2004; Swiecki and MacDonald, 1998), *F. oxysporum f. sp. vasinfectum* (Turco et *al*., 2002), *F. oxysporum* f. sp. *radicis- lycopersici* (Triky-Dotan et *al*., 2005), *Verticillium dahliae* and *Alternaria solani* (Regragui & Lahlou, 2005; Nachmias et *al*., 1993), *Botrytis cinerea* (Boumaaza et *al*., 2015a), the objectives of this study were to assess the antifungal activity of the essential oil from Thymus against *Fusaruim oxsysporum in vitro* under salinity conditions.

Material and methods

Inoculum preparation

The *Fusaruim oxsysporum* strain was obtained from stock cultures held in the Plant Protection laboratory of the Agronomy Sciences Department, University of Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algeria. *F. oxsysporum* readily produced conidia after 14 days on PDA cultures at 25°C in the dark. Conidial suspension was obtained by flooding plates with sterile water and rubbing gently with a glass rod; suspensions of *F. oxsysporum* conidia were filtered through sterile cheesecloth before use. Conidia concentrations were determined by hemacyto-meter counts and diluted with sterile distilled water to a final concentration of 10^5 conidia.ml^{-1} shortly before use.

Essential oil chemical composition

Essential oil was from Thymus sp (obtained from Phytopathology laboratory INAT, Tunis, Tunisia). Essential oil was obtained by hydrodistillation of air-dried aerial parts of the plants during 3 h using a Clevenger- type apparatus according to the method recommended in British Pharmacopoeia. The essential oil was dried over anhydrous sodium sulphate, filtered and stored at refrigerator until analyzed (Saei-dehkordi et *al*, 2013). The chemical composition of essential oil of thyme was investigated by the use of gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) (Appendix). Essential oils were used for determination of antifungal activities.

In vitro antifungal assay

Effect on Mycelial Growth

The antifungal activity of essential oil was tested using radial growth technique. Antifungal activity of essential oil against *F. oxysporum* was investigated by macro-broth method of dilution. The influence of NaCl upon essential oil against *Fusaruim oxsysporum* on the diameter growth was determined by growing the isolates in a PDA medium at five NaCl levels (0.3, 0.6, 1, 1.5 and 2%); control medium was not amended with salts. The different levels of NaCl were added to PDA medium immediately before it was poured into the Petri dishes (9.0 cm diameter). Then, 100 µl from essential oil was poured into sterile Petri plates. The essential oil was tested at the Minimum Inhibitory Concentration (MIC=1%) that resulted in a signicant decrease in inoculum viability (>90%). Mycelium growth inhibition was evaluated by placing 30µl of the inoculum containing 10^5spores/ml in the centre of a PDA agar plate of Petri dishes. Cultures were incubated at 25°C in the dark and the results were read after 24h and again after 108 hours. Colony diameters were measured at two perpendicular directions, and each treatment had four replications.

Effect on Sporulation

Conidia of *Fusarium oxysporum* were obtained from 2 week old PDA cultures incubated at 25°C in the dark. Culture plates were vortexed in a tube containing 10ml sterile distilled water and 0.05ml Tween 80. A sterile magnetic stir bar was placed on the agar and set stirring for 5 minutes to loosen the spores. The suspension enriched in spores was filtered through glass filter to eliminate mycelium. Finally the conidial concentration was determined using a Malassez cell and adjusted to 10^5 spores per ml.

Effect on the Germination of Conidia

To determine the influence of NaCl upon antifungal activity of essential oil on spore germination of *Fusarium oxysporum*, a drop containing 100 conidia was transferred on to water agar plates enriched with NaCl and OE. The plates were incubated at 25°C in the dark for 24 hours. Results were expressed as the percentage of germinated conidia. A conidium was considered as germinated if the germ tube length was at least twice the length of the conidium. The tests were performed in triplicate.

Statistical analysis

The results were expressed in the form of the mean ± SD (standard deviation). All parameters were measured in triplicates. The analysis of variance (ANOVA) was carried out with respect to each parameter measured (Mycelial Growth, Sporulation and Germination). Mean discrimination was performed applying the t test; statistically significant differences were determined at the probability level $p<0.05$ using STATBOX 6.0.4 Grimmersoft software.

Results and discussion

Analysis of the essential oil of Thymus sp by the GC/MS, the percentages and the retention time of the identified compound of this essential oil were summarized in table 1. According to the chromatographic analysis results of Thymus sp essential oil, seventeen compounds were identified. Among the mentioned phenolic compounds, thymol

was present in the largest amounts (76.69%) followed by ρ-cymene (9.89%), γ-Terpinene (1.92%); Caryophyllene oxide (1.69%); β-Linalool (1.51%) and β-Caryophyllen (1.32%).

After 24hours of incubation, the mycelial growth of *F.oxysporum* reached a diameter of 0.82mm in the control and was able to grow even at very high concentrations of NaCl, cultures diameter was 1.2 mm to 0.3%, 1.27 to 0.6%, 1.3 mm to 1% and 1.35 mm to 1.5% (Figure 1 A). Mycelial growth of *F. oxysporum* reached its optimum after 108h of incubation.

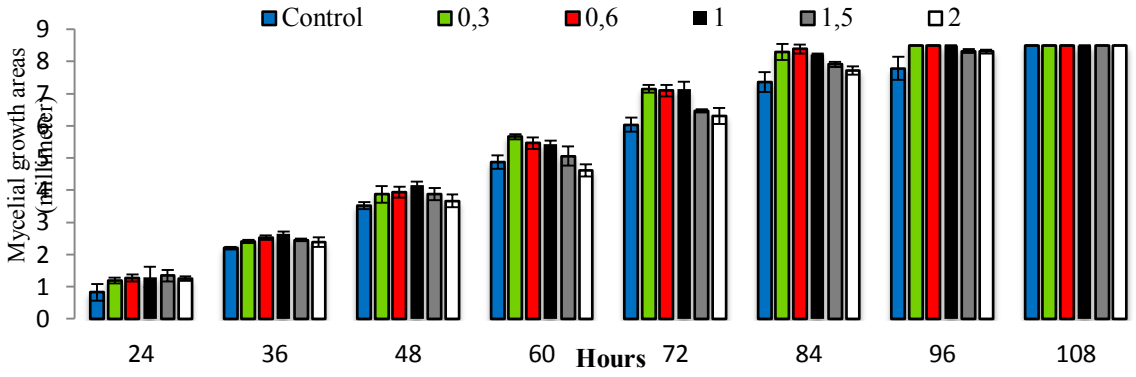
However, the mycelial growth of *F. oxysporum* reached its maximum at a concentration of 1.5%. On the contrary, the mycelial growth of *F. oxysporum* (1.2 mm) decreased to a concentration of 2% of NaCl (Fig 1). Further, in the presence of levels 0.3, 0.6 and 1%, of NaCl *F. oxysporum* also showed the fastest growth reaches complete colonization (8.5 cm) in 96 h by feeding the control (108 h).

The results of antifungal activity assays showed that the thyme essential oil tested at concentrations 100 $\mu l.l^{-1}$ inhibited complete the mycelium growth of *F.oxysporum* after 24h of incubation at 25C° compared to untreated colonies 0.82mm (Fig 1). This inhibition was significant ($P < 0.05$). According the figure 2, we note that there is an increase in mycelial growth after 24h. The EO reached the inhibition rate to 46% of *F.oxysporum* after being cultured for 36h. After 4 days (or 108h) of culture, the mycelium growth of the strain in the EO-treated group became larger, and inhibition rate declined (9%), which may be because the oil had evaporated.

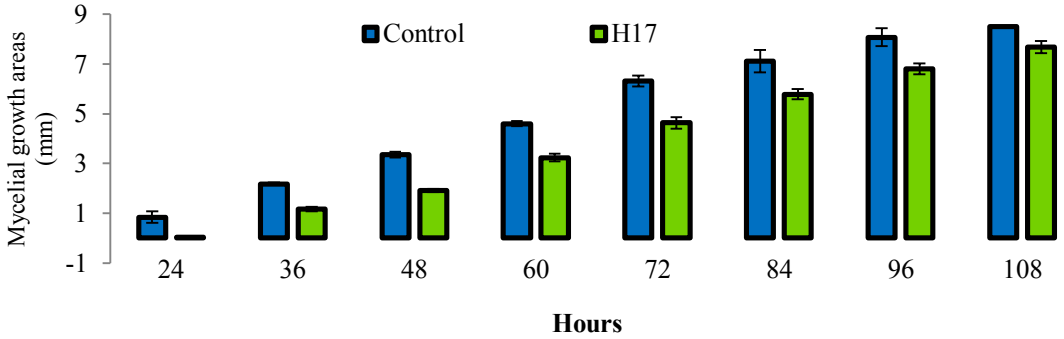
Table 1: Chemical constituents of the leaves Thymus sp essential oil extracted by hydrodistillation (HD).

NO	Compounds	Ri	Content (%)
1	Thujene	1024	0.71%
2	α-Pinène	1032	0.49%
3	cis-Sabinene hydrate	1066	0.46%
4	Camphene	1076	0.14%
5	β-Myrcene	1174	0.71%
6	α-Terpinene	1188	0.58%
7	β- Phelladrene	1218	0.37%
8	γ-Terpinene	1255	1.92%
9	ρ-Cymene	1280	9.89%
10	Carvacryl Acetate	1372	1.19%
11	β-Linalool	1536	1.51%
12	4-Terpineol	1607	0.65%
13	β-Caryophyllen	1612	1.32%
14	Borneol	1719	0.49%
15	Caryophyllene oxide	2018	1.69%
16	Thymol	2199	76.96%
17	Eugenol	2161	0.16%
Total identified (%)			**99.24**

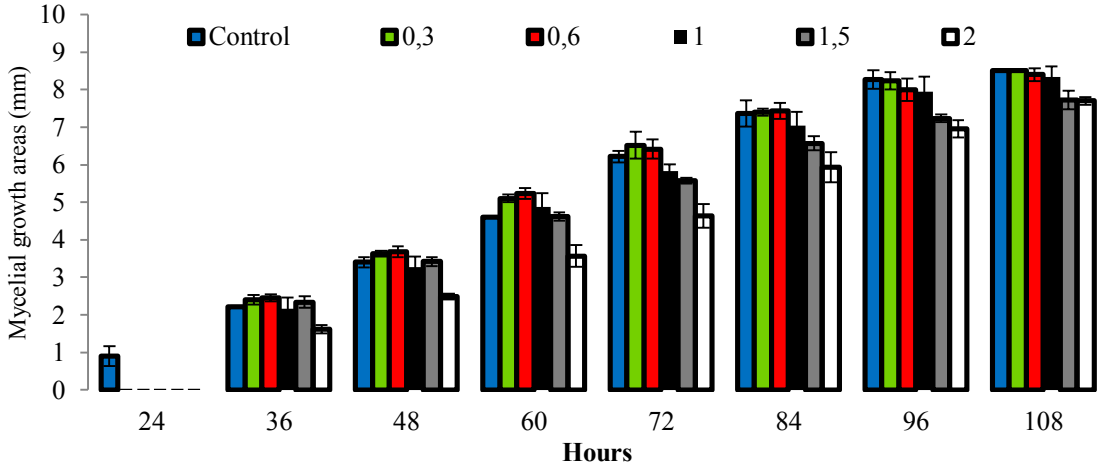
Note: Ri retention indice on HP-INNOWAX capillary column.


Control
0,3
0,6
1
1,5
2
Mycelial growth areas (millimeter)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
24
36
48
60
72
84
96
108
Hours

(a)


Control
H17
Mycelial growth areas (mm)
-1
1
3
5
7
9
24
36
48
60
72
84
96
108
Hours

(b)


Control
0,3
0,6
1
1,5
2
Mycelial growth areas (mm)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
24
36
48
60
72
84
96
108
Hours

(c)

Figure 1. Mycelial growth of *F.oxysporum* under salinity and in combination with oil essential measured at 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 and 108 hours; (a) Effect of different levels of NaCl on Mycelial growth; (b) Effect of OE on Mycelial growth. (c) Effect of different levels of NaCl and OE on Mycelial growth. The results are presented as means and standard deviation SD ±

Combined effects of salinity levels and essential oil were also examined on *Fusarium oxysporum.* Data in Fig 1 indicate that, application of sodium salt caused a significant decrease the growth inhibition at various levels tested compared to untreated salinity. However, after 36 hours of incubation, these observations indicate that salinity levels decrease the antifungal activity of EO. Compared to untreated salinity (1.17mm), the mycelium growth might 2.4, 2.45, 2.16, 2.33 and 1.61mm was obtained by the concentrations of NaCl 0.3, 0.6, 1, 1.5 and 2%, respectively.

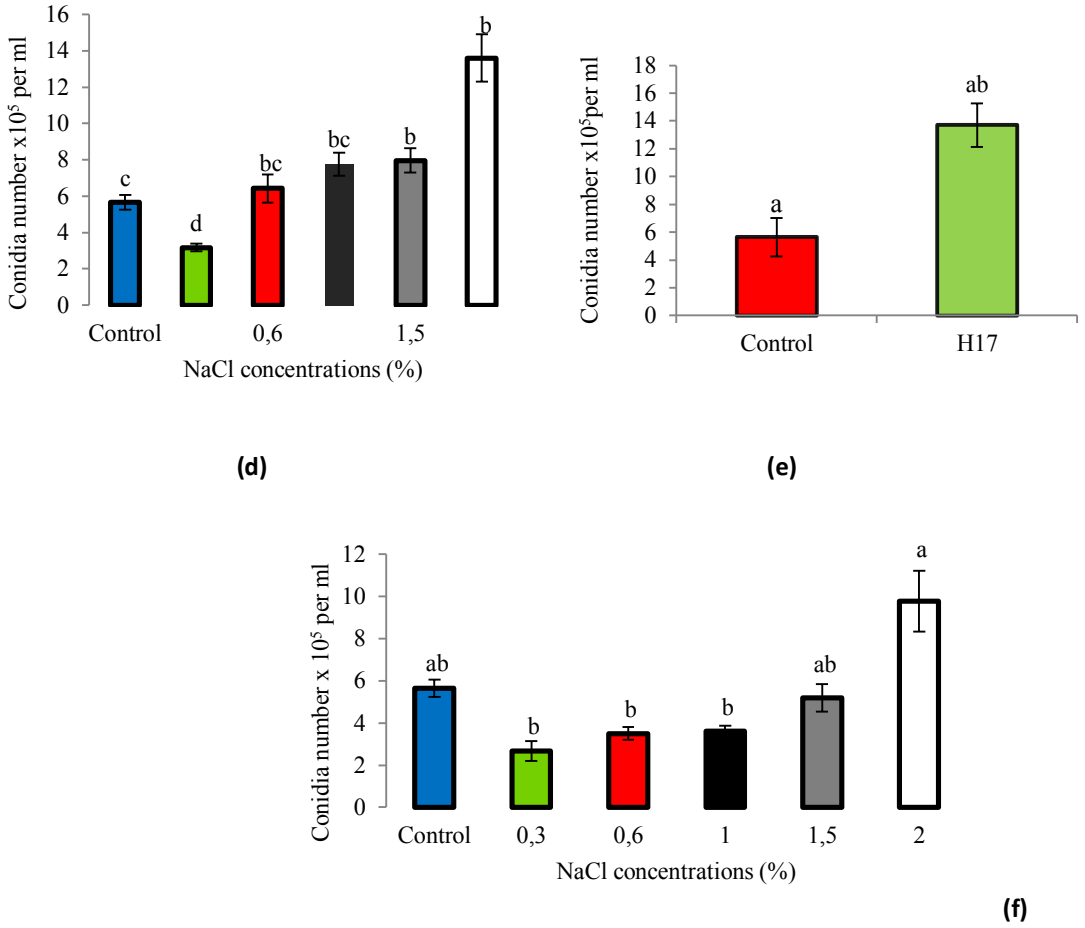


Figure 2. Production of conidia of *F.oxysporum* under salinity and in combination with oil essential measured at 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 and 108 hours;(d) Effect of different levels of NaCl on sporulation; (e) Effect of OE on sporulation. (f) Effect of different levels of NaCl and OE on sporulation. The results are presented as means and standard deviation SD ± with different letters.

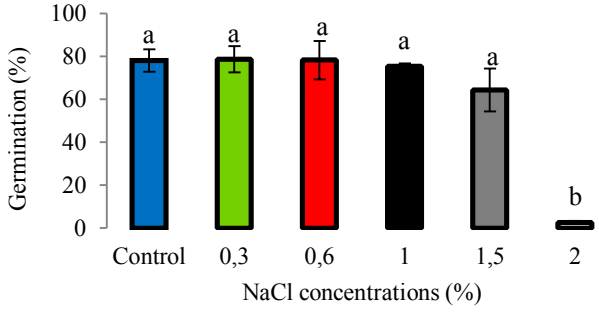
Data in Fig 2 indicate that application of sodium salt caused a significant increase in the production of conidiogenesis at various concentrations tested compared with control ($p < 0.001$). However, these observations indicate that the conidial production of this isolate might increase at high salinity. Sodium chloride is most favorable to the sporulation of *F. oxysporum*, especially at high concentrations of the culture medium. By adding 2% of NaCl to the culture medium, an increase in spore production by 13.6 10^5 spores/mL can be obtained compared with control 5.65 10^5 spores/mL.

The oil essential Thymus was evaluated for their phytotoxic activity against production of conidia (Fig.2). Although oil essential Thymus did not inhibiting conidia production of *F. oxysporum*. The average spore of *F. oxysporum* producing on unamended (control) PDA media plates was 5.65 10^5 spores/mL after 14 days of incubation at 25°C (Fig.2). Where colonies were grown on media amended with Thymus essential oil, production of conidia was increased in comparison with the unamended control treatment 13.7$10^5$ spores/mL. In this study, the essential oil caused significant differences ($P < 0.05$) on the production of conidia.

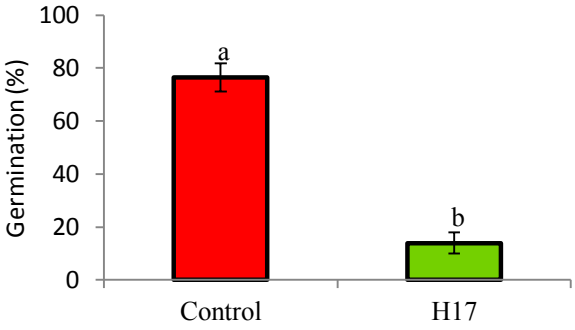
Combined effects of salinity levels and essential oil were also examined on sporulation after 14 days of incubation. Data in Fig 2 indicate that, combination of essential oil and sodium salt caused a significant decrease the spore production at various levels tested compared to salinity alone. However, this combination increase the antifungal activity of EO compared to oil alone (13.7$10^5$ spores/mL), the spore production might 2.66, 3. 5, 3.6, 5.2 and 9.76 spores/mL was obtained by the concentrations of NaCl 0.3, 0.6, 1, 1.5 and 2%, respectively

Effects of different levels of NaCl and OE on the spore germination of *F. oxysporum* are shown in Fig. 3. The germination of spores was affected by higher levels of NaCl. The higher inhibition (2.66%) on germination was observed at 2% of salinity. However, the lower levels of NaCl (0.3, 0.6 and 1%) were significantly not active against *F.oxysporum*.

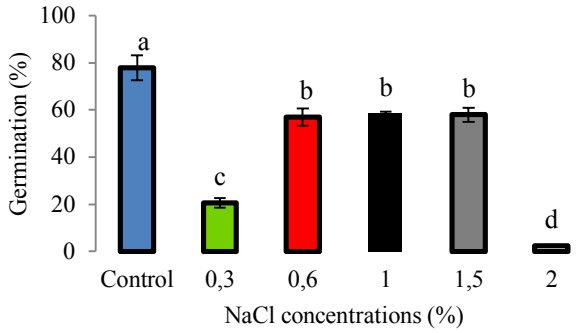
Thyme oil was found to be most effective in spore germination inhibition (86%). As seen from Fig3**,** combination of essential oil and sodium salt caused a significant decrease the antifungal activity of EO compared to oil alone (14%). The spore-germination might 20.66, 57, 58.66, and 58% was obtained by the concentrations of NaCl 0.3, 0.6, 1, and 1.5%, respectively.



(g)



(h)



(i)

Figure 3. Conidia germination of *F.oxysporum* under salinity and in combination with oil essential measured at 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 and 108 hours; (g) Effect of different levels of NaCl on spore germination; (h) Effect of OE on spore germination; (i) Effect of different levels of NaCl and OE on spore germination. The results are presented as means and standard deviation SD ± with different letter.

The phytopathogenic fungus, Fusarium is significant pathogens of wide variety of plants. Moreover, the use of synthetic pesticides for the control of Fusarium have now been discouraged due to undesirable effects on soil health, humans and non-targeted organisms in the environment (De Cal et *al*., 2009). In this regards, essential oils from plants, have become known as a suitable alternative to synthetic pesticides and food preservatives (Janatova et *al*., 2015), since these oils have demonstrated low toxicity to mammalian cells, minor environmental impact and good acceptance by consumers (Fonseca et *al*., 2015). Previous works showed that essential oils possess antifungal (Miroslava Císarová et *al*., 2016; Arici et *al*., 2013), antibacterial (Bakkali et *al*., 2008), antiviral (Chao et *al*., 2000), herbicidal (Angelini et *al*., 2003; Arminante et *al*., 2006), acaricidal (Coskun et *al*., 2008; Attia et *al*., 2012), and insecticidal properties (Govindarajan et *al*., 2015). Fungicidal activities of essential oils were well documented (Da Cruz Cabral et *al*., 2013). In fact, the efficacy of essential oils against the microorganisms mainly depend on the characteristics of their components (Perumal et *al*., 2016; Ibrahim et *al*., 2012) and influenced by many factors such as high temperature, low water activity, low nutrient conditions, and UV light for effective establishment and disease control. Several studies investigating control efficacy of essential oils against Fusarium sp. were reported (Sreenivasa et *al*., 2011; Xing et *al*., 2014). The current study describes essential oils efficacy against isolate of *F.oxysporum* under salinity conditions.

The results obtained by GC/MS analysis of the essential oil showed that the chemical composition of thyme extracts is characterised by its richness and its variety. The main components are thymol (76.96%), ρ-Cymene (9.89%) are the most abundant component in Thymus sp. A similar result was previously described by Kolsum Divband et *al* (2017) who have found that the chemical composition of *Thymus sp*. resulted in the identification of 32 compounds with a dominance of thymol (32.67%) and p-cymene (16.68%). Porte et *al* (2008) showed that the major components of the oil were thymol (44.7%) and p-cymene (18.6%). In addition, in agreement with our results, Mota et *al* (2012) and Burt (2004) showed that thyme oil consisted of 10%-64% thymol and 10%-56% p-cymene. In addition to the major compounds, minor compounds were identified, such as: γ-Terpinene (1.92%), Caryophyllene oxide (1.69%) and β-Linalool (18.05%). This composition confirms the antimicrobial action of this oil according to the literature (Burt, 2004; Guarda et *al*., 2011).

In our study, the results indicate that salinity (i) increases mycelium growth and conidia production, (ii) decreases conidia germination of *F.oxysporum,* (ii) sodium chloride tested in lower concentrations (0.3 and 0.6%**)** has been proved that it is an effective promoter for the rising of the percentage of germination. These results are congruent

with those obtained by Bouchibi et *al*.(1990), who found that soil salinity increased *Phytophthora root rot* of tomato. Similar supporting results have been re ported by others (Boumaaza et *al*., 2015a).

The results of antifungal activity assays showed that the oil reduced the conidia germination and mycelial growth of *F. oxysporum*. The results indicated that 10µl of undiluted pure oil had strong antifungal activity. In terms of effeteness; essential oil of Thymus sp showed high efficacy against conidia germination of *F. oxysporum*. High inhibiting of spore germination activity was also observed with the essential oils of Thymus sp 62.5%. However, the oil was significantly not active against the spore production. On the other hand, the results indicated that the addition of thyme essential oil increased the spore production; significant increase was only obtained at the level used (10µl).

The results obtained in this work demonstrated that essential oil of Thymus sp possess an activity fungicide products for the control *F. oxysporum*. It was shown that essential oils and their constituents have been different antimicrobial activities and thus can be good potential sources on the diversity and quantity molecules and/or fractions (Maree et *al*., 2014).

In the research carried out by Šegvić Klarić et *al*.(2007), amounts of free thyme oil between 1 and 5 mg/mL were necessary to inhibit the growth of filamentous fungi, whereas at the present study it was ten times more efficient. Zabka et *al*.(2009) reported mycelial growth inhibition of *Fusarium oxysporum* using Thymus sp essential oil. In a study by Kumar et *al*. (2008), colony growth of *F. oxysporum* was totally inhibited by Thymus sp essential oil. According to Klaric et *al*. (2007), p-cymene and thymol are the major compounds found in Thymus sp and have been found to show potent fungicidal and/or fungistatic activities against various phytopathogenic fungi such as Fusarium spp., Aspergillus spp., Cladosporium spp., Mucor spp. and Rhizopus spp. Thymol and p-cymene provided irreversible damage to cell wall, cytoplasm membrane and nuclear membrane of filamentous fungi (Rasooli & Owlia 2005). Researchers indicated that, essential oil enables to integrate into the lipids of the cell membrane, increasing permeability, occur as a result of loss of ions and reduction of membrane potential, collapse of the proton pump and depletion of the ATP pool, which eventually lead to leaking of intracellular constituents, coagulation of cell contents, lysis and cell death (Burt 2004; Turgis et *al*., 2012). Same result is obtained by Scollard et *al* (2016) showed that antimicrobial activity was due to disturbance of the permeability of the membrane and the release of some inhibition enzymes such as ATPase, histidine decarboxylase, amylase from the cellular content. Since carvacrol and thymol disrupted the ergosterol biosynthesis and membrane integrity (Ahmad et *al*., 2011; Chavan & Tupe 2014).

In the study of Kolsum Divband et *al*. (2017) evaluation of Thymus sp essential oil against fungi has shown a decrease from 4.04 to 6.27 fold of Tri4 gene expression by the use of qRT-PCR assay.

To date, there are limited studies on the using of essential oils assays in mycology under stress conditions**.** In the bibliography, no study was carried on the antifungal activity of Thymus sp under salinity stress.

In the combination NaCl with oil essential, the largest increase in mycelia growth was found when NaCl was combined with oil essential, and this combination frequently resulted in the greatest increase in spore germination and the largest decrease in spore production compared to NaCl/or oil essential alone. The results of this study indicate that salinity decrease the efficacy of essential oils against the pathogen.

The environment and its changes can significantly influence the physiological and biochemical processes in plants, affect the qualitative and quantitative variability in the cultivation, and finally modify the metabolism and essential oil biosynthesis (Behn et *al*., 2010; Dolzhenko et *al*., 2010). Essential oil content and compositions are also affected by environmental factors such as salinity (Said-Al Ahl, & Hussein 2010), water stress (Azizi et *al*., 2009; Dudai, 2006) and soil pollution (Stancheva et *al*., 2014). In this context, soil salinity alters EOs biosynthesis and composition in

several species of industrial interest (Tounekti & Khemira 2015). Zhe Li et *al*, (2015) showed that the 150-mM NaCl stress made distinct decrease in the essential oil yield and content in wild-type peppermint seedlings.

In contrast, the impact of salinity on the EO yield and composition was studied to an early decrease in the assimilation rate (A), stomatal conductance (gs), and the transpiration rate (E), as it was seen in several other species (Tounekti et *al*., 2011). Neffati and Marzouk (2008) reported a decrease in the EO yield of coriander (*Coriandrum sativum* L.) due to salinity, whereas (Ben Taarit et *al*., 2010) observed an increase in that of sage (*S. officinalis* L.). Salinity can have similar aspects to water stress in plant growth, For example, according (Munns, 2002), salinity reduces the ability of plants to take up water, and this quickly causes reductions in growth rate, along with a suite of metabolic changes identical to those caused by water stress. The literature has affirmed that plant responses to water stress by decreased in the density of glandular trichomes on both surfaces of leaves and, as a result, decreased the essential oil content(Yadav et *al*., 2014).

Conclusion

Application of sodium salt caused a significant increase in the production of conidiogenesis and mycelial growth. Conidial germination was slightly inhibited by sodium chloride. Thymus sp presented high *in vitro* activity, in controlling the conidia germination and mycelial growth of *F. oxysporum*. However, the sodium salt decreases the efficacy of essential oil of Thymus sp against the pathogen.

Acknowledgments

This research was funded in part by the phytopathology laboratory of INAT (The National Agronomic Institute of Tunisia). The authors wish to express their sincere thanks to the institute for financial assistance. We are grateful to Bouzidi N for his valuable assistance during the preparation of the manuscript.

Références

Abdulhmid A. Giweli Ana M. Džamić Marina D. Soković Mihailo S. Ristić Petar D. Marin. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of ***Thymus algeriensis*** wild-growing in Libya. Centr Eur J Biol, 8, Issue 5, pp 504-511. doi: 10.2478/s11535-013-0150-0

Adrar N, Oukil N Bedjou F. (2015). Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. Industrial Crops and Products, 88, 112-119. doi 10.1016/j.indcrop.2015.12.007.

Ahmad A, Khan A, Akhtar F, Yousuf S, Xess I, Khan LA. (2011). Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against Candida. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 30:41-50. doi: 10.1007/s10096-010-1050-8

Al-Hatmi AM, Meis JF, de Hoog GS. (2016). Fusarium: molecular diversity and intrinsic drug resistance. PLoS Pathog. 12:e1005464. doi:10.1371/journal.ppat.1005464. eCollection.

Angelini LG, Carpanese G, Cioni PL, Morelli I, Macchia M, Flamini G. (2003). Essential oils from Mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. J Agric Food Chem, 51:6158–6164. doi: 10.1021/jf0210728

Arici, S. E., Bozat, G., and Akbulut, I. (2013). Investigation of potential biological control of *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* and *F. oxysporum f. sp.lycopersici* by essential oils, plant extract and chemical elicitors in vitro, Pak. J.Bot, 45, 2119e2124.

Arminante F, De Falco E, De Feo V, De Martino L,Mancini E, Quaranta E. (2006). Allelopathic activity of essential oils from Mediterranean Labiatae. Acta Hortic, 723:347–356. doi: 10.17660/ActaHortic.2006.723.47

Attia S, Grissa KL, Ghrabi ZG,Mailleux AC, Lognay G, Hance T. (2012). Acaricidal activity of 31 essential oils extracted from plants collected in Tunisia. J Essent Oil Res, 24:279–288. doi: 10.1080/10412905.2012.676777

Azizi, A., Yan, F., Honermeier, B. (2009). Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. Industrial Crops Prod, 29, 554e561. doi: 10.1016/j.indcrop.2008.11.001

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils a review. Food Chem Toxicol, 46:446–475.

Ballester-Costa C, Sendra E, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA, Viuda-Martos M. (2017). Assessment of antioxidant and antibacterial properties on meat homogenates of essential oils obtained from four thymus species achieved from organic growth. Foods. 28;6(8). pii: E59. doi: 10.3390/foods6080059.

Behn H, Albert A, Marx F, Noga G, Ulbrich A. (2010). Ultraviolet-B and photosynthetically active radiation interactively affect yield and pattern of monoterpenes in leaves of peppermint (*Mentha piperita* L.). J Agr Food Chem, 58:7361–7367. doi: 10.1021/jf9046072

Ben Taarit M, Msaada K, Hosni K, Marzouk B. (2010). Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves under NaCl stress. Food Chem, 9:9516. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.07.055

Blaker N S and J. D. MacDonald. (1986). The role of salinity in the development of Phytophthora Root Rot of citrus, Phytopathology, vol. 76, no. 10, pp. 970–975. doi: 10.1094/Phyto-76-970.

Bouchibi N A.H.C. van Bruggen, and J.D.MacDonald. (1990). Effect of ion concentration and sodium: calcium ratio of a nutrient solution on Phytophthora root rot of tomato and zoospore motility and viability of *Phytophthora parasitica*, Phytopathology, vol. 80, no. 12, pp. 1323–1329.

Boumaaza B, Benkhelifa M and Belkhoudja M. (2015a). Effects of Two Salts Compounds on Mycelial Growth, Sporulation, and Spore Germination of Six Isolates of *Botrytis cinerea* in the Western North of Algeria. International Journal of Microbiology, Volume 2015, Article ID 572626, 8 pages.http://dx.doi.org/10.1155/2015/572626.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3), 223–253. http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.

Chao SC, Young DG, Oberg CJ. (2000). Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. J Essent Oil Res, 12:639–649. doi: 10.1080/10412905.2000.9712177

Chavan PS, Tupe SG. (2014). Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. Food Control, 46:115–120. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.05.007

Coskun S, Girisgin O, Kürkcüoglu M, Malyer H, Girisgin AO, Kırımer N, Baser KH. (2008). Acaricidal efficacy of *Origanum onites* L.essential oil against *Rhipicephalus turanicus* (Ixodidae). Parasitol Res, 103:259–261.doi: 10.1007/s00436-008-0956-x

Da Cruz Cabral L, Fernández Pinto V, Patriarca A. (2013). Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. Int J Food Microbiol, 166:1–14. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.026

De Cal, A., Sztejnberg, A., Sabuquillo, P., and Melgarejo, P. (2009). Management Fusarium wilt on melon and watermelon by *Penicillium oxalicum*, Biol. Control, 51, 480e486. doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.08.011

Dolzhenko Y, Bertea CM, Occhipinti A, Bossi S,Maffei ME. (2010). UV- B modulates the interplay between terpenoids and flavonoids in peppermint (*Mentha piperita* L.). J Photochem Photobiol B Biol, 100:67–75. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2010.05.003

Dudai, N. (2006). Optimization and improvement of phenolic monoterpenes production in oregano (Origanum spp.), II International Symposium on Natural Preservatives in Food, Feed, and Cosmetics, 778, pp. 15e28. doi: 10.17660/ActaHortic.2008.778.1

Enciso-Rodríguez FE, Gonz LEZC, Rodr guez EA, PEZ L. (2013). Identification of immunity related genes to study the *Physalis peruviana-Fusarium oxysporum* pathosystem. PloS One, 8: e68500. doi:10.1371/journal.pone.0068500

European pharmacopoeia. 5 ed., Strasbourg: Council of Europe, E.P.C 2004, 217-218.

FAOSTAT. (2015). Statistical Database of the Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Fonseca AOS, Pereira DIB, Botton SA, Po ¨tter L, Sallis ESV, Ju ´nior SFV, Filho FSM, Zambrano CG,Maroneze BP, Valente JSS, Baptista CT, Braga CQ, Dal Ben V, Meireles MCA. (2015). Treatment of experimental pythiosis with essential oils of *Origanum vulgare* and *Mentha piperita* singly, in association and in combination with immunotherapy. Vet Microbiol, 5:265–9. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.05.023

Govindarajan M, Sivakumar R, Rajeswari M, Yogalakshmi K. (2012). Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. Parasitol Res, 110:2023–2032. doi: 10.1007/s00436-011-2731-7

Guarda, A., Rubilar, J. F., Miltz, J., & Galotto, M. J. (2011). The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *International Journal of Food Microbiology*, *146*(2), 144–150. http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.011.

Hernández-Hernández, E., Regalado-González, C., Vázquez-Landaverde, P., Guerrero Legarreta, I., & García-Almendárez, B. E. (2014). Microencapsulation, chemical characterization, and antimicrobial activity of Mexican (*Lippia graveolens* H.B.K.) and European (*Origanum vulgare* L.) oregano essential oils. Scientific World Journal, 641814. doi:10.1155/2014/641814

Ibrahim L, Karaky M, Ayoub P, El Ajouz N, Ibrahim S. (2012). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil and its components from *Lebanese Origanum syriacum* L. J Essential Oil Res, 24(4):339–345. doi: 10.1080/10412905.2012.692900

Inami K, Kashiwa T, Kawabe M, Onokubo-Okabe A, Ishikawa N, Pe ´rez ER, Hozumi T, Caballero LA, de Baldarrago FC, Roco MJ, Madadi KA, Peever TL, Teraoka T, Kodama M, Arie T. (2014). The Tomato Wilt Fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici shares Common Ancestors with Nonpathogenic *F. oxysporum* isolated from wild tomatoes in the Peruvian Andes. Microbes and Environments. 29(2):200–210. doi 10.1264/jsme2.ME13184.

Janatova, A.; Bernardos, A.; Smid, J.; Frankova, A.; Lhotka, M.; Kourimsk a, L.; Pulkrabek, J.; Kloucek, P. (2015). Long-term antifungal activity of volatile essential oil components released from Mesoporous silica materials. Ind. Crops Prod, 67, 216-220. doi:10.1016/j.indcrop.2015.01.019

Jesus, F., Ferreiro, L., Bizzi, K., Loreto, É., Pilotto,M., Ludwig, A., Santurio, J. (2015). In vitro activity of carvacrol and thymol combined with antifungals or antibacterials against *Pythium insidiosum*. Journal de Mycologie Médicale, 25(2), e89–e93. doi:10.1016/j.mycmed.2014.10.023

Jie WG, Bai L, Yu WJ, Cai BY. (2015). Analysis of interspecific relationships between *Funneliformis mosseae* and *Fusarium oxysporum* in the continuous cropping of soybean rhizosphere soil during the branching period. Biocontrol Sci Techn, 25: 1036–1051. doi:10.1080/09583157.2015.1028891

Klaric M.S., I. Kosalec, J. Mastelic, E. Pieckova, S. Pepeljnak. (2007). Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings, Lett. Appl. Microbiol, 44 (1) 36e42. doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.02032.x

Kolsum D , Hojjatollah S , Ali Reza K. (2017). Down-regulatory effect of *Thymus vulgaris* L. on growth and Tri4 gene expression in *Fusarium oxysporum* strains. Microbial Pathogenesis, 104 1-5. doi: 10.1016/j.micpath.2017.01.011

Kordali S, Cakir A, Ozer H, Cakmakci R, Kesdek M, Mete E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish Origanum acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. Bioresour Technol. 99:8788–8795. doi:10.1016/j.biortech.2008.04.048

Kumar A., R. Shukla, P. Singh, C.S. Prasad, N.K. Dubey. (2008). Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungi infestation of food commodities, Innov. Food Sci. Emerg. Technol, 9 (4) 575 e 580. doi: 10.1016/j.ifset.2007.12.005

Maree, J; Kamatou, G; Gibbons, S; Viljoen, A.; Van Vuuren, S. (2014). The application of GC MS combined with chemometrics for the identification of antimicrobial compounds from selected commercial essential oils. Chemom. Intell. Lab. Syst, 130, 172-181. doi: 10.1016/j.chemolab.2013.11.004

McGovern R.J. (2015). Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*, Crop. Prot. 73 78–92. ***doi***.org/ 10.1007/s11104-011-1088-0

Miroslava Císarová, Dana Tančinová, Juraj Medo & Miroslava Kačániová. (2016). The in vitro effect of selected essential oils on the growth and mycotoxin production of Aspergillus species, Journal of Environmental Science and Health, Part B, doi, 10.1080/03601234.2016.1191887.

Mollaei M, Izadi H, Dashti H, Majidi A, Ranjbar KR.. (2011). Bioactivity of essential oil from *Satureja hortensis* (Laminaceae) against three stored-product insect species. Afr J Biotechnol. 10:6620–6627.doi:10.5897/AJB11.469

Mota K.S., F.O. Pereira,W.A. Oliveira, I.O. Lima, E.O. Lima. (2012). Antifungal activity of *Thymus vulgaris* L. essential oil and its constituent phytochemicals against *Rhizopus oryzae*: interaction with ergosterol, Molecules. 17 (12) 14418-14433. doi:10.3390/molecules171214418

Munns R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25(2) 239–250. doi: 10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x

Nachmias, A., Z. Kaufman, L. Livescu, L. Tsror, A. Meiri and P.D.S. Caligari. (1993). Effects of salinity and its interactions with disease incidence on potatoes grown in hot climates. Phytoparasitica, 21: 245-255.

Neffati, M., & Marzouk, B. (2008). Erratum to "Changes in essential oil and fatty acid composition in coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves under saline conditions. Industrial Crops and Products, 28, 137–142. doi: 10.1016/j.indcrop.2008.08.004

Perumal AB, Sellamuthu PS, Nambiar RB, Sadiku ER. (2016). Antifungal activity of five different essential oils in vapour phase for the control of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Lasiodiplodia theobromae* in vitro and on mango. Int J Food Sci Technol, 51(2):411–418. doi: 10.1111/ijfs.12991

Porte A., R.L.O. Godoy. (2008) Chemical composition of *Thymus vulgaris* L. (thyme) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil), J. Serb. Chem. Soc, 73 (3) 307-310. doi: 10.2298/JSC0803307P

Rasooli I., P. Owlia. (2005). Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production, Phytochemistry, 66 (24) 2851e2856. doi: 10.1016/j.phytochem.2005.09.029

Reddy Bhaskara, M.V., Angers, P., Gosselin, A., Arul, J. (1998). Characterization and use of essential oil from *Thymus sp* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. Phytochemistry, 42, 1515–1520. doi: 10.1016/s0031-9422(97)00795-4

Regragui, A. and H. Lahlou. (2005). Effect of salinity on in vitro *Trichoderma harzianum* antagonism against *Verticillium dahliae*. Pak. J. Biol. Sci, 8: 872-876.

Rota, G. C., Herrera, A., Martinez, R. M., Sotomayor, J. A., & Jordàn, M. J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, Thymus zygis and *Thymus hyemalis* essential oils. Food Control, 19, 681–687. doi: 10.1016/j.foodcont.2007.07.007

Roubtsova, T. V., and Bostock, R. M. (2009). Episodic abiotic stress as a potential contributing factor to onset and severity of disease caused by *Phytophthora ramorum* in Rhododendron and Viburnum. Plant Dis, 93:912-918. doi:10.1094/PDIS-93-9-0912

Saei-dehkordi, S., Khalighi-sigaroodi, F., Pirali-kheirabadi, K., Saei-dehkordi, S., Alimardani-naghani, F., Fallah, A.A. (2013). Chemical composition, antioxidative capacity and antimicrobial activity of Zeravschaina membranacea (boiss.) Pimenov essential oil. J. Food Safety, 34: 87-94. doi: 10.1111/jfs.12100

Said-Al Ahl, H., Hussein, M. (2010). Effect of water stress and potassium humate on the productivity of oregano plant using saline and fresh water irrigation. Ozean J. Appl. Sci, 3:125-141.

Salamci, E., Kordali, S., Kotan, R., Cakir, A. & Kaya, Y. (2007). Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum*. Biochem. Syst. Ecol, 35, 569–581. doi:10.1016/j.bse.2007.03.012

Sanogo, S. (2004). Response of chile pepper to *Phytophthora capsici* in relation to soil salinity. Plant Dis, 88: 205-209.doi:10.1094/PDIS.2004.88.2.205.

Scherm B., Balmas V., Spanu F., Pain G., Delogu G., Pasquali M., Migheli Q. (2013). *Fusarium culmorum*: casual agent of foot and root rot and head blight on wheat, Mol. Plant Pathol. 14 323–341.doi:10.1111/mpp.12011

Scollard J, McManamon O and Schmalenberger A. (2016). Inhibition of Listeria monocytogenes growth on fresh-cut produce with thyme essential oil and essential oil compound verbenone. Postharvest Biol Tec, 120: 61-68. doi: 10.1016/j.postharvbio.2016.05.005

Šegvić Klarić, M., Kosalec, I., Mastelić, J., Piecková, E., & Pepeljnak, S. (2007). Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. Letters in Applied Microbiology, 44(1), 36–42. http://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.02032.x

Silva, P. R. (2016). Development of a thematic collection of Musa spp. Accessions using SCAR markers for preventive breeding against *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* tropical race 4. Genet. Mol., Res. 15, 15017765. doi:10.4238/gmr.15017765

Soylu EM,Kurt S, Soylu S. (2010). In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. Int J FoodMicrobiol, 143(3):183–189. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.08.015

Sreenivasa MY, Dass RS, Raj APC, Prasad MNN, Achar PN, Janardhana GR. (2011). Assessment of the growth inhibiting effect of some plant essential oils on different Fusarium species isolated from sorghum and maize grains. J Plant Dis Prot, 118:208–213. doi: 10.1007/BF03356405

Stancheva, I., Geneva, M., Markovska, Y., Tzvetkova, N., Mitova, I., Todorova, M., Petrov, P. (2014). A comparative study on plant morphology, gas exchange pa- rameters, and antioxidant response of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. grown on industrially polluted soil. Turkish J. Biol, 38, 89e102. doi.org/10.3906/biy-1304-94

Swiecki, T.J. and J.D. MacDonald. (1988). Histology of chrysanthemum roots exposed to salinity stress and *Phytophthora cryptogea*. Can. J. Bot, 66: 280-288. doi: 10.1139/b88-046.

Thompson J.D., Chalchat J.C., Michet A., Linhart Y.B., Ehlers B. (2003). Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. Journal of Chemical Ecology, Vol. 29 (4): 858-880.

Tian J, Ban X, Zeng H, Huang B, He J, Wang Y. (2011). In vitro and in vivo activity of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L) against fungal spoilage of cherry tomatoes. Food Control, 22(12): 1992–1999. doi: 10.1016/j.foodcont.2011.05.018

Tounekti and Khemira. (2015). NaCl stress-induced changes in the essential oil quality and abietane diterpene yield and composition in common sage. J Intercult Ethnopharmacol, Vol 4 Issue 3. doi:10.5455/jice.20150405064135.

Tounekti T, Vadel AM, Ennajeh M, Khemira H, Munné-Bosch S. (2011). Ionic interactions and salinity affect monoterpene and phenolic diterpene composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis*). J Plant Nutr Soil Sci,174:504-14. doi: 10.1002/jpln.201000213

Triky-Dotan, S.,Yermiyahu, U., Katan, J., and Gamliel, A. (2005). Development of crown and root rot disease of tomato under irrigation with saline water. Phytopathology, 95:1438 1444. doi:10.1094/PHYTO-95-1438

Turco, E., D. Naldini and A. Ragazzi. (2002). Disease incidence and vessel anatomy in cotton plants infected with *Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum* under salinity stress. J. Plant Dis. Protect, 109: 15-24.

Turgis, M., Vu, K.D., Dupont, C., Lacroix, M. (2012). Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria. Food Res. Int, 48, 696–702. doi: 10.1016/j.foodres.2012.06.016

Wolny-KoladkaK. A. (2015). The prevalence of selected genes involved in the biosynthesis of trichothecenes assessed with the specific PCR test in Fusarium spp. Isolated from cereals in southern Poland, J. Environ. Sci. Health B 50 361–367.doi: 10.1080/03601234.2015.1000183

Xing F, Hua H, Selvaraj JN, Zhao Y, Zhou L, Liu X, Liu Y. (2014). Growth inhibition and morphological alterations of *Fusarium verticillioides* by cinnamon oil and cinnamaldehyde. Food Control, 46:343–350. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.04.037

Yadav, R.K., Sangwan, R.S., Sabir, F., Srivastava, A.K., Sangwan, N.S. (2014). Effect of prolonged water stress on specialized secondary metabolites, peltate glandular trichomes, and pathway gene expression in *Artemisia annua* L. Plant Physiology Biochem, 74, 70e83. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.10.023

Zabka M, Pavela R, Slezakova L. (2009). Antifungal effect of *Pimenta dioica* essential oil against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. Ind Crops Prod, 30:250–253. doi: 10.1016/j.indcrop.2009.04.002

Zhe L, Wenwen W, Guilong L, Kai G, Paul H, Quan C, Zhongjuan Z, Yan W, Jishun L Hetong Y. (2015). MAPK-mediated regulation of growth and essential oil composition in a salt-tolerant peppermint (*Mentha piperita* L.) under NaCl stress. Protoplasma. Springer Verlag Wien, doi 10.1007/s00709-015-0915-1.

Contribution à l'étude des facteurs influençant la réussite de l'Insémination Artificielle Bovine dans la Willaya de Mascara

Zouaoui Khadidja[1], Soltani Fatiha[2], Halbouche Miloud[2], Homrani Abdelkader[1]

[1]Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie
[2]Laboratoire de Physiologie Animale Appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie
khzouaoui93@gmail.com

Résumé

L'Insémination Artificielle est la biotechnologie la plus largement utilisée dans le monde, considérée comme l'un des outils de diffusion du matériel génétique performant, elle est appliquée principalement pour assurer une amélioration génétique rapide et **sûre** des animaux domestiques. Ce travail réalisé au niveau de 6 communes dans la wilaya de Mascara, nous a permis d'évaluer les performances de reproduction des cheptels par l'évaluation de la technicité d'insémination et l'évaluation des conditions d'élevage. L'étude a permis de classer les exploitations selon le taux de réussite de l'Insémination Artificielle en 3 cas de figure taux d'échec important, taux de réussite est considéré comme satisfaisant et taux de réussite égale à 100%. La réussite de l'Insémination Artificielle exige de l'éleveur et de l'inséminateur l'application d'un savoir faire tant sur le plan technique que de la gestion des troupeaux, D'après l'enquête mené sur les facteurs limitant la réussite d'IA, ces derniers sont classés principalement en :

- Facteurs liées à l'éleveur l'erreur de détection des chaleurs, une mauvaise alimentation.

- Facteurs liées à l'animal l'état corporel et les conditions de vêlage précèdent.

- Facteurs liées à l'inséminateur mauvais moment d'intervention, la mauvaise conservation et décongélation des semences.

Mais le plus important serait de bien détecter les chaleurs de son troupeau et de distribuer une ration équilibrée pour éviter les problèmes menant vers les échecs de l'Insémination Artificielle.

Mots clés : bovin, Insémination Artificielle, éleveur, fertilité

1. Introduction

La vache doit être cyclée, exprimer des chaleurs, être détectée, inséminée au bon moment, pour produire un ovocyte fécondable, l'utérus doit pouvoir accueillir l'embryon, lui permettre de s'implanter et de survivre durant toute la gestation (DISENHAUS *et al.,* 2005). Afin de réaliser cet objectif, les conditions de reproduction doivent être maitrisées.

Cette étude s'inscrit dans la perspective de la reproduction qui s'impose de produire un veau par vache par année. Etant donné qu'il est impossible de traiter tous les facteurs liés à la reproduction de façon totale, on étudiera les paramètres qui sont directement liés à l'Insémination Artificielle. Le but du présent travail consiste à réunir les informations concernant cette technique et d'étudier les facteurs influençant sa réussite, à savoir

- ✓ La détection et la synchronisation des chaleurs
- ✓ La maitrise des signes des chaleurs
- ✓ Technicité de l'IA

2. Matériel et méthodes

2 .1. Matériel

L'étude s'est déroulée au nord de la willaya de Mascara dans les communes de Alaimia; Bouhenni ; Chorfa ; Mohammadia ; Oggaz; Sig. Il s'agit d'un effectif de 114 femelles, de différents âges, et de différentes races, réparties dans 10 exploitations. Ces femelles ont au moins mis bas une fois. Sur le plan sanitaire, elles étaient indemnes de toutes les maladies contagieuses.

2.1.1. Matériel d'insémination

Les outils utilisés dans l'IA sont les suivants

1-Un pistolet d'insémination : d'une longueur de 40 à 45 cm et de 5 à 6 mm de diamètre comportant un corps externe et un mandrin interne .Il se complète d'une gaine externe en plastique fixée au pistolet au moyen d'une petite rondelle.

2-Une bombonne d'azote : contenant de l'azote liquide à -196°C qui sert à la conservation des paillettes.

3- Deux types du paillette : qui se différencient par leurs calibre ; l'une de 0,25 ml et l'autre de 0,5 ml.

4-Une caisse d'insémination : contenant le matériel nécessaire.

5-Une chemise sanitaire : qui sert d'isolant du pistolet pour éviter les contaminations du tractus génital profond.

6-Un thermos de décongélation des paillettes.

7-Un Thermomètre : servant au contrôle de la température.

8-Une paire de ciseaux : pour couper l'extrémité de la paillette.

9-Un papier hygiénique : utilisé pour le nettoyage de la vulve et du matériel.

10-Des gants.

2.2. Méthodes

2.2.1. Méthode de synchronisation et détection des chaleurs

2.2.1.1. Synchronisation des chaleurs

L'inséminateur a utilisé des programmes de synchronisation des chaleurs pour parer au problème de détection des chaleurs. Les méthodes utilisées sont PRID® (spirales) et GPG.

1-Méthode du PRID®

Avant le dépôt du dispositif ; une désinfection de la vulve et de la queue est effectuée à l'aide d'une solution désinfectante.

La spirale vaginale est introduite à l'aide d'un applicateur tout en tirant la ficelle de la spirale à l'extérieur.

La spirale vaginale contenant 1.55 g de la progestérone est associée à une capsule de

10 mg de benzoate d'œstradiol.

Ce moyen est mis en place pendant 12 jours ; avec une injection en intramusculaire de

2 ml de PGF2α 2 jours avant le retrait. L'insémination est effectuée 56 heures après le retrait.

2-Méthode du GPG

Elle est basée sur 3 injections en intramusculaire, deux injections de 100 µg de GnRH à intervalle de 9 jours et une injection de 35 mg de PGF2α dans le 7ème jour. L'insémination est effectuée 24 heures après la 2ème injection de GnRH.

2.2.1.2. Détection des chaleurs

La méthode de détection des chaleurs consiste à l'observation visuelle du troupeau; entre 15 à 30 min avec une fréquence de 2 à 3 fois par jour au moment de la traite en général.

Le personnel se base sur le chevauchement et l'immobilisation de la vache, en cas de stabulation entravée ; l'écoulement vulvaire est considéré comme un indicateur des chaleurs.

2.2.2. Méthode de l'Insémination Artificielle

2.2.2.1. Décongélation de la semence

Dans les conditions pratiques, le vétérinaire s'attachera à minimiser le temps entre la décongélation et le dépôt de la semence dans l'utérus un bain-marie à 35-37°C est utilisé comme milieu de décongélation afin d'éviter l'altération des cellules spermatiques.

La semence doit être décongelée en moins de 30 secondes et utilisée aussi vite que possible.

2.2.2.2. Technique d'insémination

1-Introduction du bras dans le rectum

L'inséminateur introduit la main gauche avec les doigts en fuseau, puis avec des légers mouvements de rotation. Il nettoie le rectum de ses excréments pour localiser et maintenir le col de l'utérus.

Le vétérinaire veillera à effectuer un nettoyage en douceur pour ne pas stresser l'animal et provoquer des contractions ou des efforts rendant l'acte difficile.

2-Introduction du pistolet d'insémination

Quand l'animal est bien contenu et que sa vulve est propre. L'espacement de la vulve est nécessaire pour faciliter l'introduction de l'instrument de manière hygiénique, les lèvres sont maintenues écartées tant que l'instrument n'est pas complètement introduit.

L'introduction se fait à un angle de 45° par rapport au plancher du bassin. L'angle d'introduction dans le col de l'utérus doit être respecté pour éviter le méat urinaire.

Le pistolet est glissé doucement le long du plafond vaginal en direction du col.

3-Technique d'insémination

Après les premières palpations destinées à s'orienter, l'inséminateur doit pousser le col de l'utérus en avant afin d'étirer la membrane vaginale ; et éliminer les plis dans lesquels la pipette pourrait se prendre.

Il tient alors le col par le milieu ou par le tiers postérieur, et le soulève légèrement en le tenant bien en main au niveau de l'anneau médian, tandis que le petit doigt soulève et maintient l'ouverture postérieure du col. Ceci, combiné avec le bord de la main, forme un entonnoir autour de l'entrée du col par lequel passera le pistolet d'insémination.

Le col doit être habilement manipulé de gauche à droite et de haut en bas pour venir se placer

autour du pistolet.

4- Dépôt de la semence

Une fois l'endroit exact de l'insémination est repéré dans d'utérus, la semence est expulsée hors du pistolet en 6 à 7 secondes.

Après avoir inséminé la vache ; le diagnostic de gestation se fait principalement par palpation transrectale .Lequel offre la possibilité de confirmer ou non un état de gestation, d'en déterminer le stade, de vérifier la viabilité fœtale, de confirmer la topographie normale de l'utérus et de diagnostiquer diverses pathologies de gestation. (HANZEN, 2003).

La palpation transrectale se fait en pratique à 3 mois après l'IA ; puis le vétérinaire inséminateur doit faire un certificat de gestation afin de l'envoyer au CNIAAG.

3. Résultats

Tableau 1 : Taux de réussite de l'IA (année 2016)

Exploitation	Nombre de vache	Taux de réussite	Taux d'échec
E01	8	37,5%	62,5%
E02	9	77,77%	22,23%
E03	10	40%	60%
E04	20	50%	50%
E05	13	53%	47%
E06	11	81,81%	18,19%
E07	6	16,66%	83,34%
E08	5	100%	00%
E09	25	48%	52%
E10	7	28,57%	71,43%

4. Discussion

Au vu des résultats de l'enquête menée au niveau de l'ensemble des exploitations, dans le but de déterminer le taux de réussite et les facteurs possibles qui peuvent empêcher une Insémination Artificielle arrivé à son terme.

Les résultats démontrent que le taux de réussite de l'IA au niveau de l'exploitation E04 est de 50%, ce qui est proche de la valeur objective apportée par VALLET (1997) qui est de 55%. En effet VALLET a pu définir un objectif prioritaire de reproduction correspondant à un taux de réussite en première Insémination Artificielle supérieur à 55% des vaches mises à la reproduction.

Au niveau des exploitations E01, E03 et E09 le taux de réussite de l'IA est d'ordre de 37.5%, 40% et 48% respectivement.

Selon VALLET un taux inférieur à 50% correspond à un seuil d'alerte qui indique une dégradation des résultats de reproduction d'un troupeau ce qui est correspondant à nos résultats.

Le taux de réussite au niveau des exploitations E02, E05 et E06 est d'ordre de 77.77%,

53% et 81.81% ce qui est satisfaisant et répond aux normes citées par SOLTNER (2001) qui considère l'obtention d'une valeur supérieure à 60% un objectif à atteindre dans les élevages bovins laitiers, les résultats satisfaisantes ont une relation directe avec une alimentation bonne et suffisante dans ces exploitations ainsi un bon programme de détection des chaleurs.

Au niveau des exploitations E07et E10, on a remarqué que le taux de réussite de l'IA est très bas (16.66% et 28.57% respectivement) et largement loin des normes citées par SOLTNER (2001). Cela est lié à plusieurs facteurs mais essentiellement au problème de détection des chaleurs ; la technicité du personnel et du système pour le suivie de la reproduction. En effet, l'efficacité de l'IA dépend évidemment aussi d'autres technologies de la reproduction, telles que celles qui permettent la détection de l'œstrus et la synchronisation des chaleurs. Un bon nombre d'échec de la fécondation par IA provient en effet d'une détection incorrecte des chaleurs due à un manque de formation des agents affectés au suivie. Ainsi d'autres facteurs peuvent intervenir comme facteurs négatifs à la réussite de l'IA l'alimentation et l'état de santé des vaches. En effet, dans ces exploitations on a remarqué tel que l'alimentation est mauvaise et insuffisante en quantité et en qualité pour une vache mise à la reproduction.

Dans l'exploitation E08 ; on a remarqué un taux de réussite de l'IA de 100%, ceci est du vrai semblablement à une très bonne maitrise du système de reproduction et probablement à l'intervention à temps du vétérinaire.

5. Conclusion

L'Insémination Artificielle est un formidable outil d'amélioration du potentiel génétique et par conséquent d'accroissement des productions animales, cependant sa réussite exige de l'éleveur et de l'inséminateur l'application d'un savoir faire tant sur le plan technique que de la gestion des troupeaux, D'après l'enquête mené sur les facteurs limitant la réussite d'IA, ces derniers sont classés principalement en :

- facteurs liées à l'éleveur l'erreur de détection des chaleurs, une mauvaise alimentation.

- facteurs liées à l'animal l'état corporel et les conditions de vêlage précèdent.

- facteurs liées à l'inséminateur mauvais moment d'intervention, la mauvaise conservation et décongélation des semences.

Références bibliographiques

DAVID I, LEYMARIE C, LAGRIFFOUL G, MANFREDI E, ROBERT-GRANIE C, BODIN L., 2008 : Facteurs de variation génétiques et environnementaux de la production de semence et de la réussite de l'insémination artificielle en ovin, Rencontres Recherches Ruminants, 15, 363-366.

DISENHAUS C, GRIMARD D, TROU G, DELABY L., 2005 : De la vache au système s'adapter aux différents objectifs de reproduction en vêlage laitier ? Renc. Rech. Ruminants.

HANZEN C., 2003 : Protocole GPG et succès de la reproduction. In point vétérinaire,

p 238, 50- 54.

NICOL JM., 1996 : Infertilité en élevage laitier les mécanismes, les causes et les solutions, Bulletin technique des GTV.

SOLTNER D., 2001 : Anatomie des appareils génitaux de quelques grandes espèces de mammifères domestiques, la reproduction des animaux d'élevages, 3ème édition tome 1R, science et techniques agricoles, Symptômes et diagnostic, Point Vêt, p 299, 41-46.

VALLET A., 1997 : La fécondité des troupeaux laitiers, un grand problème d'actualité, BTIA suivi.

Caractérisation physicochimique d'une jachère dans une zone céréalière semi-aride en vue d'orienter sa gestion et d'améliorer sa productivité agricole (région de Sébain, Tiaret)

Benouadah Salima[1], Oulbachir Karima[1], Mohdeb Djamila[2]

[1]Laboratoire d'Agro-Biotechnologie et de Nutrition en Zones Semi-arides.Université Ibn khaldoun, Tiaret, Algérie. [2]Ecole Supérieur d'Agronomie de Mostaganem, Ex Hall de Technologie, Kharouba 27000.

salima.benouadah@univ-tiaret.dz.

Résumé

La jachère est avant tout un moyen d'adaptation technique aux contraintes du milieu écologique dans des contextes socio-économiques donnés car elle se justifie par les fonctions qu'elle remplit, tant sur le plan agronomique que sur celui du fonctionnement des unités de production.Ce travail constitue une étape vers une approche prédictive basée sur une évaluation du comportement physicochimique de cette espace naturelle. Notre investigation s'est réalisée dans la région de Tiaret où l'une des principales originalités est la mise en œuvre du comportement physicochimique de trois échantillons de sols sous jachère prélevées entre 0-20 cm de profondeur, broyés et tamisés sur un tamis de 2 mm. Les résultats dégagés révèlent que ces sols présentent une dominance de la fraction argileuse avec présence importante de limons, sont peu perméable (k entre 0.50 et 0.85 m/s) car les sols à textures fines étant les moins perméable, le pH est moyennement alcalin variant entre 7.80 à 8.05, les valeurs de la capacité d'échange cationique CEC compris entre 6 et 11 méq/100g de sol car la CEC est fortement liées à la fraction minérale et se sont donc les argiles qui déterminent la quantité des bases échangeables dans les sols.Le calcaire total varie de 14,61, à 26, 54, le calcaire actif est variable entre 10,05 et 16 % alors les sols 1 et 2 sont calcaires, le 3 l'est moyennement. Ils sont non salés, la teneur en azote est relativement appréciable dans l'ensemble de ces sols ; les teneurs en matière organique sont relativement faible varie de 1.40 à 1.50 %. Naturellement, les sols des zones arides et semi-arides sont pauvres en matière organique du fait de la faible productivité des agroécosystèmes qu'ils supportent. Cela peut être influencé par de nombreux facteurs ; naturels (climat, type de végétation…) et anthropiques (utilisation et gestion du sol…), entre autres, ces derniers étant fonction, de la nature des sols et de certains paramètres physicochimiques (température, humidité, pH, etc.). En perspective, on proposeun apport de matières organiques exogènes (MOE), autres que le fumier car l'évolution des sols et de leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques, notamment vis-à-vis de leur fonction de production agricole, est étroitement liée à leur statut organique, c'est-à-dire à la quantité et à la qualité de leurs matières organiques (MO).

Mots clés : Jachère/ propriétés physicochimiques/ matière organique/ zone semi-aride/ agroécosystèmes.

1. Introduction

Au cours de ces dernières décennies, les activités humaines, et en particulier l'agriculture, et les pratiques culturales ont fortement dégradé les écosystèmes notamment les sols qui sont les plus affectés, par une baisse de la biodiversité, une baisse des teneurs en matière organique, une fatigue et un épuisement qui représentent une menace pour la survie à long terme de la production agricole et du sol (Oulbachir, 2014). La jachère est avant tout un moyen d'adaptation technique aux contraintes du milieu écologique dans des contextes socio-économiques donnés car elle se justifie par les fonctions qu'elle remplit, tant sur le plan agronomique que sur celui du fonctionnement des unités de production dontla préservation de l'environnement, la gestion d'un espace fragile et pauvre, le développement culturel et social des terroirs natures (Sebillotte, 1993).

Dans cette perspective, notre investigation a consisté en une étude permettant de déceler les interactions et les potentialités agronomiques des techniques culturales simplifiées à savoir : une jachère, afin de décrire, comprendre et connaitre leurs impacts sur les paramètres physicochimiques, en vue d'orienter sa gestion et

d'améliorer sa productivité agricole.En effet ces systèmes œuvrent pour une gestion durable. Etant donné qu'elles ont tendance, à limiter les effets érosifs du labour, minimiser le cout et la main d'œuvre, protéger la ressource « sol ».

2. Matériel et méthodes

L'essai a été installé à la station expérimentale de Sébaine (Institut Technique des Grandes Cultures), daïra de Dahmouni, wilaya de Tiaret qui fait partie des hautes plaines céréalières de l'ouest Algérien dont les coordonnées sont x= 1°36 "27', y =35°27"32.4' et z= 960m.

Situation et caractéristiques du site :

La ville de Tiaret est localisée au Nord-Ouest de l'Algérie, sur les hautsplateaux Ouest entre la chaîne Tellienne au Nord et la chaîne Atlasique au Sud **(figure 1).**

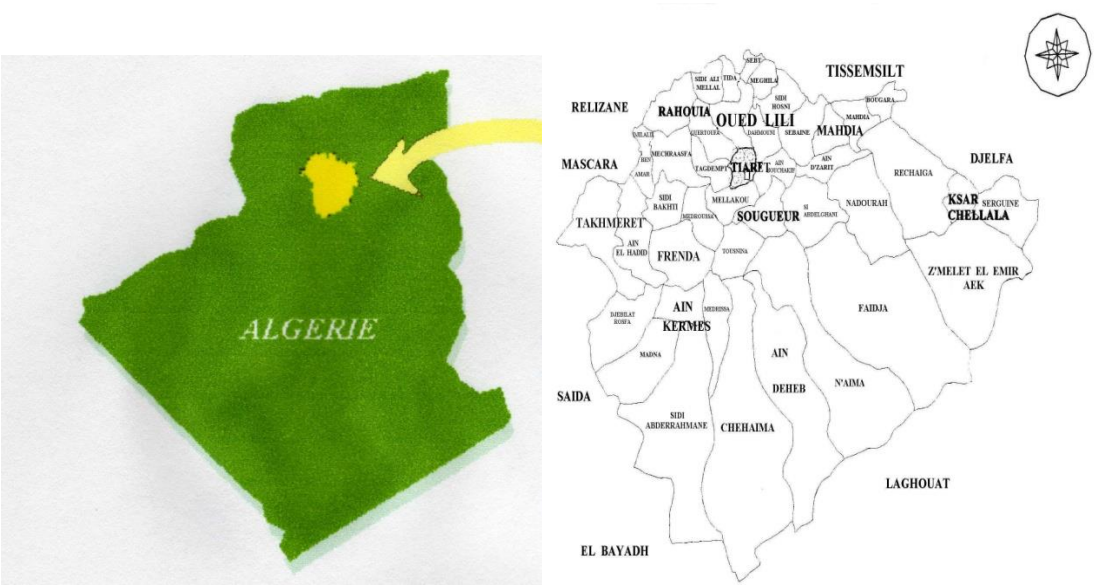


Figure 1: Localisation de la région de TIARET

Le climat de la région est caractérisé par deux périodes principales, un hiver froid relativement humide marqué par des chutes de neige, la température moyenne enregistrée est de 7,2° C et un été chaud et sec avec une température moyenne de 29°C.

La caractérisation physico-chimique des sols a été effectuée au sein du laboratoire de pédologie de notre faculté, selon les méthodes d'analyses suivantes : Nous avons déterminé : lagranulométrie de la terre fine des sols, selon la méthode internationale, à la pipette de Robinson, l'humidité par perte de poids après séchage à 105°c, conductivité électrique par le conductimètre; le pH par la méthode électrométrique, la capacité d'échange cationique par le dosage de sodium. La matière organique par le biais du carbone organique qui est déterminé selon la méthode Anne (1945), le dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl. Le calcaire total par calcimétrie, à l'aide du calcimètre de Bernard. Le calcaire actif déterminé par la méthode Drouineau. Quant au coefficient de

perméabilité, il a été déterminé selon la loi de Darcy (Oulbachir, 2010). La capacité d'échange cationique CEC par le dosage de Na (Mathieu et Pieltain ,2003).

3. Résultats et discussion

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des échantillons de sols prélevés sont illustrés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Caractérisation physico-chimique des échantillons de sols prélevés.

Caractéristiques		E (1)	E (2)	E (3)
Profondeur (cm)		**0 – 20**	**0 – 20**	0 – 20
Granulométrie	S.G	8,28	12,45	6,35
	S.F	9,9	9,85	11,65
	L.G	13,02	18,72	19,50
	L.F	21,80	20,98	17,50
	A	47	38	45
Classe Texture		***Argileux***	***Limono-argileux***	*Argilo-limoneux*
pH eau (1/5)		7,80	7,95	8,05
CEC (mé/100g)		11,00	6,00	7,60
K (m/sec)		0,50	0,85	0,67
Humidité (%)		25,08	24,55	26,76
C.E (1/5)		0,1	0,1	0,1
Ca. Total (%)		26,54	24	14,61
Ca. Actif(%)		**16,**00	**15,**00	10,05
MO(%)		**1,50**	**1,46**	**1,50**
N(%)		0,168	0,168	0,168

A : argiles ; **LF** : limons fins ; **LG** : limons grossiers ; **SF** : sables fins ; **SG** : sables grossiers ; **Catotal** : calcaire total ; **Ca actif** : calcaire actif ; **CE**: conductivité électrique ; **CEC**: capacité d'échange cationique ; **pH** : potentiel hydrogène ; **K :** Perméabilité ; **MO** : matière organique ; **N** : azote total ; **E** : échantillon.

Les valeurs des différents paramètres des sols échantillonnés ***(tableau 2)*** indiquaient une prédominance de l'argile dans les sols donnant lieu à trois classes texturales (argile, limono-argileux et argile limoneuse)sont peu perméable (k entre 0.50 et 0.85 m/s) car les sols à textures fines étant les moins perméable(Mathieu et Pieltain ,2003). Le pH de ces sols est moyennement alcalin variant entre 7,80 et 8,05. Ils sont non salés. Le calcaire total varie de 14,61 à 26,54, le calcaire actif est variable entre et 16 et 10,05 % alors les sols 1 et 2 sont calcaires, le 3 l'est moyennement. Nos résultats ont montré que le sol a gardé une humidité plus élevée cela affirme une meilleure rétention en eau. Les sols étudiés présentent de bonne valeurs en CEC car ce paramètre dépend fortement de : l'organisation des particules élémentaires d'argile, à la masse d'argile et la teneur en argile d'où la capacité de l'argile à retenir des éléments nutritifs sous forme ionique dans un sol (Al Majou et al., 2007). La teneur en matière organique de ces sols est relativement faible Ils sont non salés la teneur en azote est relativement appréciable dans l'ensemble de ces sols.

4. Conclusion et perspectives

Naturellement, les sols des zones arides et semi-arides sont pauvres en matière organique du fait de la faible productivité des agroécosystèmes qu'ils supportent. Cela peut être influencé par de nombreux facteurs **;** naturels (climat, type de végétation…) et anthropiques (utilisation et gestion du sol…), entre autres, ces derniers étant

fonction, de la nature des sols et de certains paramètres physicochimiques (température, humidité, pH, etc.). En perspective, on proposeun apport de matières organiques exogènes (MOE), autres que le fumier car l'évolution des sols et de leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques, notamment vis-à-vis de leur fonction de production agricole, est étroitement liée à leur statut organique, c'est-à-dire à la quantité et à la qualité de leurs matières organiques (MO).

Références bibliographiques

Al Majou H., Duval O et Josière O (2007).Etudes des propriétés de rétention en eau des sols argileux. Mulhouse, France. GFA, 2p.

Mathieu C et Pieltain F (2003). Analyses chimiques des sols. *Editions TEC et DOC.* Paris. pp 45.

Mathieu C et Pieltain F (2003). Analyses physiques des sols. *Editions TEC et DOC.* Paris. pp 43.

Oulbachir K (2010). Ecologie microbienne des sols sous différents compartiments granulométriques et différents étages bioclimatiques. Thèse de Doctorat Oran. 70-73p.

Oulbachir K., Zoubeidi M., Kouadria M etBouchenafa N (2014).Pratiques de Conservation des agro systèmes en vue du développement durable. *Mater Environment Science journal* 5: 2.

Sebillotte M., Allain S., Doré T et Meynard JM(1993). La jachère et ses fonctions agronomiques, économiques et environnementales diagnostic actuel. *Ann. INRAT*, Tunis, n° spéc., pp64-188.

Criblage phytochimique d'une Apiaceae locale (*Thapsia Garganica*) dans la région de Tiaret.

Chelef mokhtaria[1], Hemida Houari [1], Sehari Mira[1] , mazrou keltouma[1] , Hassani Abdelkrim[1].
Université Ibn Khaldoun, Tiaret; Algérie. Faculté des sciences de la nature et de la vie, labo.d'Agro-biotechnologie et de nutrition en zones semi-arides,
mokhtaria.chelef@univ-tiaret.dz

Résumé

Thapsia garganica, est une espèce qui fait partie de la famille des Apiaceae largement répandues dans le bassin méditerranéen. Ses multiples propriétés biologiques sont dues à sa richesse en substances bioactives, méritant d'être étudiée et valorisée et ce par la détermination de leurs caractéristiques phytochimiques. Ce travail porte sur l'étude phytochimique de l'extrait methanolique de *T. garganica* préparé a partir de la partie aérienne, dans le but d'une valorisation des ressources naturelles dans le cadre de la lutte biologique. Le screening phytochimique a montré la présence de divers métabolites secondaires dans la plante : alcaloïdes, polyphénols, tanins (catéchiques), saponosides, flavonoïdes, glycosides et coumarines avec une absence des stérols et tri terpènes.

Mots clés: screening phytochimique, extrait methanolique, *Thapsia garganica*, métabolites secondaires.

Introduction

Les plantes médicinales sont une source inépuisable de substances douées de propriétés thérapeutiques diverses. La flore algérienne est riche et hautement variée. Elle renferme un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales utilisées en couramment en médecine traditionnelle. *Thapsia garganica* occupe une place privilégiée dans le traitement de certaines pathologies, celle-ci appartient à la famille des Apiaceae ((Guignard, 1998). Des propriétés toxiques ont été attribuées aux deux substances : la thapsigargine et la thapsigargicine (Liu *et al.,* 2006). Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique d'extrait methanolique de la partie aérienne e thapsia garganica de la région de Tiaret l'Algérie.

Le screening phytochimique met en évidence la présence des familles de molécules actives, c'est une étude qualitative utilisée pour connaître la composition chimique globale des extraits (N'Guessan K et al.,2009, Kumar et al., 2010). Les Saponosides ; dont la présence est déterminée par la présence ou non de mousse. Les Coumarines ; toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV à 365 nm).Les Tanins ; la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques. Les Flavonoïdes ; le changement de coloration est observé: virage au rouge (flavones), virage au rouge pourpre (flavonols), rouge violacée (flavanones et flavanols).

Matériel et méthodes

Matériel végétal :

Thapsia garganica a été récoltée durant la période Mars-Juin 2018, de différentes stations de la région de la wilaya de Tiaret commune de Sidi Hosni exactement dans une région appelé CHERB ERIH au niveau de ses montagnes. La plante fraîchement collectée a été séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Devenue sèche, la partie aérienne a été récupérée et mise dans des sacs en papier et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'au moment de l'utilisation.

Préparation de l'extrait methanolique

L'extrait methanolique a été préparé selon le protocole proposé par (Nostro, Germano et al.2000; Navarro García, Rojas et al.2006; Jaafreh, Khleifat et al.2019) avec quelques modifications. Une quantité de 50 g de poudre obtenue a partir de la partie aérienne de thapsia garganica a été macérée dans 500 ml de méthanol absolu sous agitation magnétique à température ambiante pendant 24 heures. L'extrait a été récupéré après filtration du mélange avec du papier filtre. Le solvant évaporé à sec sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C, le séchage dans une étuve à ventilation, permettant ainsi d'obtenir un résidu sec qui est conservé dans un en récipient opaque à 4°C jusqu'à son utilisation.

Tests phytochimiques:

Le criblage phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante. Le criblage phytochimique de l'extrait methanolique de la partie aérienne a été réalisé selon les techniques analytiques qualitatives décrites dans la littérature (Ronchetti et Russo, 1971 ; Hegnauer, 1973 ; Wagner et Bladt, 2001 ; Békro et al., 2007) ces techniques sont basées sur des réactions de coloration et/ou de précipitation en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques.

Résultats

Les tests colorimétriques nous a permis de détecter les biomolécules présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : mise en évidance de certains familles de métabolites secondaires dans l'E.M de T.garganica.

Métabolites	Résultats
Alcaloïdes	+++
Flavonoïdes	+++
Tanins	+++
Saponosides	++
Stérols et triterpènes	---
Les coumarines	+++
Les glycosides	+++

+++ : fort présent,++ :présent ,+ :peu présent ,- :absent

Le screening phytochimique a montré la présence de divers métabolites secondaires dans la plante : alcaloïdes, poly phénols, tanins (catéchiques), saponosides, flavonoïdes, glycosides et coumarines avec une absence des stérols et tri terpènes.

Discussion

Des études similaires dans le but de mise en évidence les différents familles de métabolites secondaires de la plante T. garganica prenons sous titre d'exemples les travaux de Bouimeja et al, (2018),qui ont révélé a partir d'une étude phytochimique des feuilles de thapsia garganica au Maroc, la présence de stéroïdes et de triterpènes, flavonoïdes, saponines, coumarines et tanins catéchiques. Aussi Alghazeer et al, (2012), ont constaté que la phytochimie des feuilles de la plante étudiée a montré la présence des alcaloides, flavanoides, tanins, terpènes, coumarines, saponines.

La différence de la composition chimique de la plante étudiées, et de la même plante dans une autre région peut être expliquée par l'influence des facteurs sur la présence, l'absence et la répartition des différents principes actifs comme, le climat, la nature du sol, eau, altitude … (Boughrara, 2016).

Conclusion

L'abondance en principes actifs confère à cette plante des propriétés biologiques, notamment l'effet insecticide, souhaitées à être étudier dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles ; en vue de chercher une alternative aux produits chimique de synthèse nocifs pour l'homme et pour l'environnement.

Références bibliographiques

Alghazeer Rabia, El-Saltani Hussein, Saleh Nabeel, 2012,. Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts. *Natural science*, vol. 4, no 5, p. 324-335.

Békro Y.A., Békro J.A.M., Boua B.B., Tra B.F.H. & Ehilé E.E., 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) (Caesalpiniaceae). Rev. Sci. Nat. 4: p.217-225.

Bouimeja ibtissam, Elhidan Moulay Abdelmonaim, Touloun Oulaid, 2018,. Anti-scorpion venom activity of Thapsia garganica methanolic extract: Histopathological and biochemical evidences. *Journal of ethnopharmacology*, 2018, vol. 211, p. 340-347.

Boughrara Boudjema, 2016. Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêt thérapeutiques et nutritif de parc nationale El-kala. Thèse de doctorat : phytochimie. Université Badji Mokhtar- Annaba.136p.

Jaafreh, M., K. Khleifat, 2019. "Antibacterial and Antioxidant Activities of Centeurea damascena Methanolic Extract." arXiv preprint arXiv:1911.02243.

Hegnauer R., 1973. Chemotaxonomie der Pflanzen, Bikhäuser Verlag, Basel, Suttgart, 6, pp.761.

Guignard J.-L. 1998. Abrégés botaniques. *11ème Ed. Masson.* 166-171. ISBN : 2-225-83519-5.

Kremer D, Zovko Končić M, Karlović K, Kosalec I. Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. Food Chem Toxico. 2010 ; 48 : 2176 – 2180.

Liu H., Jensen K. G., Linh My Tran L. M., Chen M., Zhai L., Olsen C. E., Sohoel H., Denmeade S. R., Isaacs J.T. & Christensen S.B. (2006). Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue isolated from *Thapsia garganica. Phytochemistry*. 67 : 2651–2658.

Nostro, A., M. Germano, 2000. "Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity." Letters in applied microbiology 30(5): 379-384.

Navarro García, V. M., G. Rojas, 2006. "Antifungal and antibacterial activity of four selected Mexican medicinal plants." Pharmaceutical biology 44(4): 297-300.

N'Guessan K, Kadja B, Zirihi G, Traoré D, Aké-Assi L. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). Sci Nat. 2009 ; 6 (1) : 1 – 15.

Ronchetti F. & Russo G., 1971. A new alkaloid from Rauvolfia. Phytochem. 10 : 1385- 1388.

Wagner H. et Bladt S., 2001. Plant Drug Analysis: A thin Layer Chromatography Atlas (2nd ed.). Springer, Berlin, pp. 349-364.

The in vitro effect of argan oil on induced oxidative heme damage

Fatima Zohra CHENNI[1*] , Kahina HAMENNI[1] , Khalida FEHIM[1], Samira MEZIANI[1], Fatima Zohra GHANEMI[2]

1 Department of Biology, Biotoxicology Laboratory, SNV Faculty of Djilali Liabes of Sidi Bel Abbes University, BP 89,22000, Algeria

2 Natural products laboratory (LAPRONA), Faculty of SNV and STU , University of Abou Bekr Belkaid of Tlemcen, Algeria

Chenni_f2007@yahoo.fr

Abstract

Argan oil from Argan spinosa L.Skeels has been widely used in culinary preparation and also cosmetic because of its many health benefits and wide range compounds that are very beneficial. It has been recognized as prominent oil with a wide range of properties. Argan oil is both delicious and nutritious, used for promoting a good health and growth. This oil is a relevant source of polyphenols and essential fatty acids (ω3 and ω6). Virgin argan oil contains high levels of linoleic and oleic acids, tocopherols and minor compounds such as sterols, carotenoids and squalence. The main aim of the current study is to assess the in vitro effect of the oil from Argania spinosa, harvested in the southwestern part of Algeria (Tindouf) on induced oxidative haemoglobin damage by using in vitro test. The experimental design involves primarily the chemical extraction of argan oil using a Soxhlet extraction system and secondary, the study of the red blood cells sensitivity through copper sulfate (CuSO4) at 100mg/l.

The preliminary result of the study has shown that the almond *Argania spinosa* in the Tindouf city has an argan oil yield of 56 %. The study of the sensitivity of red blood cells *in vitro* in the presence of CuSO4 shows that the presence of *Argania spinosa* oil at different concentrations could not get around the harmful effect of free radicals generated by $CuSO_4$ despite the efficient activity revealed by DPPH assay.

Key words: Argania spinosa, Argan oil, Oxidation, Heme damage, Red blood

1. Introduction

Argan oil from Argan Spinosa has been widely used and consumed. It is abundant in the south of Morocco and Algeria. This oil is a relevant source of polyphenols and essential fatty acids (ω3 and ω6). Virgin argan oil contains high levels of linoleic and oleic acids, tocopherols and minor compounds such as sterols, carotenoids and squalence. This oil is associated with a variety of health benefits to humans including liver damage prevention, treat atherosclerosis (Moukal, 2004), diabetes and hypertension, improve plasma cholesterol levels and improvement of skin and hair health (Charrouf, 2008).

The aim of this experiment is to investigate the in vitro effect of the oil from Argania Spinosa harvested in the southwestern part of Algeria (Tindouf) on induced oxidative haemoglobin damage by using in vitro test and to investigate the antioxydant activity.

2. Material and Methods

2.1 Argan oil collection and extraction

Argania Spinosa was harvested from Merkala tafegoumt region during the period of Marsh-July. After collection, fruits were depulped by hand, nuts were separated and broken manually, and the unroasted kernels grounded and finally the argan oil extracted. All reagents and solvent were purchased at the highest quality available from Sigma-Aldrich.

Oil from *A. Spinosa* was obtained as previously described (Harhar, 2014). Briefly, About 20 g of ground kernels were extracted for 6 h using a Soxhlet apparatus and 150ml of n-hexane as extraction solvent. Hexane was then removed under reduced pressure using a rotary evaporator at 60°C during 15min.

2.2 Red Blood Cell Hemolytic assay

Blood samples were obtained from healthy human volunteers and collected in the heparined tubes. Red blood cells were separated from plasma by centrifugation at 4000 rpm for 15 min and washed three times with phosphate-buffered saline (PBS). During the last steps of washing, the red blood cells were centrifuged again at 4000 rpm for 10 min to obtain the packed red blood cells. The suspension was diluted 1 :10 in PBS. Sulfate copper ($CuSO_4$) was used as a free radical initiator to assess antihemolytic activity among three doses of argan oil. Two ml of the red blood cells suspension was mixed with 2ml of PBS containing various amounts of *A. Spinosa* oil (25mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml). 2 ml of $CuSO_4$ was then added to the various mixtures. The different combinations of reaction mixtures were gently mixed and incubated at 37°C for 3h. The erythrocyte suspension was centrifuged at 4000 rpm for 5 min. The released haemoglobin absorbance was then measured in the supernatant at 540 nm (Amzal et *al.*, 2008).

2.3 Determination of the antioxidant toxicity

The study of the antioxydant activity of the sample was performed by quantifying 2,2-diphenyl1-1-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity. The final absorbance was measured at 520 nm.

3. Results

Extraction yield obtained from unroastted kernels using hexane solvent was 50 to 56% of oil. The sulfate copper is a potential haemolytic agent. $CuSO_4$ was evaluated for its toxicity towards the human erythrocytes by using the in vitro haemolytic assay. Hemoglobin was directly proportional to the concentration of lysed blood cells. In the absence of $CuSO_4$, erythrocytes were stable and no hemolysis was observed during the 3 h of incubation (Fig. 1). However, the addition of $CuSO_4$ to erythrocytes, after an inhibition period, induced an increase in hemolysis, while addition of argan oil was insufficient to overcome hemolysis activity induced by Cu SO_4. The results obtained show that the percentage of inhibition of the free radical increases as the concentration of argan oil increases (Fig. 2). The EC50 value obtained was 87 mg/ml. In comparaison to those reported in the literature, this value is low and means that the sample has a higher antioxydant capacity. Argan oil do not reduced the copper-induced hemolysis over the concentration range used in this study but exhibited antioxidant activity.

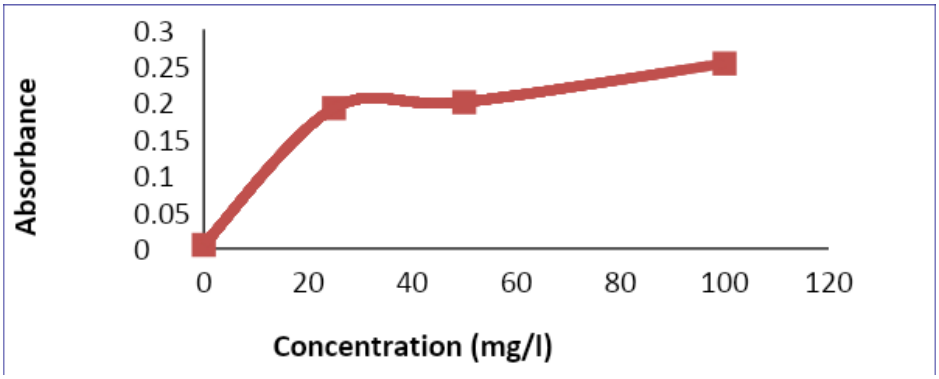


Fig 1. Effect of A. Spinosa on red blood cell haemolysis

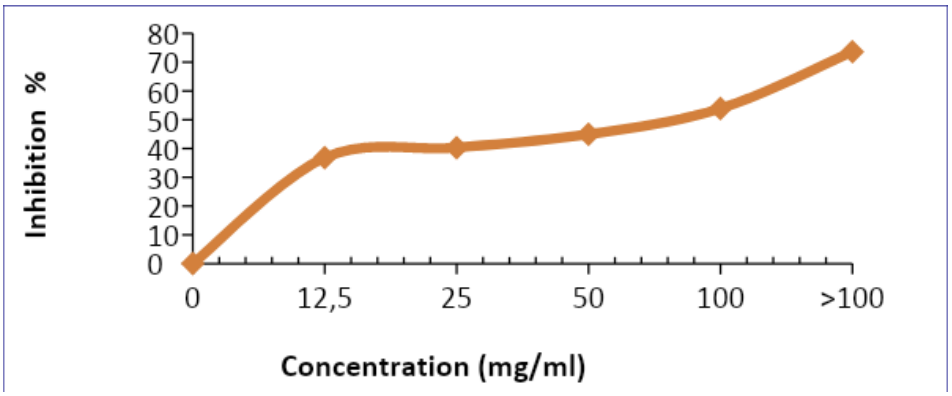


Fig 2. Effect of A, Spinosa on the free radical DPPH

4. Conclusion

Hemoglobin was directly proportional to the concentration of lysed blood cells. However, argan oil has no effect on the hemolytic activity of CuSO4 at 100 mg/l. The obtained results insure the haemolytic effect of CuSO4 on erythrocytes, but not the antihemolytic effect of argan oil. Therefore, components of argan oil could not contribute to the protection of alteration or destruction of erythrocytes membranes induced by the copper sulfate despite the efficient antioxydant activity revealed by DPPH assay.

References

Amzal, H., Alaoui, K., Tok, S., Errachidi, A., Charof, R., Cherrah, Y., & Benjouad, A. (2008). Protective effect of saponins from Argania spinosa against free radical-induced oxidative haemolysis. Fitoterapia, 79(5), 337–344.

Charrouf, Z., & Guillaume, D. (2008). Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. European Journal of Lipid Science and Technology, 110(7), 632–636.

Harhar, H., Gharby, S., Guillaume, D., & Charrouf, Z. (2010). Effect of argan kernel storage conditions on argan oil quality. European Journal of Lipid Science and Technology, 112(8), 915–920.

Harhar, H., Gharby, S., Kartah, B., Pioch, D., Guillaume, D., & Charrouf, Z. (2014). Effect of harvest date of Argania spinosa fruits on Argan oil quality. Industrial Crops and Products, 56, 156–159.

Moukal, A. (2004). L'arganier, Argania spinosa L. (skeels), usage thérapeutique, cosmétique et alimentaire*. Phytotherapie, 2(5), 135–141.

L'isolement des souches cellulolytiques et l'optimisation de leurs activités enzymatiques

Boucif M*, Abouni B, Belaouni HA, Benine MA, Kanoun K, Bouyakoub N, Bouchuicha S , Nourin Z , Laraki M.

* UDL-SBA. Laboratoire de Microbiologie. Département de Biologie. 2 Rue Oulhaci Mokhtar, Sidi-Bel-Abbes, Algérie.

meriem2288@hotmail.fr

Introduction

L'abondance du cellulose fait d'elle une source de matière première inépuisable, renouvelable et bon marché avec des applications biotechnologique divers, y compris les prospectives pour la transformation des polymères végétaux en biocarburants, biogaz ,biodiesel, bioéthanol et d'huiles éssentielles ; un objectif essentiel d'importance mondiales au 21éme siècle pour l'humanité tout entière, dans cette présente étude, 18 souches bactériennes ont été isolées à partir de rhizosphères diverse (Caroubier, Cypré, Frêne, Pin d'Alep, Melia) dans la région de Sidi Bel Abbes, et testées in vitro pour leurs capacités à dégrader la cellulose.

La sélection des souches cellulolytiques les plus performantes a été établie en s'appuyant sur le degré de dégradation de la cellulose et donc sur le diamètre des zones d'hydrolyses , les souches les plus performantes on été choisie pour un suivie cinétique de leur croissance est montrent ainsi une croissance significative puis le suivie de l'activité enzymatique de la cellulase a été réalisé pour les isolats, les souches les plus performants ont été identifiées par des galeries Api 20 E, de ce fait la dégradation de la cellulose reste un objective mondiale et importants pour les développements biotechnologiques.

Objectif

L'objectif de ce travail est l'isolement des bactéries à partir des rhizosphères et des racines des arbres dans la région de Sidi Bel Abbés, capables de dégrader la cellulose. Dans un second temps, l'étude du potentiel de production de la cellulase chez les souches sélectionnés, performants.

Matériels et Méthodes

Les prélèvements ont été effectués à partir de différents échantillons de sol de différents arbres de la région de sidi bel Abbés , le screening des bactéries cellulolytiques a été réaliser a partir des tubes d'enrichissement pour les différents échantillons de racine et du sol rhizosphérique , réaliser un ensemencement par stries serrées sur gélose Mendel milieu de culture a base de cellulose comme seule source d'énergie, puis incubé 48h a 30° C , seules les bactéries cellulolytiques qui utilisent la cellulose comme seul source de carbone peut donnés croissance sur cette culture , après observation les colonies sont sélectionnées et purifiées 4 fois par stries d'épuisements sur gélose Mendel, puis conservées sur un bouillon nutritif glycérolé à 20% a – 4° C.

Le Test d'hydrolyse de la cellulose par un ensemencement dans du bouillon nutritif, incubées à une température de 30°C pendant 24h. Une suspension bactérienne des souches testés d'un volume de 50µl prélevé et déposé au centre d'une boite Pétri contenant le milieu Mendel additionnée de Rouge Congo à une concentration 1 %, incubée à une température de 30°C, successivement 24h, 48h, 72h. La lecture est effectuée par mesure des diamètres des zones d'hydrolyses obtenues.

En deuxième lieu un Suivi cinétique de la croissance bactérienne des souches pures, sélectionnées productrices de la cellulase les plus performantes sont inoculées dans des Fiole-Erlenmeyer de 250 ml, contenant un volume de 50 ml de bouillon nutritif, incubées à une température de 30°C, pendant 18 heures , en suit l' Ensemencement du suivi cinétique a partir des suspensions bactériennes prepares et ajustées à une densité optique initiale de 0.02, mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde 550 nm, inoculées dans le milieu Mendel, afin de les mettre

dans les mêmes conditions de biomasse initiale, après cela, les isolats ont été cultivés pendant 30h sous une agitation de 100tr/min à une température ambiante.

Chaque 2h une prise d'échantillonnages a été faite pour la lecture de la charge bactérienne a 550nm dans des cuves de spectrophotomètre, et 4 ml a été centrifuger a 14000×g pendant 10 min a 4˚C pour éliminer le matériels génétique un désiré, l'enzyme réactionnelle se trouve dans le surnagent , le surnagent a été conservé dans des Ependorf stériles a une température de -20ºc.

En troisième lieu le teste de l'activité enzymatique a été réaliser afin d'Estimer l'activité de la cellulase, plus précisément le taux de sucre réduit de la solution de cellulose à une concentration de 2% est dosé.

L'optimisation de la valeur du pH est effectuée lors de l'incubation du surnageant contenant l'enzyme en présence du substrat de cellulose à une concentration 2%, préparée dans une solution tampon de 0.05M phosphate de différentes valeurs de pH (5 ,5.5 ,6 ,6.5 ,7 ,7.5 ,8), à une température 50°C pendant 30 minutes et l'optimisation de la température optimale a était effectuée dans les mêmes conditions, à différentes températures (30°C, 40°C, 50°C, 60°C), pendant 30 minutes , l'activité cellulolytiques est évaluée par la méthode DNS.

Une Identification phénotypique et biochimiques, physiologiques des candidats les plus performants a été réaliser par différentes méthodes de lecture au biais de l'utilisation de la galerie Api 20 E.

Résultats

Les prélèvements racinaires et rhizosphériques effectués ont permis d'isoler 18 souches productrices de la cellulase sur le milieu de culture gélose de Mendel additionnés de rouge Congo.

Test d'hydrolyse de la cellulose

Dans le but de sélectionner des souches productrices de la cellulase performantes chez les isolats, le test de la dégradation de la cellulose est mis en évidence, Une lecture positive de la dégradation de la cellulose est manifestée par la formation d'une zone hydrolyse autour des colonies sur le milieu de culture de Mendel gélosé, additionné de Rouge Congo, Les résultats obtenus ont montré que la production de la cellulase chez les souches testées a initié dés le premier jour, Cependant la capacité maximale de l'hydrolyse de la cellulose a été révélée chez la souche EC3' qui marque un diamètre de 55mm.

Le Suivi de la cinétique de croissance des isolats sélectionnées productrices de la cellulase a servi a l'observation du potentiel de croissances bactérienne des souches les plus performentes à partir des différentes origines rhieosphériques et racinaires choisie pour les essais d'isolements, ont montrrés une forte hydrolyse de la cellulose (respectivement 29,29,47,55,47,40 mm).

L'estimation de l'activité enzymatique des souches les plus performantes a été préparée par des solutions de cellulose ajuster dans du tampon phosphate et traité avec le réactif de DNS, la lecture de leurs absorptions a été effectuée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 540 nm, les valeurs obtenues ont été utilisées pour tracer des courbes de tendance pour chaque souche étudier et la souche la plus performante a donner les résultats suivants :

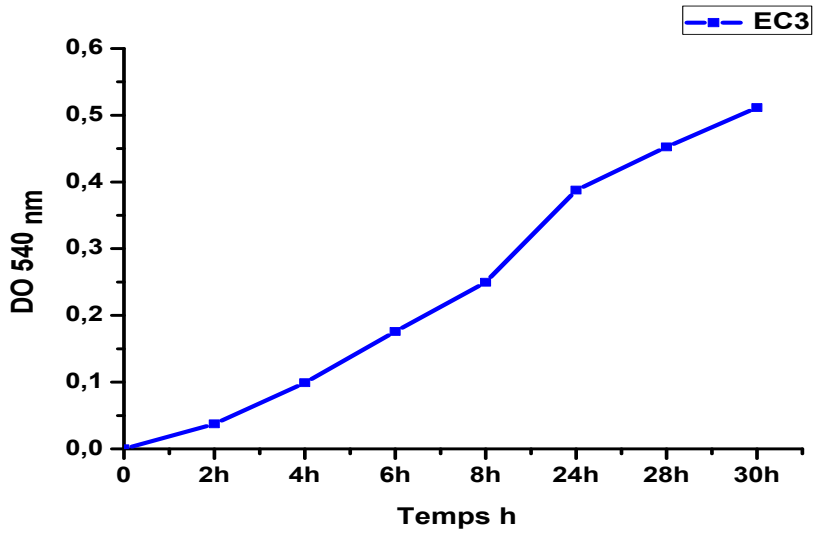


Figure 1 : L'activité enzymatique de la cellulase chez EC3

Le pH et la température optimale pour l'activité enzymatique de la cellulase a été déterminé en utilisant la méthode de DNS, Les résultats trouvés sont révélée dans les courbes suivantes avec un PH optimal de et une température optimal de pour la souche la plus performante EC3 :

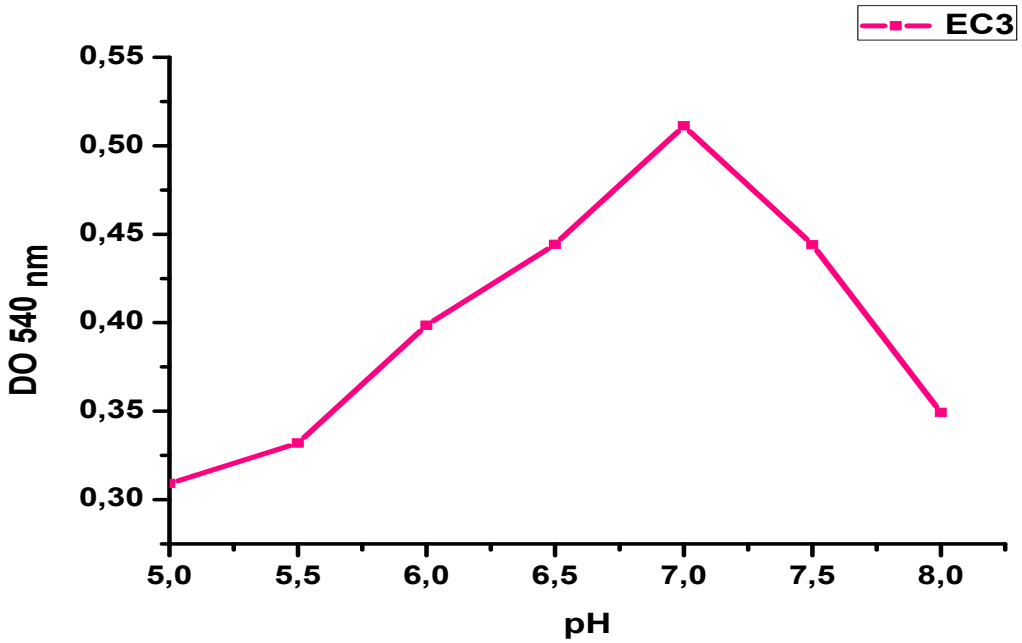


Figure 2 : Optimisation du pH chez l'isolat EC3

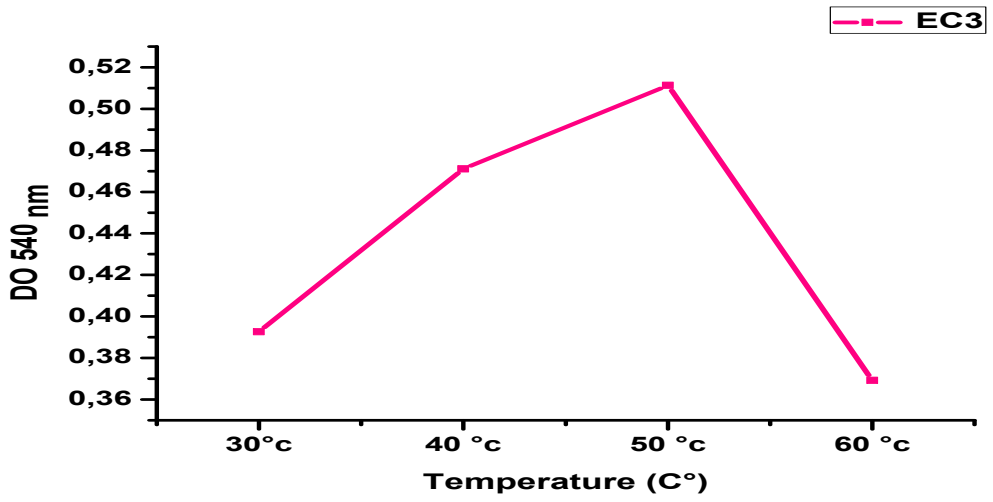


Figure 3 : Optimisation De la T° chez l'isolat EC3

L'identification phénotypique et biochimiques, physiologiques de la souche la plus performante a été réaliser par différentes méthodes de lecture au biais de l'utilisation de la galerie Api 20 E , Cette souche a été identifiée comme étant ***Bacillus tequilensis*** avec un score d'identification de 95%, donné par le programme ABIS 8 on-line.

Discussion

L'objectif de la présente étude est de démontrer l'isolement, le screening et l'identification des bactéries cellulolytiques capable de dégrader la cellulose avec une forte activité enzymatique de la cellulase à partir des différents échantillons rhizosphérique et racinaires , les souches bactériennes caractérisées par leurs capacités à dégrader la cellulose ont été isolées à partir des racines et des rhizosphères des arbres forestier qui perçues comme une des sources optimales pour l'isolement des bactéries cellulolytiques a cause des fortes conditions de croissance trouvé dans l'environnement forestier **.**

On a utilisé 2 stratégies d'isolement basées sur la sélection des bactéries rhizosphérique afin d'obtenir des bactéries capable de dégrader la cellulose, à partir des racines et à partir du sol entourant la racine , Le screening des souches les plus performantes a été effectué en testant les isolats pour la synthèse de métabolite particulier, pour leurs capacités à utiliser la cellulose comme seule source d'énergie et donc la dégradation de la cellulose.

Ces souches on été testé pour l'évaluation du taux de dégradation de la cellulose donnent une formation de zone d'hydrolyse indiquant ainsi la dégradation de la cellulose, et Les colonies bactériennes ayant la plus grande zone claire ont été sélectionnées pour l'identification et la production de cellulase, Les résultats obtenus ont montré qu'il ya une différence significative de dégradation de la cellulose chez les isolats, qui varie de 14 mm a 55mm vers une dégradation maximales attribuer a la souche EC3 avec une zone d'hydrolyse de 55mm, EC 3 (47mm), EC 5(47 mm), R2 (40mm), EC2 (29mm), EC1 (29mm).D'autre recherche on montré que les zones d'hydrolyses varie d'une souche a une autre et estimer entre 5 et 40 mm**,** et entre 28 et 50 mm **.**

Le suivie cinétique réaliser pour les 6 isolats les plus performent pour une durée de 30h montrant une croissance significatives des souches, avec une charge bactérienne maximale de 1.14 (EC1), 1.54(EC2), 1.45 (EC3), 1.45 (EC3'), 1.49 (EC5) et 1.46 (R2).

Le temps nécessaire pour atteindre la moitié de la charge maximale et estimer de 1.12h (EC1), 2.02(Ec2), 2.41(EC3), 2.97 (EC3'), 1.49 (EC5) et 2.72 pour (R2).

La souche EC2 a une croissance maximale supérieure aux autres isolats puis EC5, EC3, EC3', R2, EC1, mais EC1 apparait comme la plus rapide avec une vitesse de croissance pour atteindre la demi charge égale a 1.12h ; EC 5= 1.49 h ; EC2= 2.02 h ; EC3=2.41h ; R2= 2.72h ; EC3'=2.97.

La courbe standard a été estimée par la mesure du taux de glucose à différentes concentrations selon la méthode de DNS**,** L'estimation de l'activité enzymatique et l'évaluation du taux de production de la cellulase par les souches bactériennes isolées a été effectuée**,** l'intensité du complexe coloré formé suite à la dégradation de la cellulose est mesurée avec spectrophotomètre à 540 nm.

Les résultats obtenus ont montré qu'il y a une différence significative de production de la cellulase et par la suite la dégradation de la cellulose chez les souches les plus performantes qui varie de 0.23 IU pour(EC1), 0.26 IU (EC3'), 0.23 IU (EC 5), 0.29 IU(EC2), 0.30IU (EC4), et une production maximale attribuée a la souche(EC3) 0.32 IU, pour un pH optimum estimer respectivement a pH = 6, 6, 7, 7.5, 6, 7.

L'optimisation du pH a montré que le pH optimale pour l'activité de la cellulase a été estimé de pH=6 pour (EC1), pH=6 (EC5), pH=7.5 (EC3'), pH=7 (EC4), pH=6 (EC2) et une production maximale attribuée a la souche (EC3) au pH=7.

L'optimisation de la température a montré qu'à 50°C ya une production maximale de la cellulase pour chaque isolat : (EC1), (EC2), (EC3), (EC3'), (EC5) et, (R2) .Les recherches on démontrés aussi une température optimale de 60°C.

Selon **le programme ABIS 8 on-line** La souche EC 2 est une *Enterococcus mundtii* avec un score d'identification de 99 ٪ atteint, la souche EC4 est une *Serratia odorifera* avec un score d'identification de 88٪, la souche EC3 est une *Bacillus tequilensis* et donne un score d'identification de 95٪, et la souche EC5 est une *Aeromonas aquariorum* avec un score d'identification de 83٪, ainsi le score d'identification est au bon *Match.*

Conclusion

L'étude de la dégradation de la cellulose consiste à l'heure actuelle un enjeu majeur. En effet, les utilisations et les applications de la cellulose et de ces dérivées dans des applications biotechnologique divers, y compris les prospectives pour la transformation des polymères végétaux en biocarburants, biogaz, biodiesel, bioéthanol et d'huiles essentielles fait d'elle une source de matière première inépuisable, renouvelable et bon marché ; un objectif essentiel d'importance mondiales au 21^{éme} siècle pour l'humanité tout entière. Dans cette présente étude, les souches bactériennes rhizosphérique ont été isolées et testées in vitro pour leur capacité de dégradation de la cellulose. Lors de l'utilisation de la galerie Api 20 E, les 4 souches sélectionnées performantes ont été identifiées comme étant : *Enterococcus mundtii, Serratia odorifera, Aeromonas aquariorum* et *Bacillus tequilensis* avec une activité enzymatique de la cellulase maximale a 0.29 IU/ml/30min à pH=6, 0.27 IU/ ml/30min à pH=7.5, 0.23 IU/ml/30min à pH=6 et 0.32 IU/ml/30min à pH=7 respectivement a une T° optimale de 50°C. Ce travail pourra faire l'objet de d'autres études approfondies sur la purification de cette enzyme et la caractérisation des gènes impliqués dans la production de cette enzyme et l'optimisation des différents paramètres pour une production à grand échelle.

Potentialité antifongique du champignon *Aspergillus flavus* contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent du Bayoud du palmier dattier

Hakima BELAIDI[1,*], Fawziya TOUMI[1], Ibrahim Elkhalil BENZOHRA[2,3] et Boubekeur Seddik BENDAHMANE[3]

1- Département des Sciences de l'Environnement, Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès, Algérie. Tel : 0550 77 41 39 ; *Email : hakimabenzohra@hotmail.fr

2- Station Expérimentale du Milieu Biophysique de la Saoura, Taghit - Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides (CRSTRA), Campus universitaire BP 1682 RP, 07000 Biskra.

3- Laboratoire de Protection des Végétaux, Département d'Agronomie, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

Résumé

Les palmeraies algériennes du sud-ouest sont confrontées à une contrainte biotique majeure appelée le Bayoud du palmier dattier maladie causée par le champignon *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet antagoniste du champignon Aspergillus flavus sur la croissance mycélienne de 17 isolats de ce pathogène. Deux tests de confrontation sont réalisés, une confrontation directe et une autre indirecte sous l'effet des substances volatiles. Les résultats ont montré un effet significatif ($P<0.05$) sur la croissance mycélienne dans les deux tests. Le taux d'inhibition de *Aspergillus flavus* sur la croissance mycélienne du parasite varie entre 48,06 et 64,20%. L'effet des substances volatiles se traduit par un taux d'inhibition de croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* fluctuant entre 19,52 et 47,05%. Ces résultats montrent que *Aspergillus flavus* est une espèce possédant une capacité antagoniste intéressante et encourageante pour pouvoir l'intégrer dans la lutte biologique dans nos palmeraies, notamment dans les régions où ce pathogène est responsable de dégâts catastrophiques sur des palmiers contaminés par le Bayoud.

Mots clés : palmier dattier, Bayoud, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis, Aspergillus flavus*, antifongique, inhibition.

Introduction

La phoeniciculture constitue un élément essentiel dans le développement agro-économique des oasis (Bouguedoura *et al*., 2015). Globalement, il apparait que l´introduction de nouvelles méthodes de gestion et de conduite culturales, en faisant appel à des procédures biotechnologiques (croisement, amélioration, sélection, culture *in vitro*) est devenue plus que nécessaire pour le devenir de ce secteur (Sedra, 2003a). Parmi les obstacles redoutables, nous nous sommes intéressés surtout aux problèmes sanitaires, et particulièrement à la maladie du bayoud, qui reste un intérêt d´actualité, dont les menaces sont graves et parfois insurmontables (Djerbi, 2003).

Le Bayoud, flétrissement vasculaire provoqué par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (*Foa*), est considéré comme une affection fongique la plus destructive dans les palmeraies marocaines et algériennes cultivées avec des variétés sensibles, á l´exemple Bouskri, Majhoul, Boufeggous et Deglet Nour, variétés très appréciées pour ses caractéristiques productives et organoleptiques (Sedra, 2005a,b ; Djerbi, 2003). Depuis sa première apparition, qui remonte à plus d'un siècle, dans les palmeraies marocaines où il á été enregistré la disparition de plus de 12 millions de palmiers (Djerbi, 2003). Sa progression ne cesse d'avancer de l´ouest vers les palmeraies du centre et de l´Est algérien (Djerbi, 2003). En l´absence d´une estimation actualisée des dernières années, les pertes signalées dès l´année 2003 (Djerbi, 2003), estimée à plus de 3 millions de palmiers sont en nette évolution, surtout que plusieurs régions indemnes par le passé sont reconsidérées comme contaminées par le Bayoud (Essarioui et Sedra, 2017). Le Bayoud représente une menace sur non seulement les meilleures variétés commerciales de renommée mondiale,

mais aussi il a contribué à accentuer le phénomène de désertification et à l'exode des phoeniciculteurs vers les grands centres urbains (Bouguedoura *et al*., 2015).

Les mesures prophylactiques proposées ne semblent pas en mesure d´arrêter sa progression, surtout que les données épidémiologiques sont à la faveur d´une dissémination progressive de cette maladie, mais ces mesures sont importantes pour protéger les palmeraies indemnes de sud-est algérien (Benzohra *et al*., 2017). La lutte génétique par l'utilisation des variétés résistantes apparaît donc un autre moyen prometteur pour diminuer les dégâts causés par cette contrainte, mais malheureusement tous les cultivars résistants au Bayoud, ont des caractéristiques alimentaires médiocres (Sedra, 2005b). Pour cela, la lutte biologique par l'utilisation des microogranismes reste le meilleur moyen pour combattre cette menace dans les palmeraies algériennes et marocaines (El-Hassni *et al*., 2007 ; Jaiti *et al*., 2006 ; Jaiti *et al*., 2008 ; Dihazi *et al*., 2012). Ce travail a le but pour chercher les potentialités antagonistes du champignon saprophyte d'*Aspergillus flavus* sur la croissance mycélienne de 17 isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, originaires du sud ouest algérien.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel fongique

2.1.1. Isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*

Dix-Sept (17) isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa) utilisés dans cette étude d'origines différents: Quatre (04) isolats de la région de Ghardaïa proviennent d'isolement effectués sur des échantillons de rachis du palmier dattier présentant des symptômes du Bayoud, Douze (12) souches fournies par CRSTRA (Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides, Biskra), une (01) souche originaire du Maroc fournie par le Laboratoire de Biotechnologie et Physiologie Végétale, Faculté des Sciences de Semlalia, Université Cadi Ayyad de Marrakech, Maroc (Tableau 01).

2.1.2. Souche d'*Aspergillus flavus*

Cette souche a été fournie par la banque mycologique du centre de recherche CRSTRA (Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides, Biskra.

2.2. Milieu de culture

Le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar), est le milieu usuel de culture pour la plupart des champignons (Oei, 2005). Sa composition pour un (01) litre est la suivante:

- 200 g de pomme de terre ;
- 20 g de Glucose ; (Oei, 2005)
- 20 g de Agar Agar ;
- pH= 5,0 à 5,7

Pour préparer ce milieu, il faut stériliser toutes ces compositions à l'autoclave à 121 °C pendant 15mn à une pression de 1,2 bar, puis laisser refroidi jusqu'à 55 °C pour éviter la condensation de vapeur; Distribuer dans des boîtes de pétri stériles, de 9 cm de diamètre, à raison de 20 ml par boîte (Oei, 2005).

Tableau 01: Isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa) avec leur origine.

Isolats de Foa	Localisations	Communes
Foa 01	Béchar	Béchar
Foa 02	Béchar	Igli
Foa 03	Béchar	Béni Abbès
Foa 04	Béchar	Tabelbella
Foa 05	Timimoune (w. Adrar)	Telmine
Foa 06	Timimoune (w. Adrar)	Charouine
Foa 07	Timimoune (w. Adrar)	Ouled Said
Foa 08	Timimoune (w. Adrar)	Tinerkouk
Foa 09	Adrar	Tililane
Foa 10	Adrar	Ouled Ahmed Timi
Foa 11	Adrar	Reggane
Foa 12	Adrar	Inzeghemir
Foa 13	Ghardaïa	Atteuf
Foa 14	Ghardaïa	Atteuf
Foa 15	Ghardaïa	Ghardaïa
Foa 16	Ghardaïa	Ghardaïa
Foa 17	Errachidia (Maroc)	Errachidia

Foa : *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*

2.3. Test d'antagonisme

2.3.1. Test de confrontation directe

Par l'utilisation de la méthode de Howell (2003), on évalue l'action inhibitrice de *Aspergillus flavus* sur la croissance mycélienne de *Foa*. Nous disposons dans des boîtes de Pétri contenant 15 ml de milieu de CDA, diamétralement opposés, deux explants (5 mm de diamètre) issus de colonie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (*Foa*) et de l'antagoniste (Figure 1). Quatre répétitions sont réalisées. Les témoins sont constitués de colonies de *Foa* dans des boites de Pétri sans antagoniste. La croissance mycélienne des isolats de *Foa* est évaluée par la mesure du rayon des colonies pendant 7 jours.

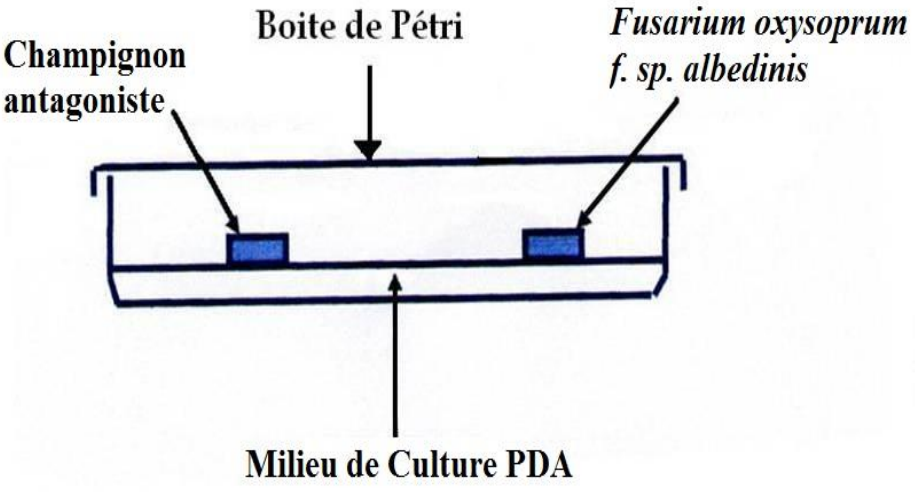


Figure 1: Technique de confrontation directe.

2.3.2. Test de confrontation indirecte

Cette technique consiste à déposer au centre de chaque boîte de Pétri contenant le milieu de culture PDA, un explant de 5mm de diamètre prélevé à partir de colonies de *l'antagoniste Aspergillus flavus* et *Foa*. La partie inférieure contenant l'antagoniste est scellé avec une autre contenant le pathogène, par une bande de para film de façon à éviter toute contamination et toute perte de gaz (Figure 2), (Camporota, 1985). Quatre répétitions sont faites avec un témoin non traité.

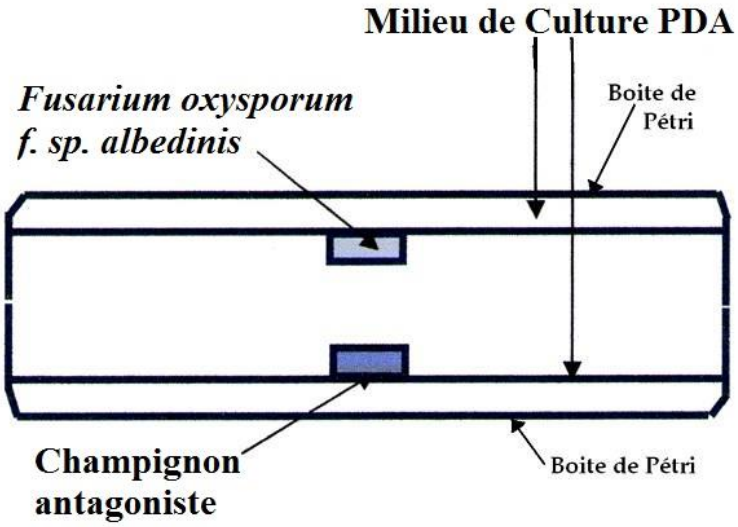


Figure 2: Technique du test des substances volatiles **(**Confrontation indirecte).

2.3.3. Evaluation de la croissance mycélienne

Pour estimer la croissance mycélienne, la technique utilisée est celle indiquée par Rapilly (1968). Cette méthode consiste à mesurer la croissance mycélienne linéaire journalière des colonies jusqu'au septième jour, selon la formule suivante:

$$L = (D - d) / 2$$

L : Croissance mycélienne (mm).

D : Diamètre de la colonie (mm).

d : Diamètre de l'explant (5mm).

Les moyennes de croissance mycélienne sont calculées par la formule suivante :

$$V(mm/j) = \sum (Ln - Ln\text{-}1) / n$$

V : Vitesse de croissance mycélienne (mm/j),

Ln , Ln-1 … Croissances mycéliennes pendant le jour n.

Le taux d'inhibition (%), est calculé comme suit :

$$TI\ (\%) = (Lt - L) \times 100 / Lt$$

TI : Taux d' inhibition (%).

Lt : Croissance mycélienne journalière du témoin.

L : Croissance mycélienne journalière des isolats de *A. rabiei* en présence *d'Aspergillus flavus.*

2.4. Analyse statistique

Le dispositif utilisé est une randomisation totale unifactorielle et comparaison non paramétrique de K échantillons. L'étude de la signification est effectuée avec le test de Kruskal-Wallis à 5% ($P<0.05$). L'analyse a été faite à l'aide du logiciel XLStat 2009.1.02, (AddinSoft, Etats-Unis). Le facteur étudié est l'antagonisme, l'observation est les souches de Foa et l'unité expérimentale est la croissance mycélienne.

3. Résultats

3.1. Test de confrontation directe

L'analyse statistique a révélé un effet significatif ($P<0.05$), une différence remarquable de croissances mycéliennes des isolats de Foa confrontés avec *Aspergillus flavus* par rapport au témoin, avec une création d'une zone d'inhibition a arrivé jusqu'à 3cm de distance chez certains isolats (Figure 3).

Aspergillus flavus a montré un taux d'inhibition (%) varie entre 48,06 et 64,20% (Figure 3), selon l'isolat. Quatorze (14) isolats (Foa01, Foa02, Foa03, Foa05, Foa06, Foa09, Foa10, Foa11, Foa12, Foa13, Foa14, Foa15, Foa16 et Foa17), ont montré un taux d'inhibition très élevé et dépassant les 50%, par rapport aux trois (3) autres isolats (Foa04, Foa07 et Foa08), qui ont montré un taux inférieur à 50% (Figure 4).

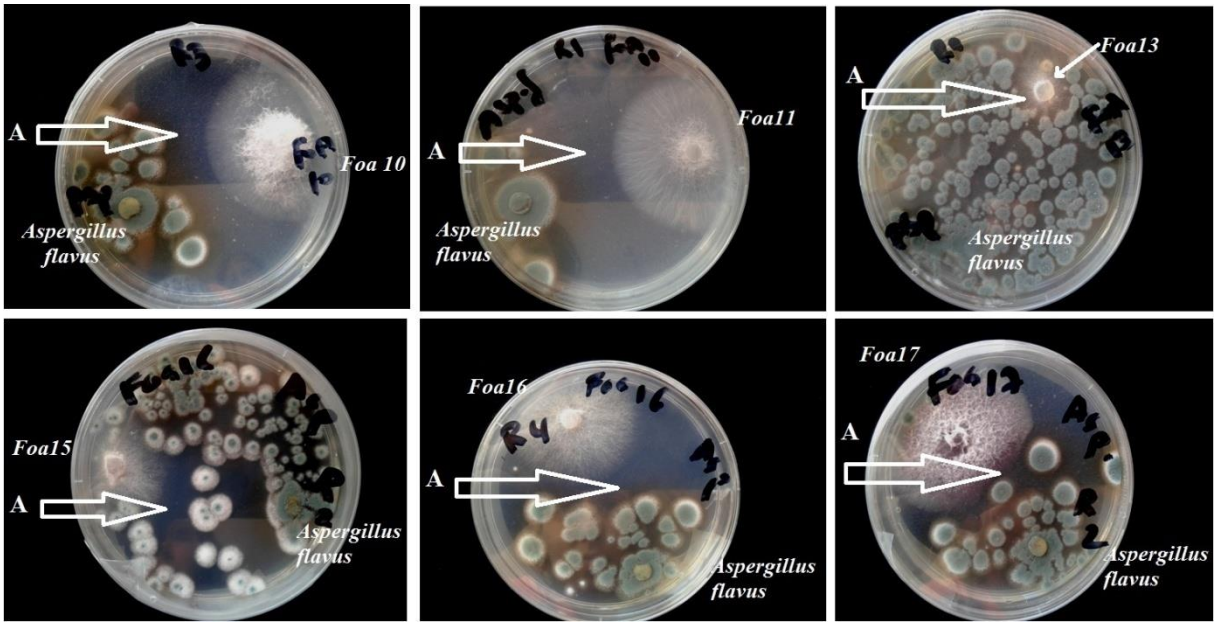


Figure 3: Croissance mycélienne de *Foa* confronté directement avec *A. flavus*. A : Formation d'une zone d'inhibition.

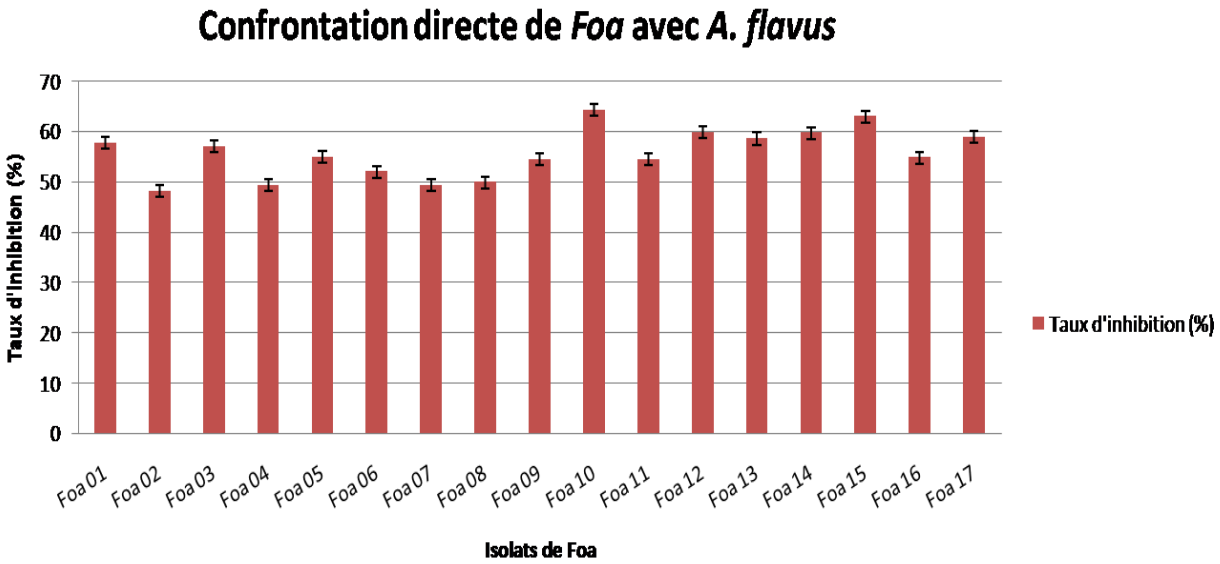


Figure 4: Taux d'inhibition de croissance mycélienne des isolats de Foa sous l'effet direct d'*A. flavus*.

3.2. Test de confrontation indirecte

L'analyse statistique a révélé un effet hautement significatif (P<0.05), il existe une différence au niveau de l'effet des substances volatiles sur la croissance mycélienne des isolats de Foa confrontés indirectement avec *Aspergillus flavus* par rapport au témoin (Figures 05 et 06). Le champignon *A. flavus,* a montré un taux d'inhibition (%), sous l'effet des substances volatiles, varie entre 19,52 et 47,05%, selon l'isolat (Figure 06).

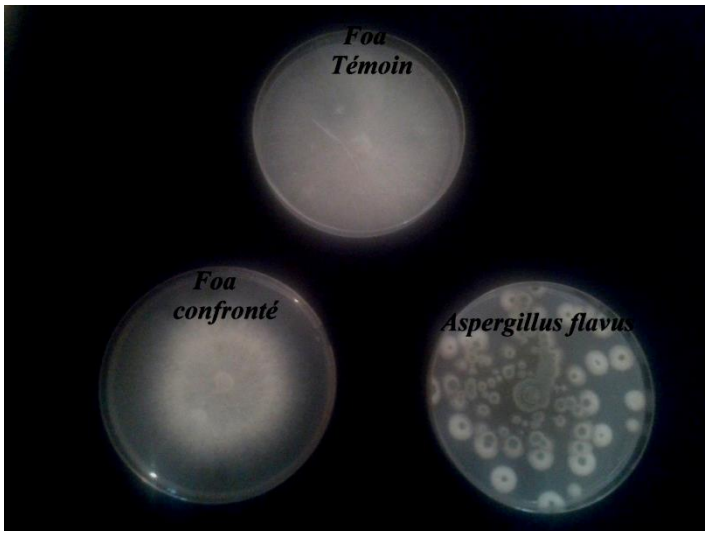


Figure 4: Croissance mycélienne de *Foa* sous l'effet des substances volatiles d'*A. flavus*.

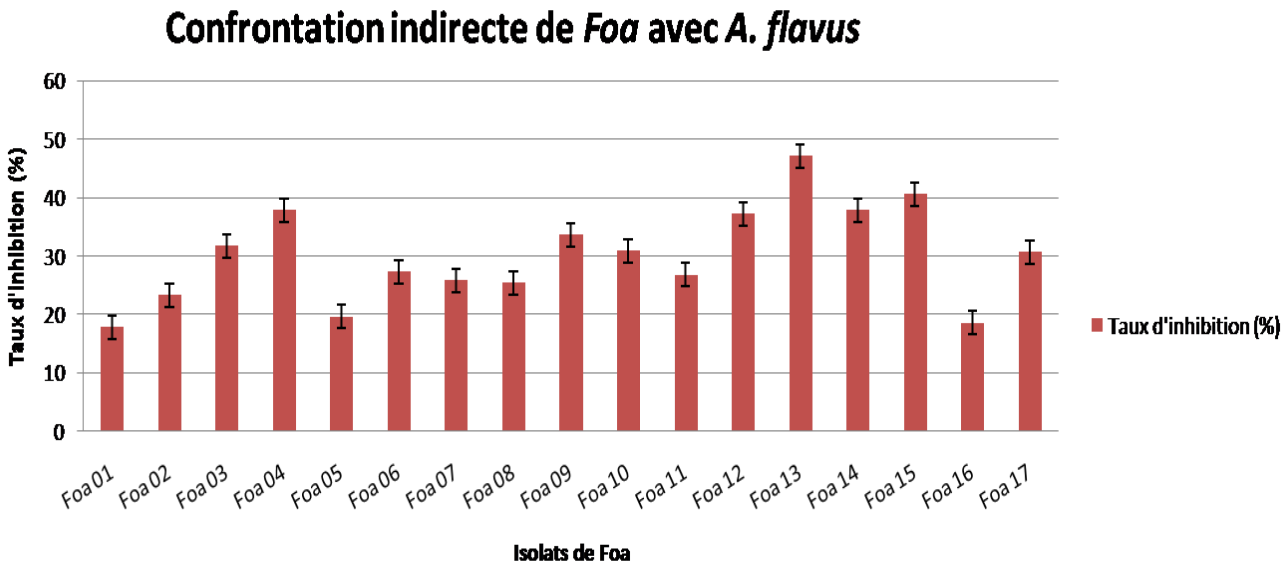


Figure 5: Taux d'inhibition de croissance mycélienne des isolats de *Foa* sous l'effet des substances volatiles d'*A. flavus*.

4. Discussion

Le potentiel des microoganismes comme agents de lutte biologique contre les maladies des plantes a été identifié pendant plusieurs années (Howell, 2003). Pendant des années, l'antagonisme a été étudié pour beaucoup de maladies des plantes (Wells *et al*., 1972 ; Elad et Kapat, 1999 ; Harman, 2000 ; Hibar *et al*., 2007 ; El-Hassni et al., 2007 ; Kuçuk *et al*., 2007 ; Dawidziuk *et al*., 2016).

La confrontation directe et indirecte entre *Aspergillus flavus* et l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa) a mis en évidence des réductions significatives de la croissance mycélienne du *Foa* par rapport au témoin, et ce avec tous les isolats utilisés. Cette réduction a été représentée par le taux d'inhibition de croissance mycélienne. Dans la confrontation directe, ce taux varie entre 48,06 et 64,20%. La confrontation indirecte sous l'effet des substances volatiles, a montré un taux d'inhibition varie entre 19,52 et 47,05%.

Hibar *et al.* (2007) ont signalé que *T. harzianum* a pu montrer un taux d'inhibition de croissance mycélienne varie 70 et 76% de *Fusarium oxysporum f. sp. radici-lycopersici*, agent du flétrissement vasculaire de tomate (*Lycopersicum esculentum* L.). Tandis que Boughedid et Filali (2015) ont rapporté un taux d'inhibition de croissance mycélienne par *T. harzianum* varie entre 50 et 57% sur *Fusarium graminearum*, agent de fusariose de l'orge (*Hordum vulgare* L.). Sidaoui *et al*. (2018) ont rapporté que *Trichoderma longibrachiatum* a un taux d'inhibition de 63% sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent du Bayoud du palmier dattier. Ces deux derniers résultats sont plus proches avec ceux obtenus dans nos tests sur *A. flavus*.

Le champignon *Aspergillus* spp. aurait certaines propriétés antagonistes contre plusieurs champignons phytopathogènes (Getha *et al.,* 2005 ; Hibar et al., 2007). Adebola et Amadi (2010) ont confirmé l'activité antifongique d'*A. flavus* dans leur étude sur le développement *Phytophthora palmivora*, agent de pourritures noires de Cacao. Nos résultats ont confirmé cette potentialité antifongique contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.

5. Conclusion

Cette étude consistait chercher les potentialités antifongiques d'*Aspergillus flavus* sur la croissance mycélienne de 17 isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa), agent responsable de la maladie de Bayoud du palmier dattier. Ce test d'antagonisme était effectué par l'utilisation de deux essais, confrontation directe et à distance (indirecte), sous l'effet des substances volatiles.

Les résultats ont confirmé l'effet antagoniste de *Aspergillus flavus* sur le développement de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Des différences significatives ($P<0.05$), ont été observées dans les deux tests réalisés, confrontation directe et indirecte.

Cette étude d'approche de lutte biologique a montré l'effet important de ces champignons antagonistes testés sur le Foa. Ces résultats obtenus *in vitro* doivent être confirmés par des tests *in situ* sur sol, surtout dans les palmeraies contaminées par le Bayoud avec actuellement l'absence de cultivars résistants (Djerbi, 2003; Bouguedoura *et al*., 2015).

6. Références bibliographiques

- Adebola MO, Amadi JE (2010). Screening three *Aspergillus* species for antagonistic activities against the cocoa black pod organism (*Phytophthora palmivora*). Agriculture and Biology Journal of North America 1(3): 362-365.

- Benzohra IE, Megateli M, Elayachi BA, Zekraoui M, Djillali K, Bouafia A, Benouis S, Benaziza A, Rekis A (2017). Integrated management of Bayoud disease on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* in Algeria. J. Alg. des Reg. Arides 14: 93-100.

- Boughedid K, Filali M (2015). Isolement et identification des champignons antagonistes des champignons phytopathogènes de l'orge. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri de Constantine, 67p.

- Bouguedoura N, Bennaceur M, Babahani S, Benziouche SE (2015). Date palm status and perspective in Algeria. Chapter 4 in Book : J.M. Al-Khayri *et al.* (eds.), *Date Palm Genetic Resources and Utilization: Volume 1: Africa and the Americas*, DOI 10.1007/978-94-017-9694-1_4

- Camporota P (1985). Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. Vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kühn. Agronomie: 05 (7) : 613-620.

- Dawidziuk A, Popiel D, Kaczmarek J, Strakowska J, Jedryczka M (2016). Optimal *Trichoderma* strains for control of stem canker of brassicas: molecular basis of biocontrol properties and azole resistance. Biocontrol 61: 755-768.

- Dihazi A, Jaiti F, Taktak W, Olfakilani F, Jaoua S, Driouich A, Baaziz M, Daayf F, Serghini M (2012) Use of two bacteria for biological control of bayoud disease caused by ***Fusarium oxysporum*** in date palm (***Phoenix dactylifera*** L) seedlings. Plant Physiology and Biochemistry 55 : 07-15. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.03.003

- Djerbi M (2003). *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedini*. OEPP/EPPO Bulletin, 33 : 245–247.

- El-Hassni M, El-Hadrami A, Daayf F, Cherif M, Ait Barka E, El-Hadrami I (2007) Biological control of bayoud disease in date palm: Selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense reactions. Envir. Exp. Bot. 59: 224-234.

- Elad Y, Kapat A (1999). The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. European Journal of Plant pathology 105: 177-189.

- Essarioui A, Sedra My H (2017). Lutte contre la maladie du bayoud par solarisation et fumigation du sol. Une expérimentation dans les palmeraies du Maroc. Cah. Agric. 26: 45010.

- Getha K, Vikineswary S, Wong WH, Seki T, Ward A, Goodfellow M (2005). Evaluation of Streptomyces sp. for suppression of Fusarium wilt and rhizosphere colonization in pot grown banana plantlets. Journal of Microbiology and Biotechnology 32 : 24–32.

- Harman GE (2000). Myths and dogmas of biocontrol : changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease 84: 377-393.

- Hibar K, Daami-Remadi M, El Mahjoub M (2007). Effets de certains fongicides de synthèse et biologiques sur la croissance mycélienne et l'agressivité de *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*. Tropicultura 25 (3): 146-152.

- Howell CR (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant Disease 87: 04-10.

- Jaiti F, Meddich A, El Hadrami I (2006). Effect of arbuscular mycorrhization on the accumulation of hydroxycinnamic acid derivatives in date palm seedlings challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Polyphenols Communications, 22–25 August 2006, Winnipeg, MB, 2006, pp. 349–350.

- Jaiti F, Kassami M, Meddich A, El Hadrami I (2008). Effect of Arbuscular Mycorrhization on the Accumulation of hydroxycinnamic acid derivatives in date palm seedlings challenged with Fusarium oxysporum f. sp. albedinis. Journal of Phytopathology, 156 (11-12): 641–646.

- Kuçuk C, Kivanç M, Kinaci E, Kinaci G (2007). Efficacy of *Trichoderma harzianum* (Rifaii) on inhibition of ascochyta blight disease of chickpea. Annals of Microbiology 57: 665-668.

- Oei P (2005). La culture des champignons à petite échelle : pleurotes, shiitakes et auriculaires. Wageningen, Pays-Bas : Fondation Agromisa, CTA.

- Rapilly F (1968). Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Ann Épiphyt., 19 (n° HS): 102p.

- Sedra MyH (2005a). La maladie du Bayoud du palmier dattier en Afrique du Nord : Diagnostic et caractérisation. Actes du Symposium International sur le Développement Durable des Systèmes Oasiens. Maroc. pp : 26-34.

- Sedra MyH (2005b). Caractérisation des clones sélectionnés du palmier dattier et prometteurs pour combattre la maladie du Bayoud. Actes du Symposium International sur le Développement Durable des Systèmes Oasiens. Maroc. pp :72-79.

- Sidaoui A, Noureddine K, Anis B, Younes E, Sadika H, Bouchra O, Said B, Mostafa C, Mebrouk K (2018). Pathogenicity and biological control of Bayoud disease by *Trichoderma longibrachiatum* and *Artemisia herba-alba* essential oil. J. App. Pharm. Sci. 08(04): 161-167.

- Wells HD, Bell DK, Jaworski CA (1972). Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology 62: 442-447.

Eude de sex-ratio chez *Dociostaurusmaroccanus* (Thunb., 1815) (*Orthoptera*, *Acrididae*) à l'état grégaire

A. Chaouch [1]& B. Doumandji-Mitiche[2]
[1] Université de Médéa, Algérie, chaouch69@gmail.com.
[2] ENSA, El Harrach, Alger, doumandjimitiche@yahoo.fr

Résumé
Ce travail a été concrétisé dans la région de Marhoum (Sidi Bel Abbes), au niveau de 08 stations ayant connue une forte activité par des populations de criquet marocain à l'état grégaire. Pour cette étude, nous avons récolté aléatoirement les individus à l'aide d'un filet fauchoir en vue de leurs comptages et calculer le pourcentage des mâles par rapport aux femelles. Au niveau de chaque site, nous avons capturé 100 individus avec 5 répétitions, et nous avons noté le nombre des mâles et le nombre des femelles. L'étude de sex-ratio chez des populations grégaires de criquet marocain montre que le nombre de mâles est supérieur aux nombre de femelles dans la plupart des sites échantillonnés. En effet, nous avons trouvé dont le moyen un taux de 44% de mâles pour 56% de femelles.

Mots clés : *Dosiostaurusmaroccanus,* criquet marocain, sexe-ratio, Biologie, Marhoum.

Introduction

Le Criquet marocain (*Dociostaurusmaroccanus*Thumb 1815) est une espèce acridienne grégariapte, appartenant à la famille des *Acrididae*, sous-famille des *Gomphocerinae*. Ilest connu pour les importants dégâts provoqués durant les périodes de fortes pullulations, dans les pays du pourtour méditerranéen tel que l'Algérie et en Asie mineure. En Algérie, l'aire de répartition du Criquet marocain est très grand, il est présent dans les étage climatiques sub-humides et semi-arides, notamment les hauts plateaux où la pluviométrie est comprise entre 250 et 400 mm/an. PASQUIER, 1937 a circonscrit la majorité de ces zones grégarigènes.

Considérant l'importance économique de cet acridien nous avons entrepris l'étude de sex-ratio chez le criquet marocain à l'état grégaire pour savoir le taux des mâles par rapport des femelles.

Matériels et méthodes

a) Choix des stations :

Pour la réalisation de cette étude, nous avons choisis en Mai 2010, 08 stations, abritant des zones potentielles de reproduction de *D. maroccanus*.

Ce sont des foyers classiques grégarigènes de cet acridien ayant enregistré de fortes activités de populations grégaires. Cette activité résulte des conditions éco-météorologiques particulièrement favorables notamment en 2010.

Les 08 sites choisis, sont située au niveau de la région de Marhoum, de la Wilaya de Sidi Bel Abbes située aux points géographiques : (fig. 01)

Station 1 : 34 28 53 N 00 17 04 W **Station 2 :** 34 28 40 N 00 16 59 W
Station 3 : 34 29 03 N 00 17 33 W **Station 4 :** 34 28 54 N 00 18 25 W
Station 5 : 34 28 25 N 00 18 11 W **Station 6 :** 34 28 34 N 00 18 52 W
Station 7 : 34 29 40 N 00 18 41 W **Station 8 :** 34 29 44 N 00 19 02 W

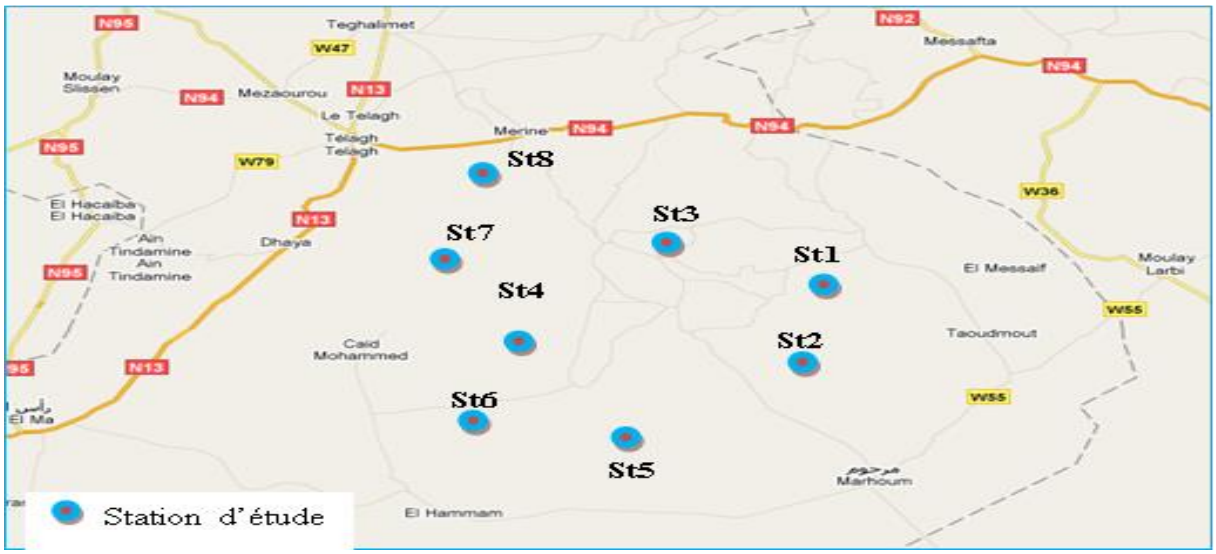


Fig.1 : Localisation des stations d'étude desex-ratio chez le criquet marocain dans la région de Marhoum

b) Méthode d'échantillonnage des acridiens

Pour l'étude de sexe ratio, nous avonschoisi la méthode de SHULL (1913) in UVAROV (1977). C'estuneméthode simple qui consiste à récolteraléatoirement les individus à l'aide d'un filet fauchoirenvue de leurscomptagesetcalculer le pourcentage des mâles par rapport aux femelles. Au niveau de chaque site, nous avonscapturé 100 individus avec 5 répétitions, et nous avonsnoté le nombre des mâles et le nombre des femelles. Par la suite nous avonscalculé le pourcentage de mâles et les femellessuivant la formule :

$$\text{\% des mâles ou femelles} = \frac{\text{Nbre des mâles ou femelles}}{\text{Nbre total dénombré}} \times 100$$

Résultats et discussions

Résultats

D'après le tableau 1, et la figure 2, sur le sex-ratio de *D. maroccanus*, nous avons constaté que le pourcentage des femelles est plus élevé par rapport aux mâles chez le criquet marocain dans sa phase grégaire dans les huit sites étudiés, respectivement 56% et 44%.

Sur l'ensemble des sites, nous avons remarqué uniquement trois sites (1, 5 et 6), où le pourcentage des mâles est légèrement supérieur par rapport au pourcentage des femelles qui est respectivement : 57% mâles et 43% femelles, 61% mâles et 39% femelles et 54%mâles devant 46% femelles.

Au niveau des sites 2, 3, 7 et 8, la différence est très nette, le pourcentage des femelles dépasse largement le pourcentage des mâles notamment au niveau de 3ème site où nous avons trouvé 28% de mâles devant 72% de femelle.

Tableau 1 : Pourcentage des mâles par rapport aux femelles d'une population grégaire de *Dociostaurusmaroccanus* :

N° site	% Mâles	% Femelles
1	57,33	42,67
2	34,25	65,75
3	28,12	71,88
4	46,66	53,34
5	61,26	38,74
6	54,12	45,88
7	33,26	66,74
8	34	66
Moyenne	**43,625**	**56,375**

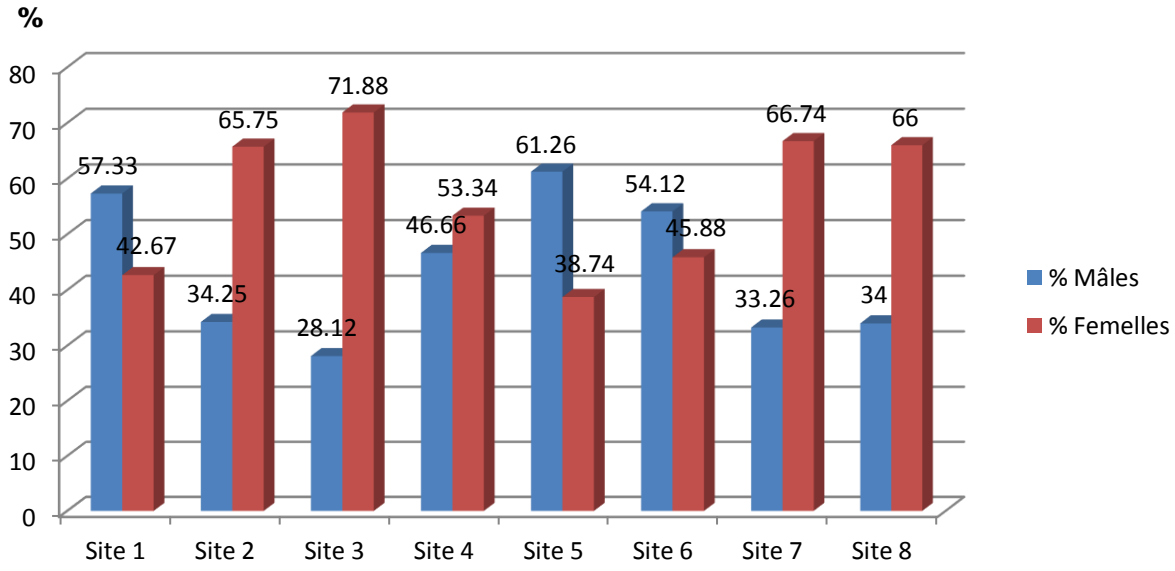


Fig. 2 : Sex-ratio chez criquet marocain

Analyse statistique : (SYSTAT version 7.0)

L'analyse de la variance selon le model GLM (tableau 2) appliqué aux pourcentages des mâles et des femelles d'une population grégaire de *D maroccanus* dans les différents sites d'étude, a montré que malgré la différence entre le taux des mâles et par rapport aux femelles qui apparait dans le tableau 2, cette différence est non significative entre les deux sexe, car le p=0.214, il est > 0.05. Egalement l'analyse a montré qu'il n ya pas de différence significative entre les 08 sites d'étude.

Tableau 2 : Pourcentages des mâles et des femelles d'une population grégaire de *D.maroccanus* dans les différents sites d'étude :

Source	Sum-of-Squares	dfMean-Square	F-ratio	P
SITE	0.438	7	0.063	0.000	1.000
SEXE	612.562	1	612.562	1.872	0.214
Error	2290.938	7	327.277		

Les résultats représentés dans la figure (3) montrent que le sex-ratio du criquet marocain est presque similaire au niveau des 08 sites d'échantillonnage. Alors que le pourcentage des mâles par rapport aux femelles varie sensiblement en fonction des sexes.

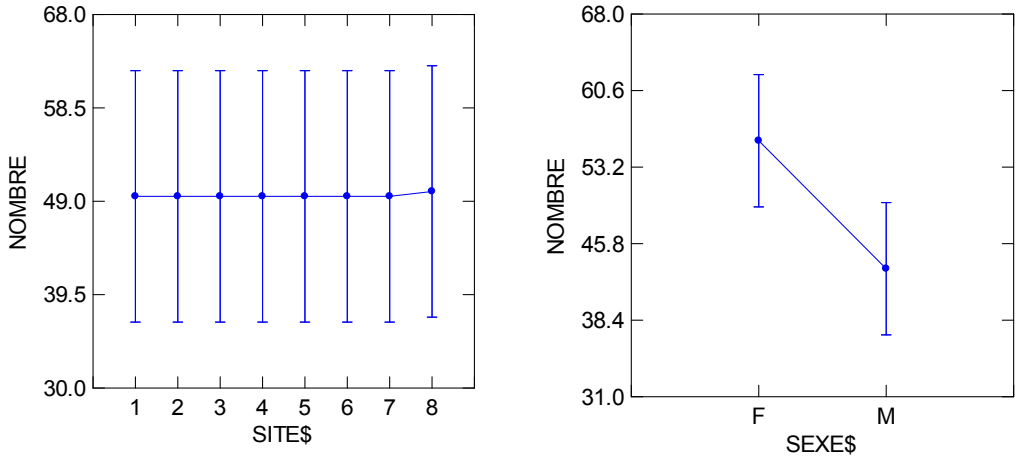


Figure 3 : Sex-ratio chez criquet marocain aux niveaux des sites d'études

Discussions

Selon CHAPMAN et JOERN (1990), le sex-ratio d'une grande variété d'espèces d'Acrididae est conforme à l'équilibre entre mâles et femelles. Cependant, ces auteurs reconnaissent que lesujet a été peu exploré.

Notre étude de sex-ratio des populations grégaire de criquet marocain montre que le nombre de mâles est supérieur aux nombre des femelles dans la plus part des sites échantillonné, car nous avons trouvé dont le moyen un taux de 44% de mâles pour 56% de femelles.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par SVIRIDENKO (1924) et WATERSTON in UVAROV *et al.*, (1922) ; TOKGAÏEV (1966), respectivement 55 % de mâles pour 45 % de femelles et 61 % pour 39 %, car ils ont montré qu'en période d'accouplement, les mâles de criquet marocain sont souvent plus nombreux que les femelles. Se qui indique les populations étudiées étaient en période d'accouplement se que nous avons remarqué le terrain.

LATCHININSKY et LAUNOIS-LUONG (1992) notent par contre presque le même nombre de mâles que de femelles au début de la vie imaginale. Aux premières pontes, ils ont obtenu au cours de ses échantillonnages 48 %, 50 % puis 41 % de femelles. Ces pourcentages deviennent 25 %, puis 17 % aux dernières pontes, à cause sans doute d'une mortalité différentielle. Les observations de SAFAROV (1963) indiquent que la proportion des femelles est toujours inférieure à celle des mâles, surtout pendant les années défavorables au Criquet marocain. Dans ce cas, la proportion des femelles est de 18 à 27 % même au début de la vie imaginale. Cependant, selon cet auteur, les œufs déposés durant les saisons propices, produiront une proportion élevée des femelles (de 35 à 42 %).

Conclusion

L'étude de sex-ratio chez des populations grégaire de criquet marocain montre que le nombre mâles est supérieur aux nombre des femelles dans la plus part des sites échantillonné, car nous avons trouvé dont le moyen un taux de 44% de mâles pour 56% de femelles.

Référence bibliographique

CHAPMAN R. F. and JOERN A., 1990 – *Biology of grasshoppers*, Ed. JOHM WILEY and SOHS, New York, 563 p.

LATCHININSKY A.V., et LAUNOIS-LUONG M. H., 1992 – *Le Criquet marocain*, Dociostaurusmaroccanus*(Thunberg, 1815), dans la partie orientale de son aire de distribution. Etude monographique relative à l'ex-URSS et aux pays proches*. – CIRAD-GERDAT-PRIFAS : Montpellier / VIZR : Saint-Pétersbourg, 270 p.

PASQUIER R., 1937 – Le criquet marocain en Algérie. Les recherches scientifiques récentes et leur répercussion sur la lutte rationnelle. *Agrid., n°53. 1-14.*

SAFAROV A.A., 1963 – L'état actuel des foyers du croquet marocain (*Dociostaurusmaroccanus*Thunb.) en Asie Centrale, leur dynamique et leurs relation avec les foyers des pays limitrophes. IN : Ve Conférence de la Société entomologique de l'URSS (Résumés des communications). Moscou/Leningrad. 115-116 pp.

SVIRIDENKO P.A., 1924 – Observation biologique sur le criquet marocain. IzdanieSevernoïOblastnoïStantsyiZastchityRastenii. Petrograd. 64 p.

TOKGAÏEV T., 1966 – Le criquet marocain en Turkménie. – Editions Turménistan : Ashkhabad. 219 p.

UVAROV B.-P., 1922 – A revision of the genus *Locusta*L. (= *Pachytilus*Fieb.), with a new theory as to the periodicity and migrations of locusts. *Bulletin of. Entomological Research*., 12(2) : 135-163.

UVAROV B.P., 1977 – Grasshopers and Locusts. *A Handbouk of general cridology. Vol. 2. CambridgeUniv. Press, 613 p.*

Effet des différents substrats et sous produits alimentaires sur l'activité glutaminasique d'un extrait de culture bactérienne isolée du site Touristique TIKDJDA Wilaya de BOUIRA

Hamenni Kahina[1] et Chergui Achour[2]

[1]Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Bouira.

[2]Laboratoire de Biochimie Analytique et de Biotechnologies (Unité de recherche LABAB) Université de Tizi-Ouzou.

Tel : 0792183468

Hamennikahina@gmail.com

Résumé

La L-glutaminase est une amidohydrolase produite par divers microorganismes comprenant les bactéries, les levures et les champignons. Elle est actuellement utilisée dans le traitement de la leucémie aigue lymphoblastique (LAL), le traitement de syndrome de l'immunodéficience humaine SIDA/HIV et comme agent améliorant le goût lors de la fermentation de la sauce de soja. Bien que l'activité L-glutaminase ait été rapportée dans divers microorganismes, la L-glutaminase chez les actinomycètes est très rares. Dans ce présent travail, deux souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38) isolées à partir du sol, ont fait l'objet d'un screening de l'activité L-glutaminase sur milieu MGA (milieu minimum à base de glutamine). Ensuite, les activités enzymatiques des glutaminases produites ont été dosées par une réaction colorimétrique en utilisant le réactif de Nessler. La souche SH 38 a montré une activité enzymatique plus importante (211UI) par rapport à la souche SH 32 (170UI).

Enfin, la production de la L-glutaminase par les deux souches étudiées a été optimisée en utilisant différents substrats et sous-produits agroalimentaires comme source de carbone et d'azote dans le milieu de culture. L'amidon, les caséines et la peptone se sont révélés comme étant les meilleures sources de carbone et d'azote respectivement pour la croissance des souches et la production de la L-glutaminase et le son d'orge s'est montré comme étant le meilleur sous produit agroalimentaire permettant la croissance et la production de la L-glutaminase par les souches de *Streptomyces*.

Mots clés : L-glutaminase, *Streptomyces*, sol, screening, Nessler, optimisation.

1. Introduction

La L-glutamine est l'acide aminé non-essentiel le plus abondant dans le plasma humain. Après avoir été transporté dans les cellules, la L-glutamine agit comme précurseurs pour la synthèse de nombreux acides aminés non-essentiels, des protéines, des nucléotides, et d'autres molécules biologiquement importantes, et fournit le NADPH (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate) et GSH (Glutathion) pour maintenir l'homéostasie redox. Ainsi, cet acide aminé joue un rôle essentiel dans la croissance des cellules en prolifération.

Au cours de ces dernières années, la L-glutamine a beaucoup attirée l'attention des chercheurs en raison de l'augmentation et de la rapidité de sa consommation par la plupart des cellules cancéreuses par rapport aux cellules normales. C'est pour cela, la privation de ces cellules en glutamine en utilisant des amidases s'est révélée efficace pour supprimer la croissance de ces dernières (Chen et Cui, 2015).

La L-glutaminase peut provoquer la dégradation de la L-glutamine et peut donc être le candidat possible pour la thérapie enzymatique (Unissa et al., 2014).

Divers microorganismes, notamment différentes espèces d'actinomycètes sont reconnus par leur production d'une large variété de structures chimiques dont plusieurs sont les produits pharmaceutiques les plus précieux comme les enzymes (Teja et al., 2014).

Les actinomycètes sont un groupe de microorganismes procaryotes Gram positifs, avec un coefficient de Chargaff (GC) supérieur à 55% ; elles sont universellement répandues dans presque tous les écosystèmes, avec toutefois une préférence pour les sols grâce à leurs capacités d'adaptation aux différentes conditions environnementales et leurs variabilités métaboliques. Malgré la lenteur de leur croissance, leur aptitude considérable à produire de nombreuses substances métaboliques leur confère un rôle essentiel dans la décomposition de la matière organique et le recyclage des éléments dans le sol (Abdallah et al., 2012).

Pour ces raisons, la recherche de nouvelles souches productrices de la L-glutaminase performante reste un domaine de recherche privilégié. A ce titre, notre étude porte sur une contribution à l'étude de la L-glutaminase produite par des souches d'actinomycètes et plus particulièrement par le genre *Streptomyces*.

Dans le présent travail, deux souches de *Streptomyces* isolées à partir d'échantillons de sol recueillis au site Tikjda (Bouira), ont fait l'objet d'un screening dans cette optique.

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel biologique

Deux souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38) isolées par M. CHERGUI et aimablement fournies par le Laboratoire de Biochimie Analytique et de Biotechnologies (Unité de recherche LABAB) de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

II.2. Méthodes

III.2.1. Revivification des souches de *Streptomyces*

Les souches de *Streptomyces* ont été isolées à partir de sol recueilli dans la région de Tikjda (Willaya de Bouira) puis ont été purifiés et ont été conservées à -20°C dans des cryotubes contenant le bouillon ISP2 **(**International Streptomyces Project 2) (Extrait de levure 4; Extrait de malte 10; D-glucose 4 (g/l)) additionné de 30% de glycérol stérile comme agent cryoprotecteur.

Afin de les revivifier, les deux souches de *Streptomyces* ont fait objet d'un ensemencement en stries sur deux boites de gélose ISP2, puis les boites de gélose ont été incubées à 28°C pendant 7 jours.

III.2.2. Préparation de l'inoculum

Des fragments mycéliens et des spores de chaque souche ont été prélevés à partir de la gélose ISP2 précédemment ensemencée. Puis, ils sont introduits dans deux flacons contenant de l'eau physiologique stérile.

Cet inoculum sert à ensemencer tous les milieux utilisés pour le screening et pour l'optimisation de la production de l'enzyme.

III.2.3. Screening de l'activité L-glutaminase (sur milieu solide)

L'activité L-glutaminase des souches a été évaluée sur le milieu MGA (Minimal Glutamine Agar Medium) (KCL 0,5; $MgSO_4$ 0,5; KH_2PO_4 1,0; $FeSO_4$ 0,1; $ZnSO_4$ 0,1; Na CL 0,5; la L-glutamine 10 (g/l)) contenant la L-glutamine comme seule source de carbone et d'azote et le rouge de phénol comme indicateur de pH.

Le virage de la couleur du milieu du jaune au rose est une indication quant à la production de la L-glutaminase par les souches bactériennes.

Le changement de la couleur est dû à une alcalinisation du milieu suite à l'hydrolyse de la L-glutamine par la L-glutaminase et la libération d'ammoniac (Abd-Alla, et al., 2013).

Une goutte de chaque suspension bactérienne a été prélevée à l'aide d'une pipette pasteur stérile, puis a été ensemencée en stries sur deux boites de gélose MGA, ensuite les boites de gélose ensemencées ont été incubées à 28°C pendant 7 jours.

III.2.4. Dosage de l'activité L-glutaminase

L'activité L-glutaminase a été déterminée en estimant la quantité d'ammoniac libérée suite à l'hydrolyse de L-glutamine par la L-glutaminase en utilisant le réactif de Nessler.

Le dosage a été effectué en se basant sur le protocole de (Rajan et al., 2015) et pour se faire, chaque une des deux souches de *Streptomyces* a été ensemencée dans 30 ml de bouillon MGA sans rouge de phénol, puis les deux bouillons ont été incubés à 28°C pendant 7 jours.

Après incubation, 10 ml de chaque culture bactérienne ont été centrifugées (à 10000 tour par minute pendant 30 minutes) et les surnageant (ou les extraits enzymatiques bruts) ont été récupérés. Ensuite, pour chaque culture bactérienne, un mélange de : 200µl de surnageant et 800µl de substrat (L-glutamine) préparé dans le tampon Tris 0.5M à pH7 a été préparé et puis complété avec de l'eau distillée jusqu'à un volume de 2 ml. Le tout a été incubé à 37°C pendant 30 min.

Après 30 min d'incubation, les réactions enzymatiques ont été arrêté par addition de 0.5 ml d'acide chlorhydrique (HCL) 1N ;

Enfin, à 0.2 ml de chaque mélange réactionnel, 10 ml d'eau distillée et 0.4 ml de réactif de Nessler ont été ajoutées. Après 10 min, la lecture des absorbances a été effectuée à 470nm contre le blanc.

Une UI d'activité L-glutaminase a été définie comme étant la quantité d'enzyme qui produit une µmole d'ammoniac, par minute, dans un ml d'extrait brut, et dans les conditions expérimentales mentionnées ci-dessus.

La courbe d'étalonnage a été réalisée avec une solution de sulfate d'ammonium ($(NH_4)_2SO_4$) à 10mM.

La concentration d'ammoniac a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage, et l'activité glutaminase est calculée d'après la relation suivante :

L'activité enzymatique (AE) (UI) = [NH4+] /Vez. Tinc

UI : unité international.

[NH4+] : la concentration des ions ammonium.

Vez : volume d'extrait enzymatique prélevé.

T incu : Temps d'incubation.

III.2.5. Optimisation de la production de la L-glutaminase

III.2.5.1. Méthode d'optimisation

Il est très connu que la production d'enzymes microbiennes est très influencée par la composition du milieu de fermentation (en particulier la source de carbone, d'azote et les sels minéraux), les facteurs physicochimiques (température, pH, oxygène dissous, densité d'inoculum) et par le temps d'incubation.

La méthode adoptée pendant notre étude préliminaire d'optimisation est la technique d'un facteur à la fois (*one factor at a time*), basée sur la variation d'un facteur alors que les autres sont gardés à des niveaux constants. Cette méthode permet d'évaluer l'effet individuel d'un paramètre et d'incorporer par la suite sa valeur optimale avant de passer à l'optimisation du paramètre suivant.

Cette stratégie présente l'avantage d'être simple et facile. Néanmoins, elle présente des limites du fait qu'elle ignore les interactions entre les paramètres, le temps consommé est important, les coûts élevés surtout en cas d'un grand nombre de variables, conduisant à une expérimentation étendue (Abd-Alla et al., 2013).

III.2.5.2. Effet des sources de carbone

La croissance des souches de*s Streptomyces* et la production de la L-glutaminase ont été évaluées sur la gélose MGA (modifiée), au pH optimum et à température optimale, en utilisant différentes sources de carbone à raison de 1% dans le milieu de culture. L'amidon et le glycérol ont été testés. Après incubation à 28°C pendant une semaine, l'activité enzymatique a été déterminée par le changement de la couleur de milieu (Mousumi et Dayanand, 2013).

III.2.5.3. Effet des sources d'azote

La croissance des souches de *Streptomyces* et la production de la L-glutaminase ont été évaluées sur la gélose MGA (modifiée), au pH optimum et à température optimale, en utilisant différentes sources d'azote à raison de 1% dans le milieu de culture. Les caséines, l'extrait de levure, l'extrait de malt, la peptone, le tryptone ont été testés. Après incubation à 28°C pendant une semaine, l'activité enzymatique a été déterminée par le changement de la couleur de milieu (Abd-Alla et al., 2013).

II.2.5.4. Effet des sous-produits alimentaires en guise de valorisation

L'objectif de cette étape est l'optimisation de la production de la L-glutaminase en utilisant des sous-produits agroalimentaires (le son d'orge et le lactosérum) en raison de leur richesse en protéines, en vitamines et en sels minéraux, et d'ouvrir, en même temps, une fenêtre vers la valorisation industrielle de ces produits considérés comme des déchets du secteur agroalimentaire.

II.2.5.4.A. Préparation des substrats

- **Le son d'orge**

Le son d'orge a été broyé à l'aide d'un moulin électrique de manière à obtenir une poudre, puis conservé dans des boites stériles avant son utilisation.

Ce traitement mécanique du son d'orge a pour but, l'augmentation de l'accessibilité à ses constituants et la confection d'une structure physiques sensible à la pénétration du mycélium dans le milieu de culture.

- **Le lactosérum**

Deux échantillons de lait (lait de vache et lait de chèvre) ont été laissés à température ambiante pendant 24h puis centrifugés et les surnageants ont été récupérés.

II.2.5.4.B. Ensemencement des milieux de culture

La croissance des souches de *Streptomyces* et la production de la L-glutaminase ont été évaluées sur le milieu MGA (modifié) à base de son d'orge ou de lactosérum à raison de 1% dans le milieu de culture. Après incubation à 28°C pendant une semaine, l'activité enzymatique a été déterminée par le changement de la couleur du milieu.

III. Résultats et discussion

III.1. Screening de l'activité L-glutaminase (sur milieu solide)

Après 7 jours d'incubation à 28°C, un virage de la couleur du milieu du jaune au rose a été observé (figure 1).

Ce changement de couleur s'explique probablement par la production de la L-glutaminase par les souches de *Streptomyces* et l'hydrolyse de la L-glutamine en ammoniac causant ainsi l'alcalinisation du milieu et le virage de l'indicateur coloré au rose (Balagurunathan et al., 2010).

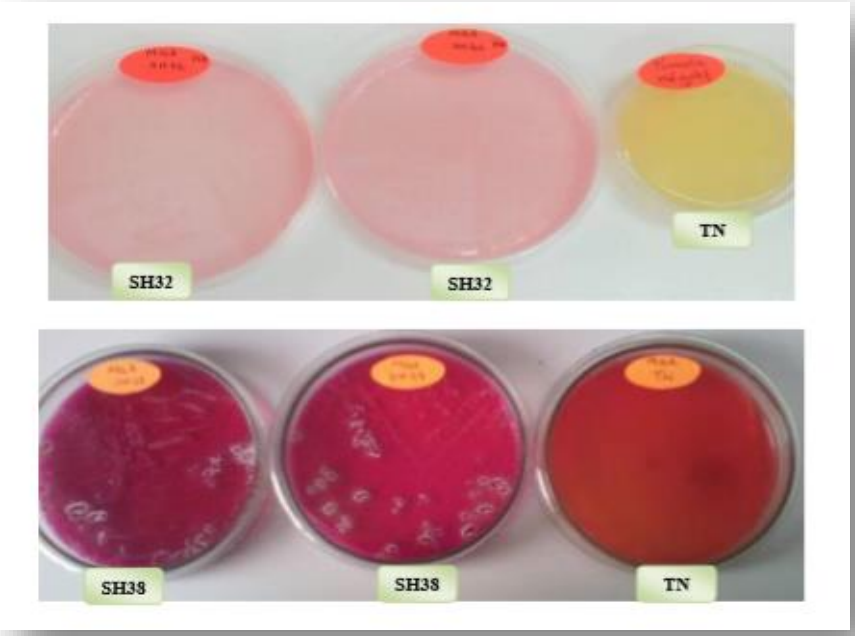


Figure 1: Mise en évidence de l'activité L-glutaminase des souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38) sur gélose MGA (culture de 7 jours).

III.2. Dosage de l'activité L-glutaminase

Après dosage au spectrophotomètre, les activités enzymatiques ont été calculées. Ils étaient de 170 et 211 UI/ml pour les souches (SH32) et (SH38), respectivement.

- D'après les résultats obtenus on conclue que la souche (SH 38) présente une activité glutaminasique plus importante que la souche (SH32).

- La détection d'une activité enzymatique dans les surnageant des cultures bactériennes nous a indiqué que les glutaminases sont secrétées par les souches de *Streptomyces* (c'est-à-dire, elles sont probablement des enzymes extracellulaires).

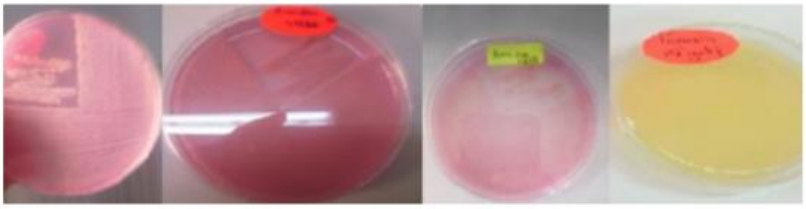
IV.3. Optimisation de la production de la L-glutaminase

IV.3.1. Effet des sources de carbone

Les substrats carbonés servent à la fois comme source de croissance et d'énergie pour les actinomycètes.

La production d'enzyme extracellulaire dépend de la composition du milieu de culture. Parmi les deux sources de carbone testées, l'amidon s'est révélé comme étant le seul stimulant de la croissance des souches et de la production de la L-glutaminase (figure2), Tandis que le glycérol a complètement inhibé la croissance des *Streptomyces* et la production de l'enzyme.

Les résultats obtenus ont été confirmés par rapport à (Mousumi et Dayanand, 2013) qui ont montré, en utilisant la fermentation en milieu liquide, que l'amidon est la meilleure source de carbone pour la production de la L-glutaminase par *Streptomyces enissocaesili,* par rapport à (Rajan et al., 2013) qui ont rapporté que la plupart des actinomycètes utilisent l'amidon comme source de carbone et par rapport à (Reda, 2015) qui a montré que le glycérol exerce un effet inhibiteur sur la croissance des cellules bactériennes.

Substrat	Résultats
Amidon	la souche SH32 la souche SH38 

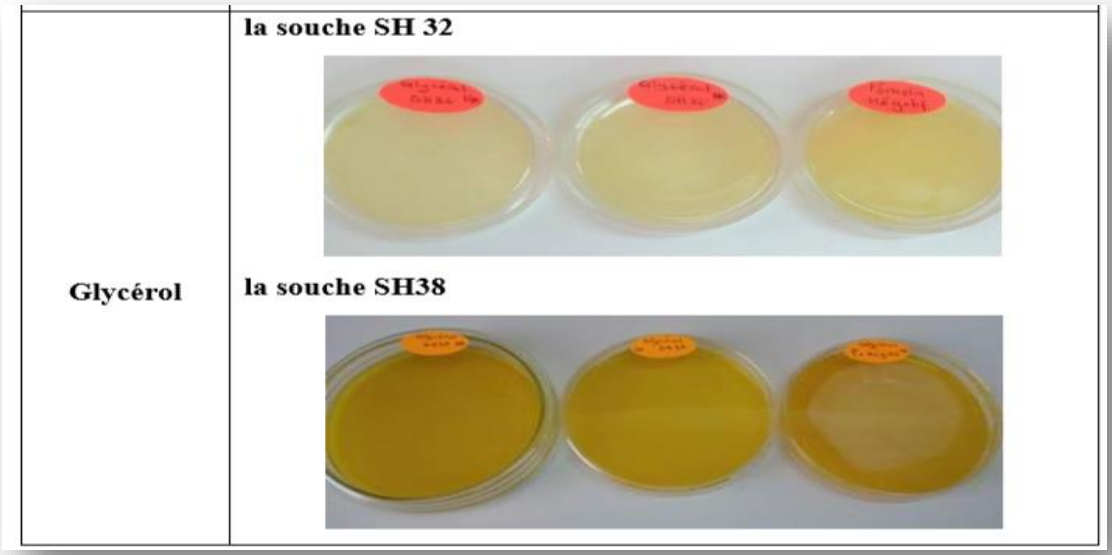


Figure 2: Effet des sources de carbone sur la croissance et la production de la L-glutaminase par les souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38).

IV.3.2. Effet des sources d'azotes

Parmi les différentes sources d'azote testées, la meilleure croissance des souches a été obtenue avec les caséines et la peptone (figures 3 et 4), suivies de tryptone et l'extrait de malt (figures 5 et 6) et enfin l'extrait de levure (figure 7).

Le virage de la couleur des milieux à base des différents substrats azotés, du jaune au rose indique que les souches peuvent assimiler les différents substrats utilisés comme seule source d'azote et produire la L-glutaminase. De plus, il a été noté qu'en présence des caséines, la croissance et la production de la L-glutaminase sont faites tôt (après 3 jours d'incubation), alors qu'en présence de l'extrait de levure, la croissance et la production de l'enzyme sont faites de manière tardive (après 15 jours d'incubation).

En présence des autres substrats (la peptone, le tryptone, l'extrait de malt), la Lglutaminase est produite après 4 à 5 jours d'incubation.

De ce fait, on déduit que dans le cas de l'extrait de levure, la production commence pendant la phase stationnaire, alors qu'en présence des caséines, la peptone, l'extrait de malt et le tryptone, elle commence pendant la phase de croissance continue (Lagzouli et al., 2007).

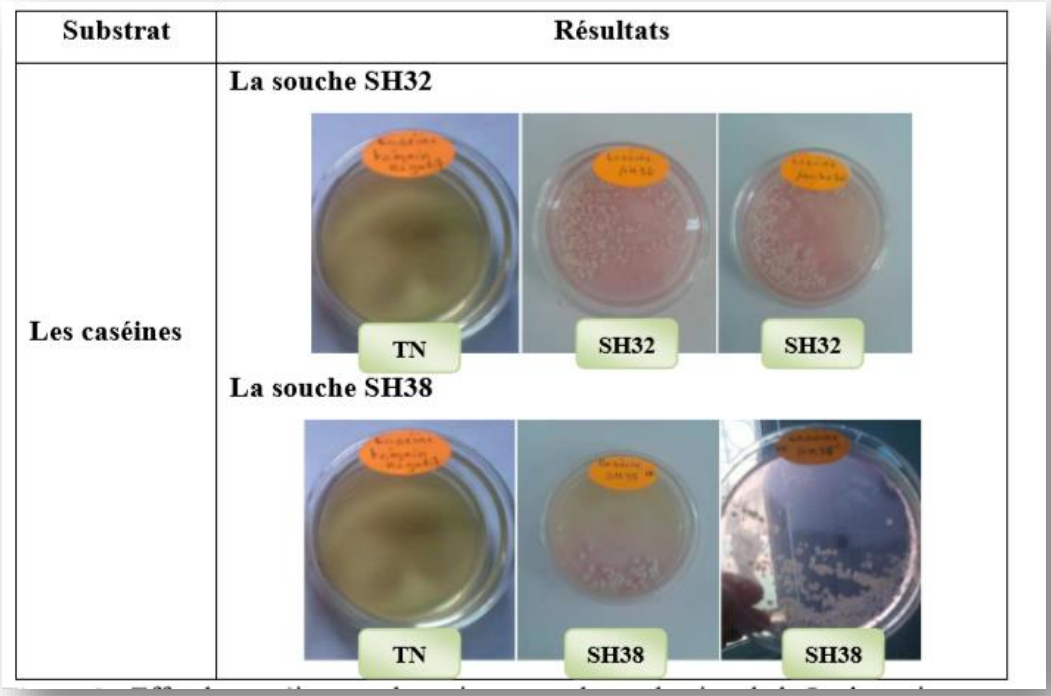


Figure 3 : Effet des caséines sur la croissance et la production de la L-glutaminase par les souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38).

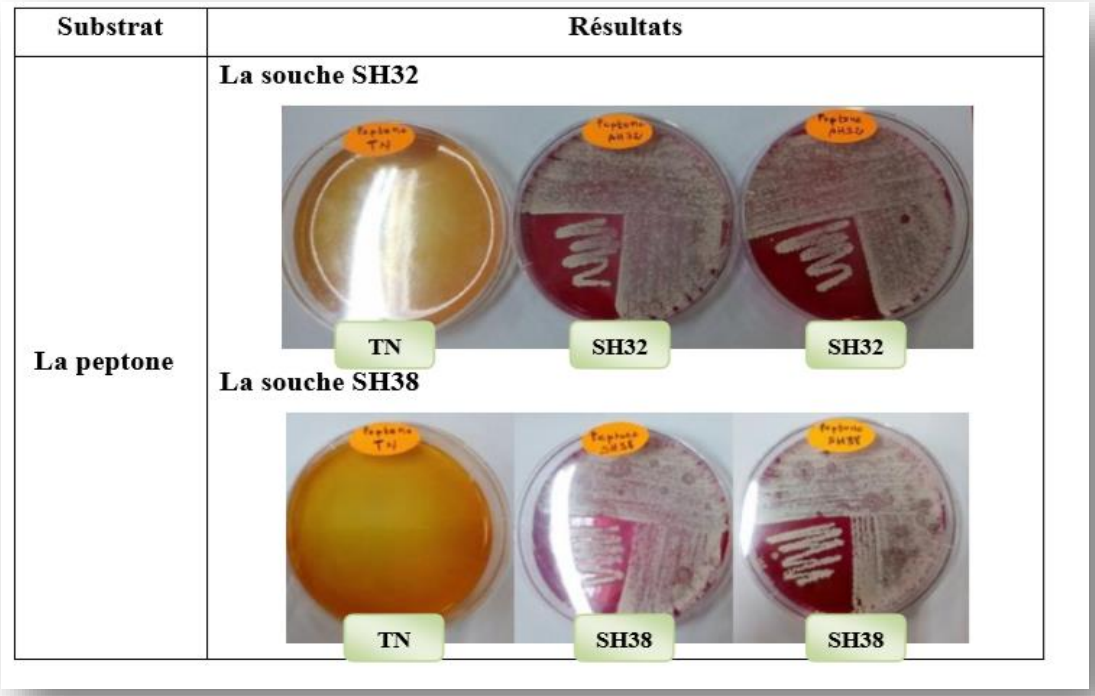


Figure 4 : Effet de la peptone sur la croissance et la production de la L-glutaminase par les souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38).

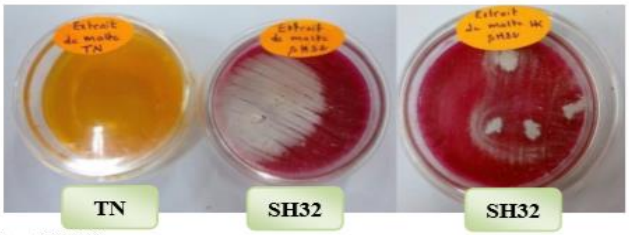
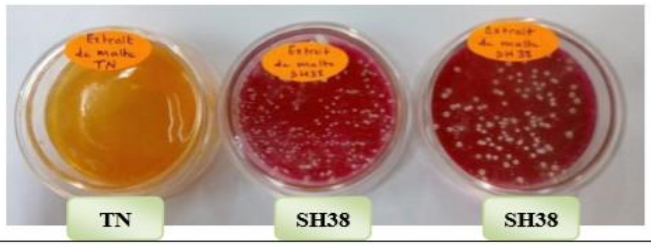
Substrat	Résultats
L'extrait de malt	La souche SH32  La souche SH38 

Figure 5 : Effet de l'extrait de malt sur la croissance et la production de la L-glutaminase par les souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38).

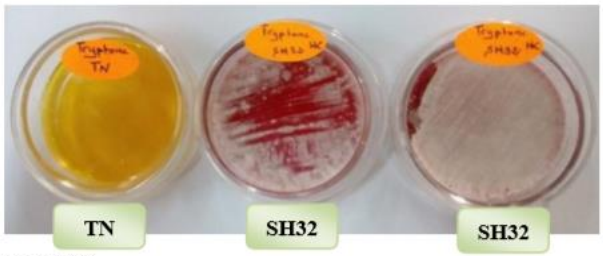
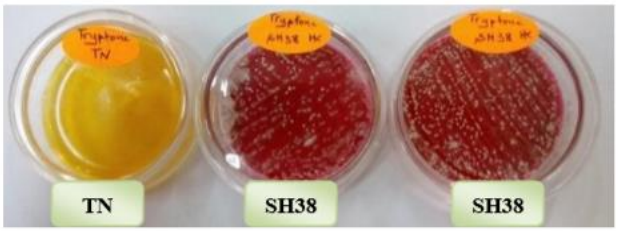
Substrat	Résultats
Le tryptone	La souche SH32  La souche SH38 

Figure 6: Effet de tryptone sur la croissance et la production de la L-glutaminase par les souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38).

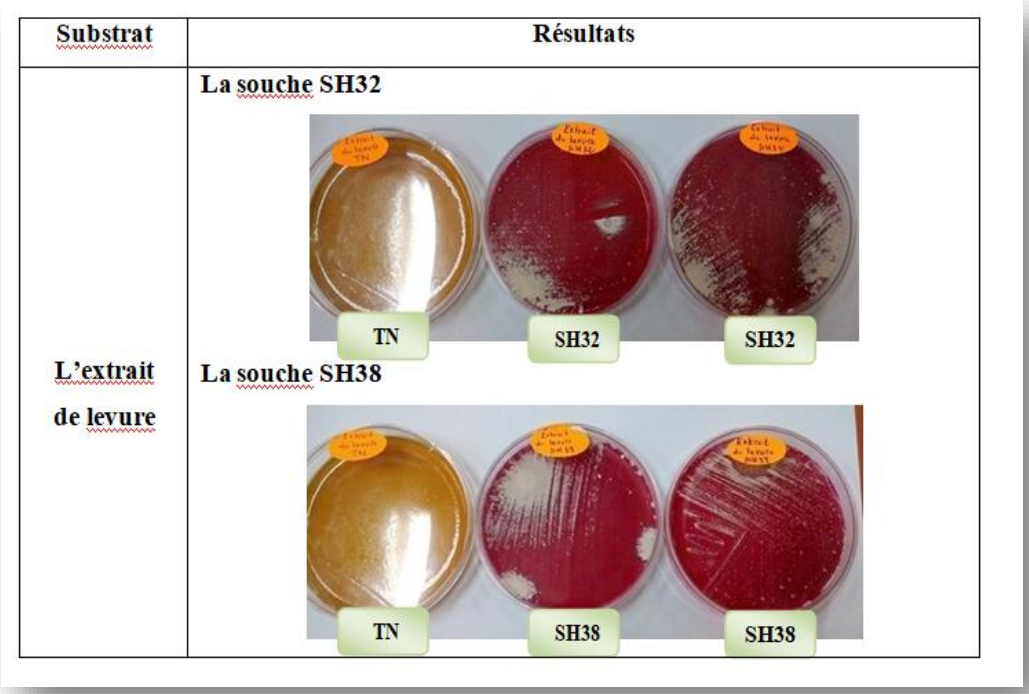


Figure 7 : Effet de l'extrait de levure sur la croissance et la production de la L-glutaminase par les souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38).

IV.3.3. Effet des sous-produits alimentaires en guise de valorisation

Parmi les deux sous-produits alimentaires testés, le son d'orge s'est révélé comme étant l'unique stimulant de la croissance des souches et de la production de la L-glutaminase (figure 8). Par ailleurs, le lactosérum a complètement inhibé la croissance des souches et la production de l'enzyme (figure 9 et 10).

L'activité glutaminasique observée en présence du son d'orge est attribuée à la richesse de ce dernier en éléments nutritifs (32.8% de carbone, 36.2% d'azote, 23% d'acides aminés et 10% de sels minéraux) et sa dégradabilité (Zouaghi, 2007). En effet le développement d'un procédé de production de la L-glutaminase basé sur le son d'orge comme source de carbone et d'azote est très attrayant car ces substrats sont bon marché et facilement disponibles.

En ce qui concerne le lactosérum, son effet inhibiteur peut être probablement dû à son acidité et Les bactéries du genre *Streptomyces* sembles préféré un pH neutre ou peu alcalin ce qui a empêché leur développement dans le milieu à base de lactosérum acide (Kumar et al. 2013).

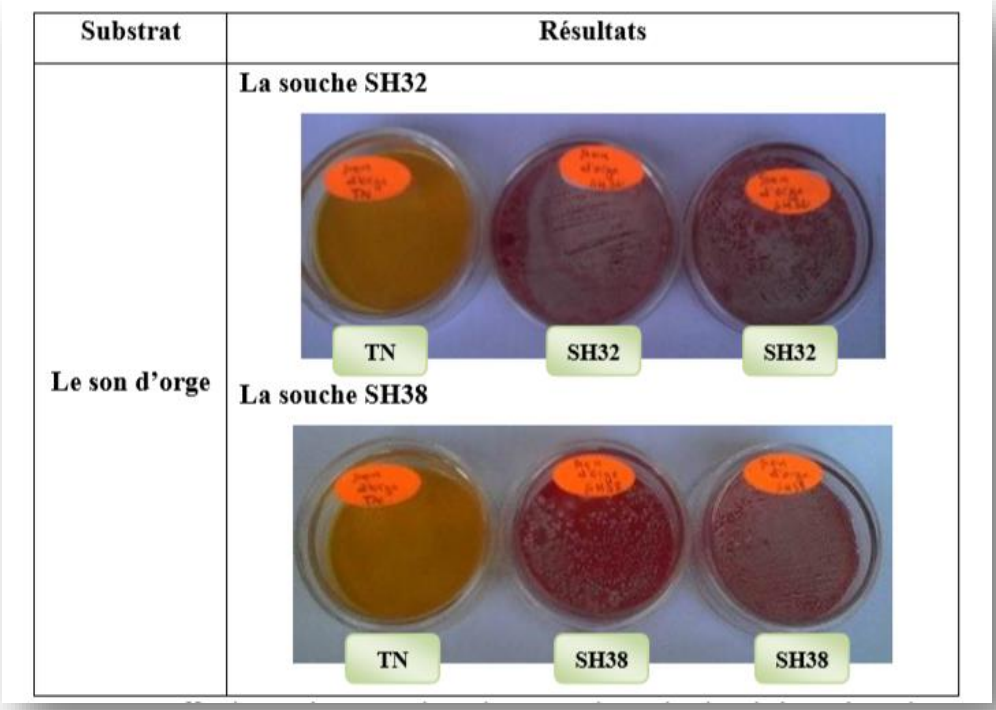


Figure 8: Effet de son d'orge sur la croissance et la production de la L-glutaminase par les souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38).

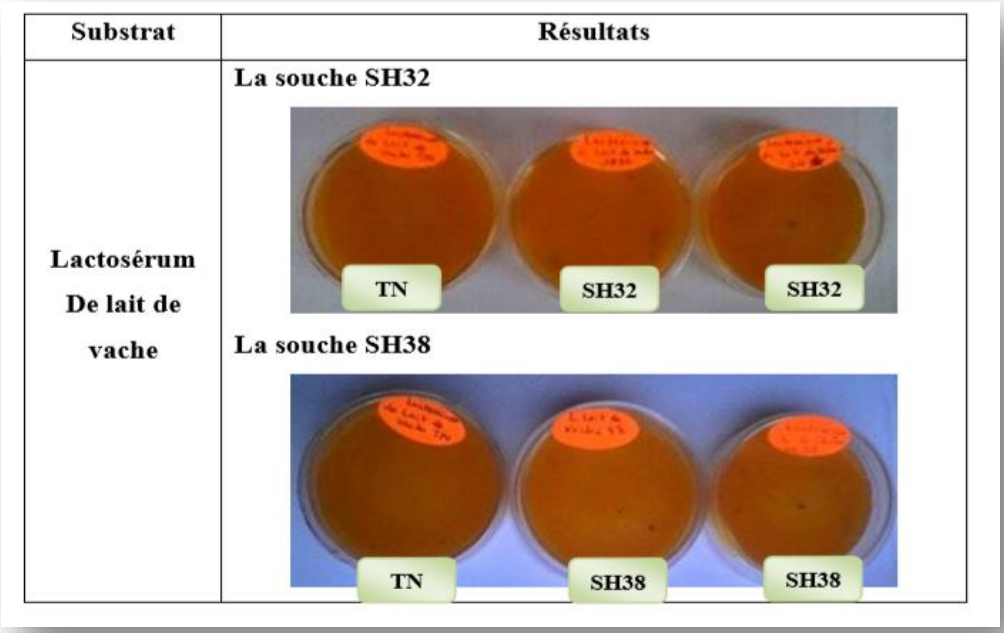


Figure 9: Effet de lactosérum de lait de vache sur la croissance et la production de la Lglutaminase par les souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38).

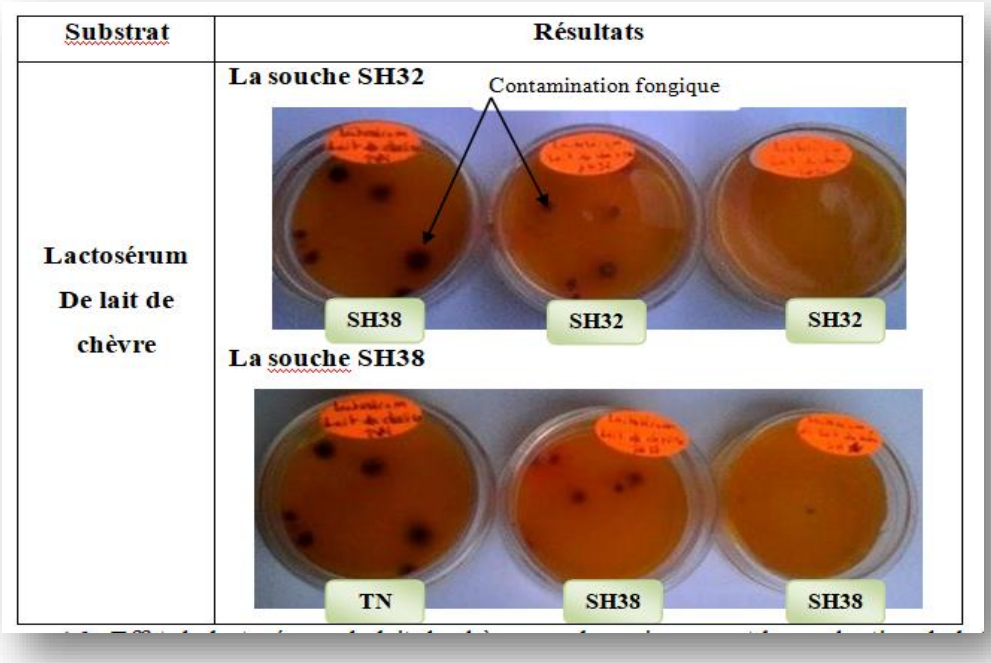


Figure 10: Effet de lactosérum de lait de chèvre sur la croissance et la production de la Lglutaminase par les souches de *Streptomyces* (SH32 et SH38).

IV. Conclusion et perspectives

Parmi les nombreuses propriétés des actinomycètes, nous signalons leur capacité à produire une variété de substances intéressantes du point de vue industriel et les enzymes occupant une place importante après les antibiotiques.

Ce travail nous a permis le screening de l'activité glutaminasique de deux souches d'actinomycètes (SH32 et SH38) (Genre *Streptomyces*) isolées à partir de sol recueilli au site Tikjda (Bouira).

Le dosage des activités enzymatiques (à 37°C et à pH7) des glutaminases produites a montré que la L-glutaminase secrétée par la souche SH38 est plus active (211UI/ml) que celle secrétée par la souche SH32 (170UI/ml).

La croissance des souches et la production des glutaminases ont été optimisées en utilisant différents substrats et sous produits agroalimentaires comme source de carbone et d'azote dans le milieu de culture.

Parmi les deux substrats hydrocarbonés qui ont été testés, l'amidon était le meilleur substrat permettant la croissance des souches et la production de l'enzyme, à l'opposé de glycérol qui a inhibé totalement ces derniers.

Parmi les substrats azotés testés, les caséines et la peptone se sont révélés comme étant les meilleurs substrats permettant la croissance des souches de *Streptomyces,* suivies de tryptone et l'extrait de malt et enfin par l'extrait de levure. Ainsi, la production de l'enzyme a été notée après 3 jours d'incubation en présence des caséines, 15 jours en présence de l'extrait de levure et enfin 4 à 5 jours en présence de tryptone et l'extrait de malt.

En ce qui concerne, les sous-produits alimentaires qui ont été testés, le son d'orge s'est révélé comme étant le meilleur stimulant de la croissance des souches et de la production de l'enzyme tandis que le lactosérum a inhibé totalement ces derniers.

A l'issue de ce travail, nous émettons quelques réflexions et voies d'investigations sous forme de perspectives pour une meilleure exploitation de ces résultats préliminaires :

- L'application d'une étude statistique basée sur un plan d'expériences composites à fin d'évaluer l'effet de la combinaison des substrats complexes sur la croissance et la production de la L-glutaminase.
- L'optimisation des autres paramètres physicochimiques à savoir le pH, la température, la taille de l'inoculum pour une meilleur croissance et production de l'enzyme.
- Essai de production de l'enzyme dans un milieu a base de lactosérum doux.
- Purifier l'enzyme produite pour un usage pharmaceutique ou alimentaire.

V. Références

Abdallah, N. A., S. K. Amer, et al. (2012). "Screening of L-Glutaminase produced by actinomycetes isolated from different soils in Egypt." International Journal of ChemTech Research 4(4): 1451-1460.

Abd-Alla, M. H., E.-S. A. El-Sayed, et al. (2013). "Biosynthesis of L-glutaminase by *Streptomyces variabilis* ASU319 isolated from rhizosphere of *triticum vulgaris*." Universal Journal of Microbiology Research 1(3): 27-35.

Balagurunathan, R., M. Radhakrishnan, et al. (2010). "L-Glutaminase producing actinomycetes from marine sediments–selective isolation, semi quantitative assay and characterization of potential strain." Aust J Basic Appl Sci 4(5): 698-705.

Chen, L., & Cui, H. (2015). Targeting glutamine induces apoptosis: a cancer therapy approach. *International journal of molecular sciences*, *16*(9), 22830-22855.

Divya Teja, D., Sri Devi, V., & Harsha, N. (2014). Production of L-glutaminase from marine ecosystems and optimal conditions for maximal production by actinomycetes. *International Journal of Advanced Research*, *2*, 485-491.

Kumar, S. S., Muthuvelayudham, R., & Viruthagiri, T. (2013). Production and optimization of L-glutaminase (EC. 3.5. 1.2) by Serratia marcescens using wheat bran under statistical designs. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences (JCBPS)*, *3*(4), 2601.

Lagzouli, M., R. Charouf, et al. (2007). "Optimisation de la croissance et de la production de gluco amylase extra cellulaire par Candida guilliermondii." Bull. Soc. Pharm. Bordeaux 146: 251-270.

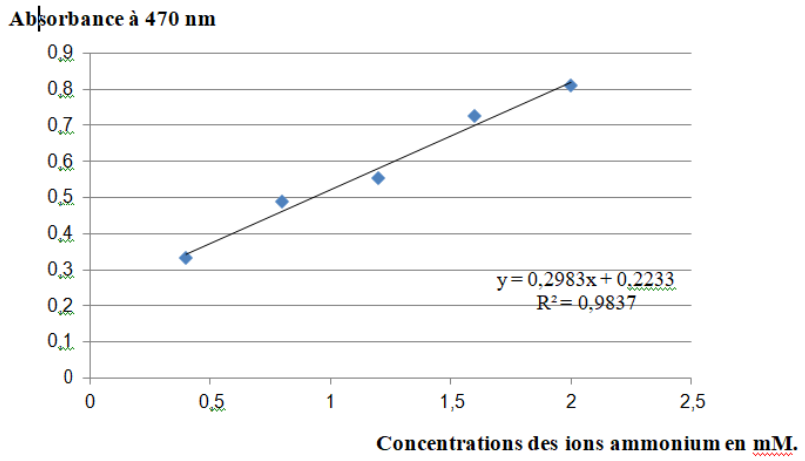
Mousumi, D. and A. Dayanand (2013). "Production and antioxidant attribute of l-glutaminase from Streptomyces enissocaesilis DMQ-24." Int J Latest Res Sci Technol 2(3): 1-9.

Rajan, P. C., Mahalakshmipriya, A., & Arungandhi, V. S. K. (2015). Production of L-Glutaminase by Marine Streptomyces Sp., Isolated From West Coast, Kerala, India. *World*, *1*(1), 38-54.

Reda, F. M. (2015). Kinetic properties of Streptomyces canarius L-Glutaminase and its anticancer efficiency. *Brazilian Journal of Microbiology*, *46*(4), 957-968.

Unissa, R., M. Sudhakar, et al. (2014). "A review on biochemical and therapeutic aspects of glutaminase." International Journal of pharmaceutical sciences and research 5(11): 4617.

Zouaghi, A. (2007). "Optimisation de la production de l'oxytétracycline par Streptomyces rimosus.".



Courbe d'étalonnage de sulfate d'ammonium.

Caractéristiques des élevages bovins laitiers dans la région de Relizane

Meskini Zakaria, Rechidi-Sidhoum Nadra, Dahou Abdelkader El Amine, Tahlaiti Hafida, Homrani Abdelkader
Laboratoire des Sciences et Technique de Production Animale (LSTPA), Université de Mostaganem, 27000,Algérie
Zakaria.92@hotmail.fr

Résumé

Cette étude consiste à présenter les caractéristiques de l'élevage bovin laitier de la région de Relizane, à travers une enquête menée dans les exploitations de cette zone d'Algérie. Nous avons pu démontrer qu'en moyenne, les exploitations possèdent 7,55 ha de terre agricole totale et que 66,6% des exploitations ont une surface agricole inférieure à 8 ha, la taille du cheptel bovin est négativement corrélée avec la Surface fourragère principale (r= -0,17). Les résultats montrent qu'en moyenne il y a 21,5 vaches laitières par exploitation et que 84 % des éleveurs présentent un niveau d'instruction entre le primaire et le secondaire. L'âge des exploitants est à 67%, inférieur à 45 ans.

Mots clés : bovins laitiers, production laitière, conduite d'élevage, exploitant.

Introduction

L'Algérie compte un effectif de 911 401 vaches laitières dont les vaches d'importation représentent plus de 30%, afin d'augmenter la capacité de production laitière nationale, l'Etat algérien procède à des importations massives de jeunes vaches de races différentes avec un effectif total de vaches importées n'excédantes pas les 139 040 têtes en 2015 en plus d'un nombre de 37000 génisses pleines. Dans l'élevage bovins laitier, comme dans tout type d'élevage, la conduite d'élevage a une grande importance en raison de son rôle dans les performances des animaux en qualité de production et de reproduction et sanitaire. En parallèle et afin de répondre aux besoins sans cesses croissants en lait de consommation, il est impératif de signalerque des sommes considérables sont allouées pour l'importation de lait en poudre. Malgré de nombreuses tentatives de la part des autorités concernées pour réaliser une autosuffisance en production laitière par plusieurs plans, malheureusement ça n'a pas pu engendrer des résultats attendus et cela est liée majoritairement à une méconnaissance du système générale de production laitière et des conditions des exploitations et par manque de données relatives à leur structure et à leur fonctionnement.

Il y a peu d'études qui ont essayées de caractériser, au niveau de la zone d'étude, les caractéristiques de cet élevage. En effet, le faible niveau de connaissance de conduite de l'élevage bovin laitier représente une contrainte. Cependant, la connaissance parfaite des conditions d'élevages est nécessaire, à toute action visant à améliorer la situation de la filière laitière en Algérie.

Matériel et méthodes

Une enquête a été conduite auprès de 30 exploitations. Le choix de ces exploitations repose sur la possession d'un agrément sanitaire et que les éleveurs livrent leur lait aux centres de collecte implantés dans la région. L'échantillonnage est effectué sur la base des informations collectées au niveau des Directions des Services Agricoles de la Wilaya.
-Disponibilité et coopération de l'éleveur, facilité d'accès à l'exploitation

Le choix est également basé sur le souci d'une large diversité en termes de taille du cheptel.Ces exploitations ont été soumises à un questionnaire construit de plusieurs variables, parmi lesquelles (SAU: Superficie agricole utile, SAT: Superficie agricole totale, SAI: Superficie agricole irriguée, SAS : superficie agricole sec, SFP: Superficie fourragère principale, BV: Effectif bovin, VL: Effectif vache laitière, PL: Production laitière). L'intérêt est de mettre en avant les différents caractéristiques de ces exploitations. L'analyse descriptive des différents traitements a été organisée et exploitée grâce au logiciel Excel (2017)

Résultats

Identification des exploitants

Niveau d'instruction

Sur l'ensemble des 30 exploitations étudiées, 84% des éleveurs présentent un niveau d'instructionentre le primaire et le lycée, contre 13 % d'analphabètes, alors que le niveau universitaire estnégligeable (3%). Cela implique que l'élevage bovin est pratiqué par toutes les catégories d'éleveursquel que soit leur niveau d'instruction (Tableau 1)

Tableau 1 : niveau d'instruction

Niveau d'instruction	Nombre d'individu	%
Aucun	4	13
Primaire	5	17
Moyen	12	40
Lycéen	8	27
universitaire	1	3

Age des exploitants

L'âge des éleveurs varie entre 29 et 75 ans avec une moyenne de 45,4 ans. L'analyse de cette variable montre que la tranche d'âge de moins de 45 ans représente 67 % des éleveurs, ce qui implique une prédisposition des jeunes à pratiquer ce type d'activité, contre 33 % des éleveurs dépassant l'âge de 45 ans (Tableau 2)

Tableau 2 : Age des éleveurs

Classe d'Age	Nombre d'individus	%
20-35	5	17
35-45	13	43
45-65	9	30
➢ 65 ans	3	10

Caractéristiques des exploitations

Les exploitations agricoles enquêtées disposent d'une surface agricole totale (SAT) allant de 0 à 37 ha avec une moyenne de 7,55± 9,24 ha (Tableau 3)

Tableau 3 : caractéristiques des exploitations enquêtées

	Mini	Moyenne	Ecart-type	Maxi
SAT,ha	0	7,55	9,24	37
SAU,ha	0	7,25	8,46	30
SAU en sec,ha	0	4,2	7,16	24
SAU en irrigué	0	3,05	3,92	17
SFP	0	3,53	3,8	18
%SFP/SAU	0	50,86	44,24	100
%SFP/SAT	0	49,62	43,48	100
VL	4	21,5	39,5	220
BV	6	36,63	55,75	315
%VL/BV	21,87	56,08	18,51	100
PLM/VL,kg	10	18,13	4,3	29

Près de 66.6 % des exploitations ont moins de 8 ha, alors que les grandes exploitations (> à 10 ha), représentent seulement 23,33 %. La superficie fourragère principale (SFP) concerne toutes les surfaces impliquées dans l'alimentation du bétail (Vilain 2003) ; elle représente une part importante dans la surface agricole totale. les SFP représentent respectivement 49.62 % et 50.86% dans la SAT et SAU, qui varient de 0 à 18 ha pour une moyenne de 3.53 ha (Tableau3). Concernant l'irrigation, 46.6 % des exploitations enquêtées irriguent leurs terres avec une moyenne de 3,05 ± 3,92 ha par exploitation (maximum de17 ha).

Le cheptel bovin varie entre 6 et 315 têtes avec une moyenne de 36,63 têtes ; la taille du cheptel bovinest négativement corréler avec la surface agricole (r= -0,09 avec la SAU, r= -0,07 avec la SAT et r=-0,17 avec la SFP). Le nombre de vaches par élevage est en moyenne de 21,5 ± 39,5; 33 % desenquêtés élèvent exclusivement des Holstein contre 7 % pour les Montbéliard Les deux races se retrouvent mélangées dans 47 % des exploitations.

La part des vaches laitières dans l'effectif bovin varie de 21,87 % à 100 % avec une moyenne de 56,08 % ± 18,51 ce qui montre leur orientation vers la production laitière.

La production laitière moyenne par vache et de 18,13 litres par jour avec un minimum de 10 litre/j.

Globalement, les exploitations sont de type familial. Selon Chia et al (2006) et Dufumier (2006), ceci a une incidence directe sur la gestion de l'exploitation donc la conduite de l'élevage.

Conduite de l'alimentation

Les ressources alimentaires sont de deux origines : produites au sein de l'exploitation (fourrages cultivés,), ou achetées (foin, paille et concentré). En générale, les vaches reçoivent 2 botte de foin pour 3 vache par jour. Dans la plupart des exploitations c'est le foin d'avoine qui est le plus distribué, il est de qualité moyenne. L'utilisation de l'ensilage de maïs est présente dans 23% des exploitations enquêtées. Mais aucune exploitation ne produit de l'ensilage.

Tous les éleveurs enquêtés utilisent abondamment de l'aliment concentré du commerce ;60 % des éleveurs en distribuent plus de 10 kg/vache/jour

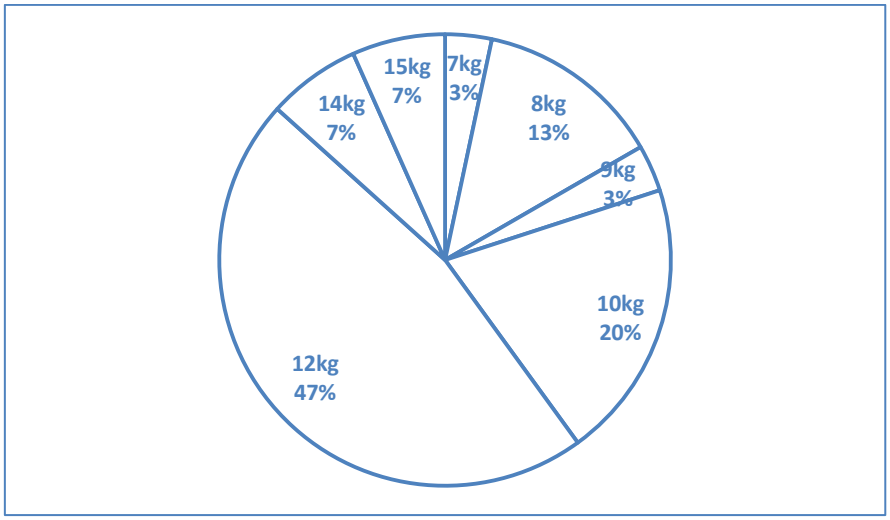


Figure1 : répartition des exploitations selon la quantité d'aliment concentré distribué

Discussion

L'élevage de bovins laitiers est une activité pas simple qui demande beaucoup d'attention et de temps ainsi qu'un certain professionnalisme dans la filière afin d'avoir un seuil de rentabilité élevé, d'âpres notre étude on constate que la majeure partie des éleveurs n'ont reçu aucune formation dans le domaine de l'élevage des bovins, et n'ont pas le niveau d'instruction nécessaire, afin de pratiquer une conduite d'élevage adéquate, chaque éleveur se base dans son mode d'élevage sur les pratiques traditionnelle et selon ses expérience ou celle de ses confrères.

L'age des exploitants est en majorité d'age moyen environ 67% des éleveurs sont âgés de moins de 45 ans ceci indique que les exploitations de bovins laitiers est tenues par des jeune qui s'intéressent au domaine de l'élevage.

Les exploitations enquêtées possèdent peu de terres fourragères avec une moyenne de 3,53 ha cela a un impact négatif sur les exploitations et ceci traduit une culture fourragère basse qui ne comble pas les besoins alimentaires du cheptel de l'élevageet pousse les éleveurs à acheter du fourrage et de dépendre de plus en plus au aliments concentrés. En effet environ 60% des éleveurs donne plus de 10 kg/vache/j d'aliment concentré.Environ 23% des exploitation enquêté incorpore de l'ensilage de maïs dans la ration alimentaire des vaches laitières ceci est diffèrent de la région nord-est algérien ou il y a une absence d'utilisation de l'ensilage selon (Ghorbi et al.,2015)

La gestion de l'alimentation est absente dans tous les exploitations enquêtées, puisque la plupart des exploitations ne font pas de rationnement en rapport avec les différentes phases physiologiques des animaux.

Conclusion

Notre enquête a permis de montrer la réalité de certains pratiqueset caractéristiques d'élevage au niveau de la région de Relizane , le niveau d'instruction et l'age des éleveurs ainsi que les caractéristiques des exploitations et l'alimentation représente les principaux constats, malheureusement les exploitations souffre d'un manque de suivi technique et de vulgarisation .l'ensemble des pratiques d'élevage de bovins laitier dans cette région est encore loin d'atteindre un seuil de performance élevé .

Références bibliographiques

Vilain L 2003 La méthode IDEA : indicateurs de durabilité des exploitations agricoles. Guide d'utilisation, deuxièmeédition enrichie et élargie à l'arboriculture, au maraîchage et à l'horticulture. Educagri Editions, Dijon. 151p

Dufumier M 2006 Diversité des exploitations agricoles et pluriactivité des agriculteurs dans le tiers monde, Cahiersd'Agriculture volume. 15, n° (6): (2006), pp584588. http://www.johnlibbey-eurotext.fr/edocs/00/04/26/9C/vers_alt/VersionPDF.pdf

Chia E, Dugué P et SakhoJimbira S 2006 Les exploitations agricoles familiales sontelles des institutions ? Cahiersd'Agriculture volume 15 (6), novembredécembre (2006), pp :498505. http://www.jle.com/edocs/00/04/26/90/vers_alt/VersionPDF.pdf

Ghorbi et al., 2015 Analyse du mode de conduite des élevages bovins laitiers dans le Nord-Est Algérien. LivestockResearch for Rural Development 25 (6) 2013

Influence des ressources nutritives du milieu sur la reproduction sexuée chez les populations d'oursins noirs *Arbacia lixula,* (Linnaeus, 1758) de la méditerranéen

Mohamed Elakkermi[1], Dina Lila Soualili

[1]Département des Sciences de la Mer et de l'Aquaculture

Laboratoire de protection, Valorisation des Ressources Marines et Littorales et Systématique Moléculaire

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abedelhamid Ibn Badis, Mostaganem, 27000, Boite postale 300, Algérie

Résumé

Cette étude a pour but d'analyser les relations entre l'ingestion des macroalgues et la maturation des gonades des oursins de l'espèce *Arbacia lixula* vivants dans deux sites de la côte de Mostaganem, au niveau de l'infralittoral Méditerranéen. Des échantillonnages mensuels de trente (30) individus ont été réalisés, étalés sur une année allant de janvier 2016 à décembre 2016. La composition du contenu intestinal a été analysée par mois et par saisons. Les indices physiologiques; de réplétion (IR) et gonadique (IG) ont été calculés, ainsi que les stades de maturation gonadique. La dominance des Rhodophycées (34.70% a salamandre et 35.23% a stidia) et en particuliers les algues calcaires encroutântes dans le contenu digestif des oursins a été constatée tout au long de l'année. Ce qui a favorisé la présence de conditions de ressources optimales avec un niveau élevé de diversité algale. Ainsi, les algues rouges représentent donc la principale composante du régime naturel d'*A.lixula.* La comparaison des indices physiologiques et des fractions algales du contenu intestinal, a permis de voir l'influence de cette alimentation sur le développement des gonades, grâce à l'analyse des trois indices suivants l'Indice de Réplétion, l'indice de maturité et l'Indice Gonadique.

Mots clés : *Arbacia lixula*, Salamandre, Stidia, Contenus digestifs, Algues, Indice de réplétion, Indice gonadique.

Introduction

L'oursin noir *Arbacia lixula* (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 (Wangensteen, 2013).

L'oursin noire coexiste avec l'oursin livide et a le potentiel d'influencer grandement les communautés benthiques par son activité de pâturage (Privitera et *al*. 2008 ; Agnetta et *al*. 2015). Il est moins étudié dans la mer Atlantico-méditerranéenne que l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Boudouresque et Verlaque 2013).

L'activité trophique des oursins a fait l'objet de nombreuses études (Frantzis et al, 1988). En raison du rôle primordial qu'ils ont dans l'évolution des peuplements phytobenthiques (Fernandez et Caltagirone, 1998), la majorité des études ont principalement traité l'aspect « contrôle des peuplements végétaux », par les échinodermes et leur broutage.

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* (Kempf, 1962; Verlaque et Nedelec, 1983; Verlaque, 1984; Verlaque, 1987; Berthon, 1987).

Un autre aspect a traité, est que peu d'études ont été consacrées à l'étude de la **reproduction de l'oursin noir** (*Arbacia lixula*) en méditerranée, les seuls travaux de recherches sur la biologie de reproduction de cette dernière concernent essentiellement le bassin méditerranéen occidentale, on retrouve ceux de Fenaux (1968), de Régis (1979) ; de Pedrotti (1993), mis à part l'étude réalisée par Wangensteen et *al*. (2013) sur la côte méditerranéenne espagnole.

Les données sur la biologie de reproduction de l'oursin noir en Algérie sont quasi inexistantes. Le seul travail publié est celui de Semroud 1993, et qui a traité la variabilité saisonnière des indices physiologiques.

Donc, afin de combler partiellement ces insuffisances, le présent travail de recherche a pour objectifs principales ; décrire certains aspects biologiques de l'oursin noir *Arbacia lixula* à savoir :

(i) Nous conduire à une étude des indices physiologiques qui permet d'évaluer l'état physiologique des individus afin de déterminer les périodes de pontes d'*A.lixula*, et (ii) le suivi du régime alimentaire par l'analyse de l'éthologie alimentaire de cet échinidé durant une période d'un an, au niveau de deux sites différents de la cote de Mostaganem.

Ces suivies ont pour but de nous permettre, de dégager d'une part les traits biologique ; à savoir l'aspect trophiques et reproductrices de notre espèce, de définir les différences entre les populations d'oursins d'un même biotope et d'autres part, de déterminer et de détecter de possibles adaptations ou modifications de comportement de cette espèce en fonction des variations de l'environnement. En 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

Une cueillette mensuelle de trente individus (30) a été réalisée en apnée, durant la période allant de janvier 2016 à décembre 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 par des mesures linéaires, et pesées pondérales du corps, des gonades, des

contenus digestifs, par dissections des oursins. Le Sexe a été déterminé selon la couleur des gonades et selon la nécessité par observation avec un frottis.

Autres mesures pondérales sèches après étuvage des gonades et contenues digestifs à 70°C d'une période de 48 heures.

✓ ***Etude des indices physiologiques***

Le calcul des indices gonadique (IG) et réplétion (IR) a été calculé comme étant le rapport du poids sec de la gonade ou du contenu digestif au diamètre du test au cube (Nédélec1983), utilisé par (Régis 1979 ; Semroud et Kada1987 ; San Martin1990 ; Soualili 2008 ; Sahnoun 2009 ; Belkhedim 2009 ; Dermeche 2010).

Indice gonadique moyen: IGM = PG / D^3

Indice de réplétion moyen: IRM = PCd / D^3

PG : poids sec des gonades en mg.

PCd **:** poids sec des contenus digestifs en mg.

D : le diamètre du test sans piquants en cm.

✓ ***Etude macroscopique des gonades***

Les stades macroscopiques de maturité sont déterminés à partir d'un frottis effectue au niveau de chaque gonade et observe entre lame et lamelle sous un microscope photonique. La définition du stade (de 1 à 5) est dictée par cette observation macroscopique, en se basant sur l'échelle de Fuji (1960).

Le suivi de l'évolution mensuelle des stades macroscopiques de tous les individus utilisés pour le suivi des indices physiologiques, permet de faire une étude quantitative de la maturité de cette espèce au niveau de chaque site.

✓ ***Analyse des contenus digestifs***

Dans chaque site (Salamandre ou Stidia) un prélèvement mensuel supplémentaire de cinq (05) individus d'oursins noirs (mesurant entre 30 et 60 mm de diamètre) destiné à l'analyse des contenus digestifs a été réalisé.

L'échantillonnage a été effectué entièrement en apnée, et a des profondeurs diverses allant de 1 à 5 mètres.

Ces oursins sont disséqués par une coupe transversale selon l'ambitus (cercle équatoriale).

Les contenus digestifs de ces individus (constitué de petite pelotes de taille et de formes diverses) ont été conservés dans de l'eau de mer formolée à 10%.

L'analyse des contenus digestifs est effectuée par la méthode des contacts de Jones (1968) modifiée par Nédélec (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 (10) lames sont utilisées et dans chaque lame dix (10) observations (10 contacts) sont effectuées. Soit pour chaque oursin, cent (100) contacts sont accomplis, ce chiffre est assez représentatif pour avoir des résultats fiables.

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 item (aliment) établi 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.

Résultats

Etudes des indices physiologiques

✓ ***Evolution de l'indice gonadique moyen (IGM)***

L'allure générale de l'évolution mensuelle illustré dans la figure 2, des IGM des deux populations *d'Arbacia lixula* vivant dans les deux sites (Salamandre et Stidia) est presque identique (les deux pics se situent presque à la même période (printemps) et les plus faibles valeurs sont localisées dans la phase finale de la saison estivale.

Le suivi mensuel de l'indice gonadique moyen (IGM) a montré une augmentation progressive continue dès la saison hivernal au mois de janvier avec les valeurs respectives de 5,61±4,33 mg/cm^3 et 4.13±1.77 mg/cm^3 a salamandre et stidia, jusqu'à atteindre le pic d'accroissement au printemps au mois de mai avec une valeur maximale de 11,11±5,62 mg/cm^3 à Salamandre et 9.77±7.15 mg/cm^3 à Stidia durant le mois de juin. Ensuite à la Salamandre l'IGM signale un décroissement brutal jusqu'au mois de juin. Après, cette chute est plus douce jusqu'au mois de septembre où il marque la valeur la plus minime de l'étude par la somme de 0,89±0,30 mg/cm^3. À la suite, l'IGM remonte progressivement jusqu'au mois de décembre.

Même acheminement se passe à stidia, où l'IGM décline rapidement jusqu'au mois d'aout et se stabilise en mois de septembre pour marquer la valeur la plus basse 1,25±0,41 mg/cm^3.

✓ ***Evolution de l'indice de réplétion moyen (IRM)***

L'évolution de l'indice de réplétion montré la figure 2, dans les deux sites signales une déclinaison continue jusqu'à atteindre la valeur la plus infime 8,26±2,59 mg/cm^3 en mois de juin à stidia et pendant le mois de juillet 2,29±1,03 mg/cm^3 a la salamandre. Ensuite le graphe illustre une progression continue atteignant les valeurs les plus importantes de l'IRM a la salamandre en mois de décembre par la somme de 15,16±5,38 mg/cm^3 et 24,64±6,89 mg/cm^3 a stidia durant le mois de novembre.

Le suivi mensuel de l'indice de Réplétion moyen (IRM) pour l'ensemble des deux populations d'oursins noirs affiche un cycle annuel clair et montre une évolution régulière pour les deux sites.

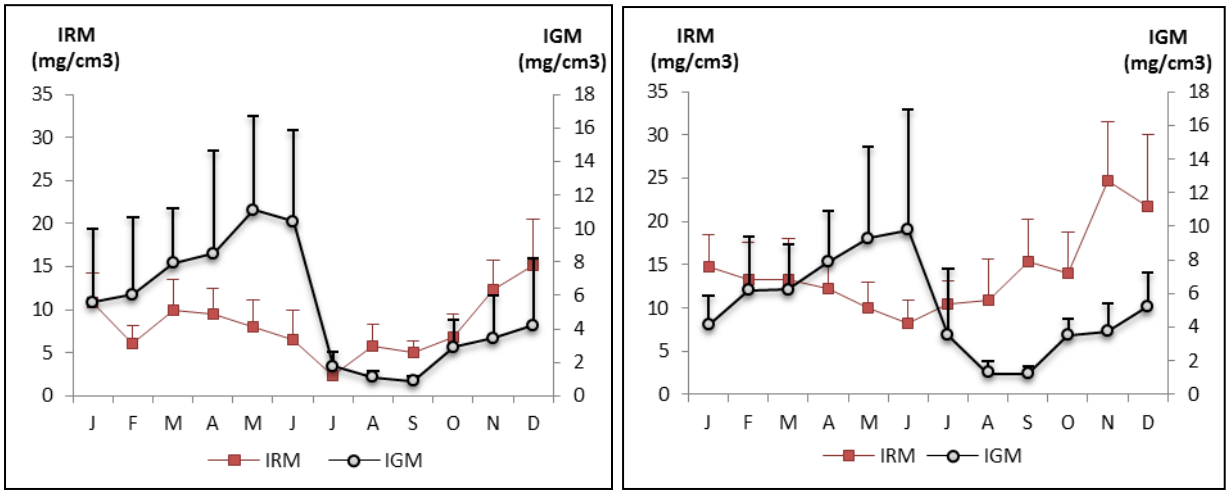


Figure 2. Variations mensuelles des indices physiologiques moyens (IGM, IRM) exprimés en mg/cm^3 au niveau de la salamandre et Stidia plage.

Discussion

Cette étude a pour but de localiser la période de ponte de l'oursin noir *Arbacia lixula* par l'observation mensuelle des changements des indices physiologiques (IGM, IRM).

Les valeurs minimes des IGM observées en hiver (5,61±4,33 mg/cm^3 à Salamandre et 4,13±1,77 mg/cm^3 à Stidia), sont analogues et reflètent le stade post-ponte des gonades qui se traduit par une période de repos sexuel après une longue et massive période de ponte. Tandis que les valeurs pics de l'IGM observés, suivie d'une régression expriment bien la croissance ultime des gonades, et donc la phase finale de la maturation gonadique qui précédera de toute évidence la ponte. La valeur du pic de Stidia (9,77±7,15 mg/cm^3) est légèrement plus faible que celle de Salamandre (11,11±5,62 mg/cm^3).

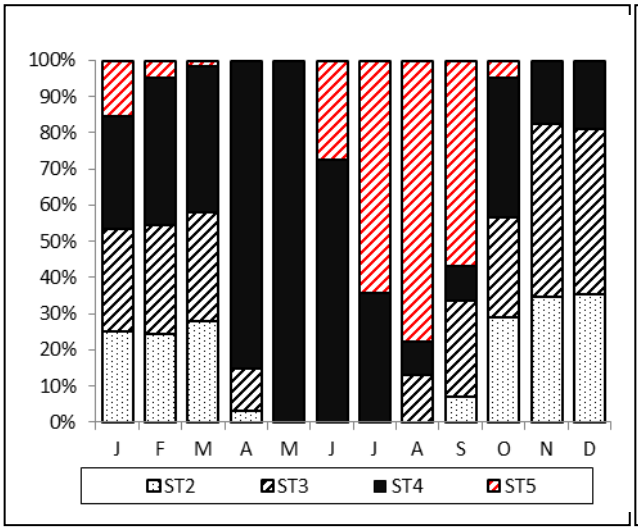
Ces oscillations traduisent bien la saisonnalité de l'activité gonadique d'*Arbacia lixula* au niveau des deux sites et démontrent le positionnement de la période de ponte entre la période printanière et estivale, débutant par le mois de mai à la salamandre et juin à stidia et se poursuivant jusqu'au mois de septembre.

Concernant le suivi de l'indice de réplétion, nous constatons que ces valeurs 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 aux plans quantitative et qualitative. Plus les ressources trophiques sont réduites plus l'indice de réplétion est faible.

Les pics de l'IRM, enregistrées dans les mois de décembre et de novembre respectivement à Salamandre et à Stidia avec les valeurs 15,16 ± 5,38 mg/cm^3 et 24,64 ± 6,86 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 minimes enregistrées en juillet à Salamandre et en juin à Stidia avec les valeurs respectives de 2,29 ± 1,03 mg/cm^3 et 8,26 ± 2,59 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 minimes correspondent bien avec les valeurs de l'indice gonadique qui sont maximales où les oursins allouent leur énergie au phénomène du frai qu'à l'alimentation.

- ✓ ***Etude macroscopique des gonades***



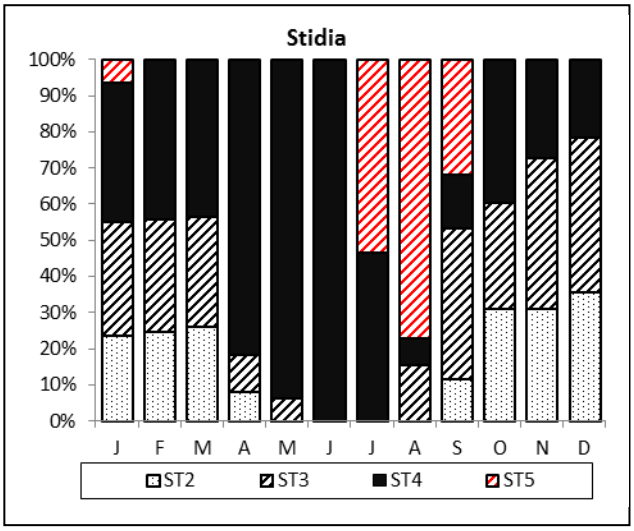


Figure 3: Evolutions mensuelles des stades macroscopiques de la maturité sexuelle de la population d'*A.lixula*, vivant à Stidia et la Salamandre. ST2 (stade 2 ; croissance), ST3 (stade 3; pré maturation), ST4 (stade 4; maturation) et ST5 (stade 5; ponte).

Dans le site de la Salamandre, les mois de janviers à mars et d'octobre à décembre, illustre la présence importantes d'individus en période de croissance et pré maturation avec des pourcentages élevée atteignant plus de 45% pour le stade 3 et près de 30% pour le stade 2.

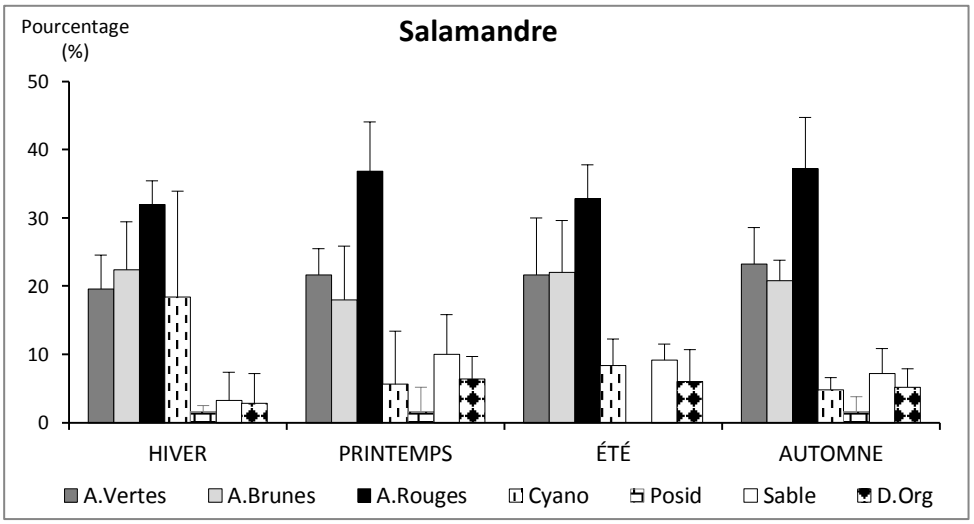
De février à juin, les oursins noirs marquent une forte activité de reproduction par la présence d'un fort pourcentage d'individus au stade 4 (maturation) avec plus de 50% de présence.

Les individus en période de ponte (stade 5) sont fortement observées dès le mois juin et se poursuivant jusqu'au mois de septembre. D'ailleurs en mois de juillet et d'aout ce stade est observé dans plus de 60% d'individus.

Ont notes aussi une faible présence d'individus en période de ponte (plutôt courte) durant le mois de janvier et moins en février marquant la fin d'une phase de ponte antérieure.

Presque le même schéma est observé pour les individus du site de stidia, concernant tous les stades de maturation gonadique, sauf pour le stade 5 ou il est moins étalée et réservé entre les mois de juillet et septembre, cependant avec une phase d'émission de gamètes-aussi importantes et intense qu'aux individus du site de la salamandre, et ceci pour la même période.

Analyse des contenus digestifs



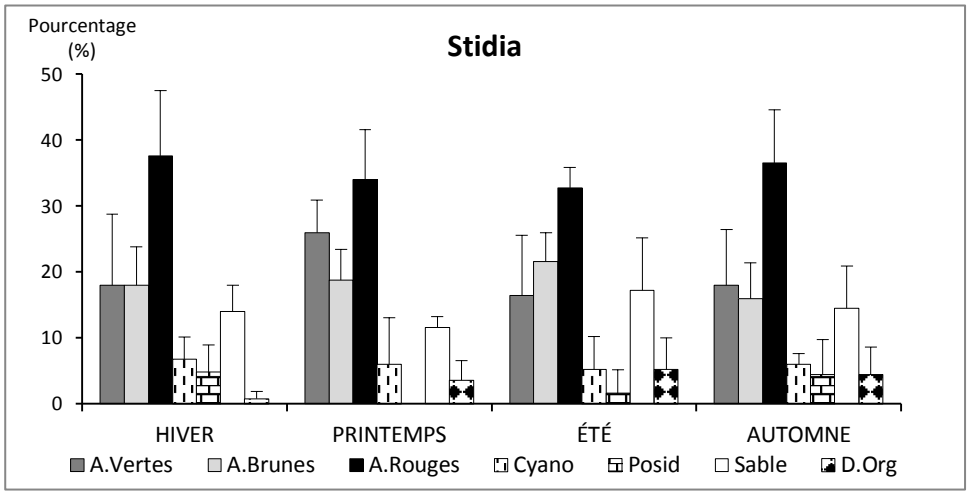


Figure 3. Principaux aliments consommés par les populations d'*A.lixula* vivants dans la région de Mostaganem (Salamandre et Stidia) et durant les quatre saisons

(Contributions moyennes exprimées en pourcentage).

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, les cyanobactères et enfin les feuilles de posidonie. 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 généralement les algues vertes en seconde place. Sauf pour le site de la salamandre ou les algues brunes arrivent en deuxième position par une légère dominance durant les saisons hiver et automne.

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	Hiver		Printemps		Eté		Automne	
Items	Salamandre	Stidia	Salamandre	Stidia	Salamandre	Stidia	Salamandre	Stidia
Algues vertes	**19.60**	18.00	**21.60**	26.00	**21.60**	16.40	**23.20**	18.00
Algues brunes	**22.40**	18.00	**18.00**	18.80	**22.00**	21.60	**20.80**	16.00
Algues Rouges	**32.00**	37.60	**36.80**	34.00	**32.80**	32.80	**37.20**	36.50
Total algues	**74.00**	73.60	**76.40**	78.80	**76.40**	70.80	**81.20**	70.50
Cyanobacères	**18.40**	6.80	**5.60**	6.00	**8.40**	5.20	**4.80**	6.00
Posidonie	**1.60**	4.80	**1.60**	0.00	**0.00**	1.60	**1.60**	4.50
Totale flore	**94.00**	85.20	**83.60**	84.80	**84.80**	77.60	**87.60**	81.00

Sable	**3.20**	14.00	**10.00**	11.60	**9.20**	17.20	**7.20**	14.50
Débris.Org	**2.80**	0.80	**6.40**	3.60	**6.00**	5.20	**5.20**	4.50

On note aussi une contribution importante de la fraction sable dans les contenus digestifs des oursins du site de Stidia qui est plus importante que celle retrouvée chez les oursins vivants à Salamandre avec des proportions allant de 10 à 17%.

Ensuite arrive la participation des cyanophycées dans les intestins des oursins noirs dans presque toutes les saisons avec 4,8 % à 8.4% de contribution. Sauf pour la saison hivernale à la salamandre ou elle devance la fraction sable avec 18% contre 3.2% attribué au sable.

La fraction débris organiques apparait comme la plus faible en raison des faibles valeurs enregistrées en matière de contribution des items dans les contenus digestifs des oursins noirs, elle varie de 0.8 à 6.4 % dans les deux sites, sachant que sa présence est légèrement plus importante à la salamandre qu'au stidia durant toutes les saisons.

La phanérogame *Posidonia oceanica* arrive en dernière position, avec de faible pourcentage de 1.6 à 4.8%, et elle est absente en printemps à stidia, et à la salamandre durant la saison estival.

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. Le régime alimentaire de ces oursins est nettement perçu comme herbivore présenté en des proportions très élevées par une totale flore comprise entre 77.6 et 94 %.

La fraction algale, à elle seule, a présenté des proportions prépondérantes allant de 70.56 à 81.2%. L'avantage très net des algues rouges avec des proportions allant de 32 à 37.6% est expliqué par la préférence des oursins de ce type d'algue par rapport au reste des types d'algues. Compte tenu que les deux sites sont riches en algues corallinacées encroûtantes notamment *Corallina sp, Lythophylum sp, Jania sp, Haliptilon sp, etc.*

Powis de Tenbosche (1978) conçoivent que la structure des dents a également des conséquences au niveau du régime alimentaire. Ainsi, en partant du principe que des dents plus solides permettent aux oursins de s'attaquer à des aliments plus durs, il explique le régime alimentaire d'*A.lixula* dont l'appareil masticateur est particulièrement robuste. Ce qui dégage 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 du sédiment 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* à une grande affinité pour les Corallinaceae encroûtantes durant toutes les saisons étudiées (octobre, mars et juillet 1988) dans l'ile 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 les saisons hiver et automne peut être expliqué au sens de Harper, (1969), où les oursins *Paracentrotus lividus* et *A.lixula* s'attaquent à une algue précise quand elle est abondante et se dirige vers d'autres quand elle devient rare.

La contribution des algues brunes (*Cystoceira sp, Padina pavonica, Dictyota dichotoma, Halopteris sp*,..) se retrouvent dans la troisième position en matière de préférence alimentaire parmi les algues macrophytes avec des proportions d'allant de 16 à 22.4%.

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 enfuis 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 (Boudouresque et al, 2006). Ces oursins n'ont recours à ce type d'alimentation que si la nourriture préférentielle fait défaut.

Enfin la fraction animale, négligé dans notre étude se compte rare et très peu abondante. Elle est essentiellement représentée que par de très jeunes gastéropodes.

Corrélation entre la contribution des algues macrophytes, les variations des indices physiologiques et l'évolution des stades gonadiques

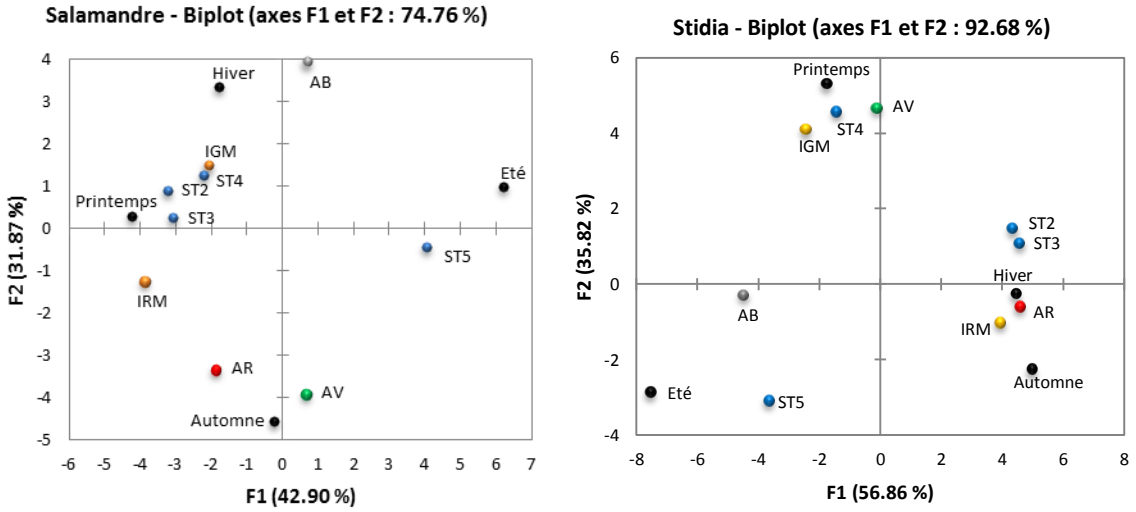


Figure 4. Analyse en composante principale illustrant les relations entre les indices physiologiques, contribution des algues macrophytes et le développement des stades gonadiques (**IGM** : indice gonadique moyen, **IRM** : indice de réplétion moyen, **AR** : algues rouges, **AB** : algues brunes, **AV** : algues vertes, **ST2** : croissance**, ST3 :** prématuration, **ST4** : maturation, **ST5** : la ponte).

- ***Salamandre***

D'après la figure 4, l'ACP engendre 74.76% de renseignements, et on peut repérer les conceptions suivantes :

- Les stades de maturation gonadique de croissance, pré maturation et maturation sont corrélées positivement avec l'indice gonadique durant les saisons hiver et printemps, et se connectent d'une façon remarquable en un si peu de temps. Ceci peut être expliqué par une rapide et puissante activité gonadique qui se développe durant ces deux saisons qui précèdent la phase de la ponte, et qui

s'annonce aussi par une forte consommation d'aliments illustré par des valeurs d'indice de réplétion important (la plus élevée est dans la saison printanière).

- Les populations d'oursins du site de la salamandre émettent leurs gamètes mâles et femelles avec une forte concentration durant la saison estivale, indiquant ainsi que c'est une ère propre à la période de ponte. En parallèle avec l'expulsion des gamètes, on aperçoit un repos alimentaire perceptible exercé par les oursins par des participations faibles d'algues macrophytes dans les intestins des oursins pendant cette saison.

- Au moment de la saison automnale, la consommation d'algues est à son plus haut niveau d'un point de vue qualité nutritionnel. En effet, cette saison est perçue comme étant la période ou les oursins noirs consomment les algues rouges d'une manière très importante, suivi des algues vertes. En conséquence ces deux fractions algales enregistrent leurs plus fortes contributions dans les intestins des oursins en cette saison comme décrit précédemment (figure 3), et interviennent fortement pour les performances gonadiques des individus qui traversent la phase de pré maturation et plus précisément le stade de maturation. L'interprétation, c'est que ces échinides après l'achèvement finale du phénomène de la ponte, se trouvent extenuées et vidés de leurs énergie déployés pour l'émission des gamètes, ils vont donc retourner ver leur alimentation préféré et la source d'énergie la plus fiable pour le réapprovisionnement et le recommencement de leurs cycle gonadiques.

- Les algues brunes se retrouvent en troisième position concernant le choix de l'alimentation pour les algues macrophytes. Par contre cette fraction se manifeste fortement pendant la saison hivernale et devient encore plus prononcé durant cette saison, où elle enregistre sa plus forte contribution. On signale que durant cette époque les algues brunes sont corrélées négativement avec les algues rouges, en conséquence la plus forte contribution des brunes est confrontée à la plus modeste contribution des rouges, traduisant ainsi le rôle des algues brunes pour les individus aux stades de la croissance particulièrement.

- ***Stidia***

En ce qui concerne le site du stidia, comme nous avons déjà signalé plus haut, ils n'y a pas de différence flagrantes entre les variations des différentes variables quantitatives utilisés. Par contre en les corrélons avec les variables qualitatives représentés par l'évolution saisonnière, on a puent percer quelques informations plus intéressante qu'on peut extraire.

En effet, le résumé de l'information comportés par plusieurs variables quantitatives et qualitatives, et générer par l'ACP portent 92.68% de l'information initial et reflètent quelques améliorations qu'on peut citer:

- On remarque que les stades de croissance et prématuration sont d'une extrême corrélation avec la consommation importante d'algues rouges, et qui se traduit par un indice de réplétion très élevé durant la saison hivernale et surtout automnale.
- La saison printanière exprime un nombre important d'individus en stade de maturation qui sont près à pondre, élevant ainsi le poids des gonades, qui se reflète à son tour par un indice gonadique le plus élevé de notre expérience.
- Les indices physiologiques sont d'une corrélation négative, où la valeur la plus importante de l'indice gonadique et confronté à une valeur presque la plus basse de l'indice de réplétion.
- L'émission des gamètes déclenchant la phase de ponte se situe comme celle localisé pour le site de salamandre, c'est à dire durant la

saison estival, avec l'assistance des algues brunes, qui a leurs tours enregistrent leurs performance la plus intéressante en cette saison. Durant cette saison aussi, on remarque plus ou moins un repos ou un ralentissement alimentaire signalé par un indice de réplétion le plus bas, et avec la consommation d'algues rouges la plus insignifiante.

Conclusion

L'oursin noir *A.lixula*, est considérer comme l'un des principaux invertébrés herbivore benthique de la méditerranée. Il est considéré dans les premiers mètres de profondeur comme une espèce clé dans la régulation des communautés algales et interviennent dans l'équilibre des écosystèmes par leurs simple actions de broutage.

L'objectif principal de notre travail est de déterminer de possibles corrélations qui existent entre la consommation des macroalgues et la reproduction par un suivi de l'évolution trophique et gonadique des oursins de l'espèce *Arbacia lixula* vivants dans deux sites de la côte de Mostaganem, au niveau de l'infralittoral Méditerranéen.

Les mesures du développement gonadique et l'intensité de collecte de nourriture macroscopique, ont traité l'aspect ***quantitatif***, et cela par l'utilisation des variations mensuelles et saisonnières des indices biologiques gonadique et de réplétion.

L'indice gonadique a montré des valeurs pics durant la saison printanière a la salamandre et en début d'été à stidia, toute fois la phase de ponte s'est prolongé jusqu'au mois de septembre dans les deux sites.

Le suivi des stades de maturation gonadiques dans les deux sites s'annonce similaire. Dans les deux sites, les mois de janviers à mars et d'octobre à décembre, sont propres aux individus en période de croissance et pré maturation. Tandis que le stade 4 (maturation) se manifeste grandement entre les mois de février à juin.

Les spécimens en période de ponte s'observent pleinement dès le mois juin, et se stade s'étale jusqu'au mois de septembre.

Le deuxième indice biologique de réplétion a révélé des valeurs pics durant la saison hivernale pour les deux sites. Ces valeurs ont été synchronisées avec la forte quantité d'algues consommées durant cette saison par les oursins.

Pour l'aspect ***qualitatif***, nous avons eu recours à une méthode simple et efficace connue par la méthode de contact de Jones (1968). Cette dernière bien qu'elle est approximative, elle est un outil sure et fiable, pour l'approche du régime alimentaire d'un oursin régulier, par le moyen de l'analyse des contenus digestifs.

Cette méthode nous a permis de conclure que l'alimentation de l'oursin noir *A.lixula* est très diversifiée, vu que le contenu digestif de ces oursins 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 corallinacées encroutantes.

La voracité de cet oursin pour les algues calcaires encroutantes semble être un phénomène générale (Kempf 1962; Neil & Larkum 1965). L'espèce *A.lixula* à un comportement de racleur vis-à-vis ce taxon (Ogden 1976). Sachant que ce dernier est présent en permanence dans le biotope.

Lors de la corrélation entre les variations des indices physiologiques, l'évolution des stades gonadiques et la contribution des algues macrophytes repérés dans les intestins des échinides, on a pu distinguer l'influence de ces algues en particulier les rhodophycées sur l'évolution gonadique avec un important indice gonadique, et particulièrement pendant les stades de croissance, prématuratuion et la maturation qui précède de la ponte. Ce taxon enregistre sa plus faible contribution durant la phase d'émission gonadiques et en compagnie d'un IRM bas.

En terme de notre étude, l'espèce *A.lixula* de la région de Mostaganem, nous a prouvé qu'il 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. Or, le développement gonadique est conditionné par cette diète.

Références bibliographiques

- **Agnetta D, Badalamenti F, Ceccherelli G, Di Trapani F, Bonaviri C, Gianguzza P. 2015.**Role of two co-occurring Mediterranean sea urchins in the formation of barren from *Cystoseira* canopy. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 152: 73-77.

- **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 JF. 1987.** *Relations trophiques entre quelques* espèces *d'echinodermes et le phytobenthos dans la baie de Port-Cros (Var, France).* Mém. D.E.A. Océanographie Biologique, Univ. P. et M. Curie, Fr. : 1-72.

- **Boudouresque CF, Mayot N, Pergent G. 2006.** Biologia marina Mediterranea, 13 (4) : 109- .*The outsanding traits of the functioning of the Posidonia oceanica seagrass ecosystem. Biol. Mar. Medit., 13 (4) : 109-113.*

- **Boudouresque CF, Verlaque M. 2013.** *Paracentrotus lividus*. In Sea Urchins: Biology and Ecology, chapter 21, Developments in Aquaculture and Fisheries Science, 38: 297-327.
- **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.
- **Fenaux L. 1968.** Maturation des gonades et cycle saisonnier des larves chez A. lixula, P. lividus et P. microtuberculatus à Villefranche-sur-Mer. Vie et Milieu, Série A, Biologie Marine, 19 : 1-52.
- **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 JF, Maggiore F. 1988.** Relation trophique entre les oursins *Arbacia lixula* et *Paracentrotus lividus* (Echinoïdea regularia) et le phytobenthos infralittoral superficiel de la baie de Port-Cros (Var, France). Sci Rep Port-Cros Natl Park Fr, 14: 81-140.

- **Harper JL. 1969.** The role of predation in vegetational diversity . *Brookha- ven Symp. Biol.,* 22 : 48-62 .

- **Jones RS. 1968.** A suggested method ior quantifying gut contents in herbi- vorous fishes. *Micronesica,* Guam, 4 (2) : 369-371.

- **Kempf M. 1962.** Recherches d'écologie comparée 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 Galoria (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.

- **Neill S.R.St.J., Larkum H., 1965**. Ecology of some Echinoderms in Maltese waters. *Symp. Underwater Assoc. Malta, 51-55.*

- **Ogden J.C. 1976.** Sorne aspects of herbivore-plant relationships on Caribean reefs ans seagrass beds. *Aqua. Bot.,* Netherl., 2 (2) : 103-116.

- **Pedrotti ML. 1993**. Spatial and temporal distribution and recruitment of echinoderm larvae in the Ligurian Sea. J mar biol Ass UK, 73: 513-530.

- **Powis de Tenbossche T. 1978.** *Comportement alimentaire et structures digestives de Paracentrotus lividus (Lamark) (Echinodermata, Echinodea).* Mémoire en sciences biologiques; Université libre de Bruxelles, Belg. : 1-82 + 25 fig. + 7 tabl. h.t.

- **Privitera D, Chiantore M, Mangialajo L, Glavic N, Kozul W, Cattaneo-Vietti R. 2008.** Inter- and intra-specific competition between *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* in resource limited barren areas. Journal of SeaResearch, 60: 184-192.
- **Régis MB. 1979b**. Analyse des fluctuations des indices physiologiques chez deux echinoides (*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* EchinodermataEchinideadans la région Marseillaise. Contrat N°87 34 00 66 IFREMER /GIS Posidonie. France. 16p

- **Semroud R., 1993**. *Contribution à la connaissance de l'écosystème à Posidonia océanica (L.). Delile dans la région d'Alger (Algérie): Etude de quelques compartiment*. These Doct, Sciences. Ecol. Mar., U.S.T.H.B., Alger, 129p.
- **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.

- **Verlaque M, Nédéléc H. 1983.** Biologie de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) sur substrat rocheux en Corse (Méditerranée, France) : alimentation des adultes. *Vie Milieu,* Fr., 33 (3/4) : 191-201.

- **Verlaque M. 1984.** Biologie des juvéniles de l'oursin herbivore *Paracentrotus lividus* (Lamarck) : sélectivité du broutage et impact de l'espèce sur les communautés algales de substrat rocheux en Corse (Méditerranée, France). *Bot. mar .,* Germ., 27 : 401-424.

- **Verlaque M. 1987.** *Contribution* à *l'étude du phytobenthos d'un* écosystème *photophile thermophile marin en Méditerranée occidentale. Etude structurale et dynamique du phytobenthos et analyse des relations faune-flore.* Thèse Doct. Etat, Sciences, Univ. Aix-Marseille II, Fac. Sel. Luminy, Fr.1-389 + 96 pl. + 36 tabl. h.t.

- **Wangensteen OS. 2013.** Biology and phylogeography of the black sea urchin *Arbacia lixula* (Echinoidea: Arbacioida). Thèse de Doctorat, Université de Barcelone, Espagne.

Caractéristiques physico-chimiques des miels algériens

MAKHLOUFI Chahra

Université ibn khaldoun Tiaret, faculté des sciences Agronomiques et vétérinaires 14000 Tiaret, Algérie

Résumé

La présente étude est menée en vue de caractériser du point de vue physico-chimique 66 échantillons de miels Algériens récoltés de différentes régions. Les critères physico-chimiques retenus ont été les suivants : La teneurs en eau, en HMF, en cendres, en sucres et en acidité, les mesures de l'activité diastasique, de l'activité de l'invertase, de l'activité de la gluco-oxydase, de la conductivité électrique, du pH et de la couleur. Il ressort des résultats de ces paramètres une grande variabilité entre échantillons considérés qui est probablement à l'origine des différences dans l'origine botanique et géographique. En prenant en compte l'ensemble des critères analysés, il s'est révélé que 41,99 soit 63,63% des échantillons étudiés ne sont pas en conformité avec les normes. Il est souhaitable de compléter le présent travail par analyse d'autres paramètres en parallèle avec d'autres techniques et sur tout le territoire Algérien afin de bien caractériser les miels Algériens et de contribuer à établir des normes propres à notre pays.

Mots clés : Miel, paramètres physico-chimiques, Algérie.

Introduction

Le miel est parmi les plus anciens aliments de l'humanité, produit biologique très complexe, dont la composition peut varier en fonction de nombreux facteurs (origine botanique, nature du sol, etc…). Selon Fabrocini (1999), Les différences qui existent d'un miel à l'autre sont essentiellement dues au type de nectar à partir duquel ils sont issus.

Le miel contient 181 substances (Louveaux, 1985 ; Sato et Miyata, 2000) cité par Ouchemoukh et al (2005). Il comporte les sucres (70-80) dont le glucose et le fructose sont les monosaccharides majoritaires, l'eau (10 à 20%) et d'autres constituants mineurs tels que les acides organiques, sels minéraux, vitamines, protéines, composés phénoliques, les acides aminés libres etc. Par ailleurs des études ont montré que le miel présente des propriétés antimicrobiennes. Cependant son utilisation diététique et thérapeutique a entraîné une hausse de son prix dans notre pays, ainsi que la méconnaissance de sa composition et l'absence de structures officielles de contrôle de qualité des produits locaux et importés, favorisent les fraudes chez la plupart des spéculateurs.

C'est dans ce sens que notre étude a été orientée afin de donner des indications sur la qualité des miel Algériens au moyen de la mesure des teneurs en eau, en cendres, en HMF, en sucres, en acidité, en pH, de la conductivité électrique, des activités de l'amylase, de l'invertase, et de la gluco-oxydase.

Matériel et méthodes.

La présente étude a été réalisée à partir de 66 échantillons de miels, collectés de différentes régions (Ouest, Centre, Est) durant les années 2003, 2004 et 2005.

Les analyses mélissopalynologiques ont été effectuées suivant la méthode de louveaux et al. (1978), afin de vérifier l'origine botanique des échantillons de miels présentés dans le tableau I.

Tableau I: Origine géographique et botanique des miels analysés

Ech.	Origine géographique	Origine botanique	Ech.	Origine géographique	Origine botanique
E1	Tizi -Ouzou	*Hedysarum*	E34	Blida	Multifloral
E2	Tizi -Ouzou	*Hedysarum*	E35	Alger	*Eucalyptus*
E3	Tizi -Ouzou	*Hedysarum*	E36	Alger	*Eucalyptus*
E4	Alger	*Echium*	E37	Tizi -Ouzou	*Hedysarum*
E5	Alger	Multifloral	E38	Tiaret	*Vicia*
E6	Alger	*Eucalyptus*	E39	Blida	Multifloral
E7	Relizane	*Citrus*	E40	Blida	Multifloral
E8	Alger	*Eucalyptus*	E41	Khmis meliana	*Eucalyptus*
E9	Setif	*Helianthus*	E42	Blida	*Pimpinella*
E10	Skikda	Multifloral	E43	Tiaret	Multifloral
E11	Jijel	*Hedysarum*	E44	Tiaret	Multifloral
E12	Ghardaia	*Eucalyptus*	E45	Mostaganem	*Eucalyptus*
E13	Alger	*Eucalyptus*	E46	Relizane	*Citrus*
E14	Alger	*Eucalyptus*	E47	Mascara	Multifloral
E15	Blida	Multifloral	E48	Tiaret	Multifloral
E16	Blida	Multifloral	E49	Tiaret	*Eucalyptus*
E17	Tizi -Ouzou	Multifloral	E50	Tiaret	Multifloral
E18	Tiaret	*Pimpinella*	E51	Chlef	*Citrus*
E19	Alger	*Eucalyptus*	E52	Constantine	*Multifloral*
E20	Blida	Multifloral	E53	Mila	*Hedysarum*
E21	Blida	Multifloral	E54	Tiaret	*Pimpinella*
E22	Tizi -Ouzou	*Pimpinella*	E55	Sidi Lazrague	*Eucalyptus*
E23	Tizi -Ouzou	Multifloral	E56	Saida	*Centaurea*

E24	Tizi -Ouzou	Multifloral	E57	Sidi Bel Abbes	Crassulaceae type *Sedum*
E25	Nacerea	Multifloral	E58	Djelfa	*Eucalyptus*
E26	Tébessa	*Rosmarinus*	E59	Medea	Multifloral
E27	Medea	Multifloral	E60	Hanacha	*Eucalyptus*
E28	Djelfa	*Tamarix*	E61	Blida	*Eucalyptus*
E29	Djelfa	*Rubus*	E62	Tlemcen	*Pimpinella*
E30	Setif	Multifloral	E63	Tiaret	*Eucalyptus*
E31	Medea	*Daucus*	E64	Tiaret	*Hedysarum*
E32	Constantine	Multifloral	E65	Medea	*Pimpinella*
E33	Chlef	Multifloral	E66	Tiaret	*Eucalyptus*

Les analyses physico-chimiques ont été effectuées selon les méthodes harmonisées de la Commission Européenne (Bogdanov et al 1997) :

- **Sucres** : par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) équipé d'un détecteur ampérométrique pulsé avec informatique et logiciels de pilotage et d'acquisition, Mesurés selon la méthode de pourtallier, harmonisée par la Commission Européenne (Bogdanov et al 1997).
- **Teneur en eau** : méthode réfractométrique de CHATAWAY (1932) et de WEDMORE (1955), réalisée à l'aide d'un réfractomètre ABBE, méthode harmonisée de la Commission Européenne (Bogdanov et al 1997).
- **pH et acidité** : Méthode de titrage au point d'équivalence, harmonisée par la Commission Européenne (Bogdanov et al 1997).
- **Conductivité électrique**: La détermination a été réalisée à l'aide d'un conductimètre à compensation automatique de température, méthode harmonisée de la Commission Européenne (Bogdanov et al 1997).
- **Cendres** : Elles ont été obtenues par la méthode harmonisée de la Commission Européenne (Bogdanov et al 1997)..
- **HMF** : déterminé par la méthode de Winkler, réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VISIBLE à 550 nm, méthode harmonisée de la Commission Européenne (Bogdanov et al 1997).
- **Activité enzymatique** :
- **Activité de l'amylase** : méthode de Phadebas, réalisée à l'aide d'un Spectrophotomètre, méthode harmonisée de la Commission Européenne (Bogdanov et al 1997)
- **Activité de l'invertase** : déterminée par la méthode de Siegenthaler (1977), méthode harmonisée de la Commission Européenne (Bogdanov et al 1997).
- **gluco-oxydase :** est déterminée par la mesure de l'accumulation du peroxyde d'hydrogène

Résultats et discussion

Les résultats des paramètres étudiés sont donnés dans le tableau II.

Tableau II. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons de miel.

Variables	Nombre d'échantillons	Moyenne	Minimum	Maximum	Ecart-type
Amylase	66	17,36364	4,00000	40,0000	9,02754
Invertase (IN)	66	8,09091	0,00000	20,0000	5,03137
HMFmg/Kg	66	18,52727	0,50000	123,9800	20,34912
H2O2 mg/g/h	66	1,05455	0,00000	3,0000	0,86726
Acidité libre meq/kg	66	10,92879	3,00000	22,5000	3,69264
Acidité combinée meq/kg	66	17,77576	2,00000	44,5000	11,67344
Acidité total meq/kg	66	28,52045	5,00000	56,0000	12,44245
pH	66	3,93742	3,40000	6,2300	0,39524
Conductivité électrique S/cm 10^{-4}	66	6,52606	2,12000	12,3600	2,13297
Cendres	66	0,17323	0,01000	0,4000	0,08935
Humidité	66	16,50833	13,92000	20,2000	1,56303
Trehalose	66	0,00014	0,00000	0,0020	0,00043
Glucose	66	0,29132	0,21200	0,3520	0,02912
Fructose	66	0,41814	0,34000	0,4910	0,03438
Mélibiose	66	0,00006	0,00000	0,0040	0,00049
Isomaltose	66	0,01058	0,00000	0,0480	0,00790
Saccharose	66	0,01136	0,00000	0,0430	0,00950
Turanose	66	0,01212	0,00000	0,0370	0,00805
Raffinose	66	0,00092	0,00000	0,0170	0,00254

Mélézitose	66	0,00038	0,00000	0,0050	0,00115
Maltose	66	0,01585	0,00000	0,0540	0,00819
Erlose	66	0,00397	0,00000	0,0370	0,00659
F/G	66	1,44848	1,11000	2,0000	0,17147
F+G	66	0,70945	0,55200	0,7980	0,04840
Couleur mm Pfund	66	74,82576	18,00000	119,0000	23,13680

Humidité.

Les résultats des analyses de nos échantillons varient de 13,92 à 20,20 avec une moyenne de 16,58 % (tableau II). Tous les échantillons ne dépassaient pas les valeurs fixées par les normes internationales. Le miel d'*Hedysarum* de Tizi-Ouzou (E3) marque la valeur la plus élevée (20,2%), due probablement à une maturation incomplète dans les rayons liée à une récolte prématurée ou à un stockage dans un lieu humide. En effet, d'après Bogdanov et *al* (1995), les teneurs en eau élevées sont à mettre au compte d'une récolte précoce et d'un climat humide. Tandis que le miel d'*Helianthus* de Setif (E9), la valeur la plus basse (13,92%) qui peut être liée au climat chaud et sec (semi aride) de cette région et dont l'extraction probablement faite durant les périodes très chaudes d' oū la déperdition d'eau. Selon Hooper (1980) cité par Makhloufi (2000), le miel est hygroscopique, peut aussi bien absorber l'humidité de l'air que perdre de l'eau, suivant que l'atmosphère est humide ou sec. La teneur en eau des miels dépend également de l'origine florale et de la force de colonies d'abeilles (Louveaux, 1985).

Il faut cependant savoir selon Schweitzer (1998) qu'un miel dont la teneur en eau au dessus de 18% risque de s'altérer, ce qui correspond à 12,12% de nos échantillons et qui sont E1,E3,E12,E21,E30,E43,E50 et E51 ayant respectivement des teneurs en eau de 18,32 , 20,2 , 19,80 , 18,80 , 19,12 , 19,40 , 18,58 , et 18,60 %. Toutefois les valeurs de l'acidité, de l'H.M.F, et de l'activité diastasique sont inclues dans les normes internationales de qualité pour ces échantillons. Seuls deux d'entre eux avaient des teneurs élevées en HMF (110,71 et 123,98 mg/kg), ce qui explique la fraîcheur des échantillons, par contre les valeurs du pH sont basses, elles varient de 3,40 à 3,90. Compte tenu de la teneur en eau élevée et pH bas, les échantillons sont sujets d'une détérioration. Cependant il existe des variations d'un miel à un autre. Persano Oddo et Piro (2004) apportent que selon la saison de production et le climat, les miels montrent quelques différences dans la teneur en eau.

H.M.F

L'HMF est un excellent indicateur de vieillissement, la limite maximale étant de 40 mg /kg. La nouvelle directive européenne prévoit de porter ce maximum à 80 mg/kg pour les miels d'origine tropicale. Schweitzer (2003), rapporte qu'un miel de qualité ayant le maximum de ses propriétés diététiques et sensorielles ne devrait pas dépasser 10 à 15 mg/kg.

La teneur en HMF des miels étudiés varie de 0,5 à 123,98 avec une moyenne de 18,52 mg/kg (Tableau II). Par ailleurs 96,97 % des miels analysés ne dépassent pas 40mg/kg d'H.M.F, excepté deux d'entre eux soit 3,03 % (E12 et E30) sont largement au dessus, ayant respectivement une teneur en HMF de 110,71 et 123,98 mg/kg. Bien que l'échantillon 12 d'Eucalyptus de Ghardaia présente une forte teneur en HMF, l'activité diastasique

est supérieure à 8 (10), valeur minimale requise par la plupart des législations probablement il s'agit d'un vieux miel mais qui n'a pas été chauffé exagérément. Or le climat saharien et aride de cette région doit être mis en rapport avec la hausse de ce taux d'HMF. Tandis que l'échantillon 30 multifloral de Setif ayant la teneur la plus élevée en HMF, possède une activité diastasique de 4 et celle de l'invertase nulle ce qui expliquent qu'il a été soumis à une forte chaleur. D'après Schweitzer (2005), l'HMF apparaît spontanément dans les miels et cela d'autant plus rapidement que ceux-ci sont acides (pH bas) ou portés à haute température.

Selon Adam et *al (1974)* cité par Belaid (1999), la taux élevé d'HMF dénote parfois l'adjonction des sucres intervertis. De même Schweizer, (2003) apporte que l'HMF augmente également lors de certaines adultérations.

En outre, nos résultats indiquent que la teneur en HMF de trois échantillons (E28, E50 et E51) est très faible même presque nulle et qui sont respectivement 1,84, 0,5 et 0,5 mg/kg. Ce sont des miels frais et qui semble n'ont subit aucun traitement, cala a été confirmé par leur bonne activité enzymatique. Le fait que la teneur en eau de ces miels soit conforme aux normes, à l'exception de l'échantillon 51 qui marque une valeur légèrement élevée (18,60 %), atteste que ce sont des échantillons qui ne risquent pas de s'altérer rapidement et de bonne conservation principalement l'échantillon 28 qui en plus de sa teneur faible en eau (14,2 %), avait un pH élevé (5). Clement et Callen (2001) cité par Makhloufi (2000), signale que la plupart des miels ont un pH relativement acide. Ce dernier est d'autant plus élevé et proche de la neutralité que le miel est jeune, fraîchement récolté. Schweitzer (2005), affirme également que ni les nectars , ni les miels frais ne contiennent de l'HMF, en effet de nombreuses analyses au niveau de son laboratoire ont montré que ces taux élevés sont presque exclusivement rencontrés dans les miels en provenance des grands circuits de conditionnement. Les miels vendus directement par les apiculteurs ne dépassent que rarement les 10 mg/kg et pratiquement jamais les 20 mg/kg.

pH et Acidité

Comme le montre le tableau II, le pH des miels étudiés est compris entre 3,40 et 6,23 avec une moyenne de 3,92.Ces résultats confirment le caractère acide des miels qui est due à la présence d'acides organique, principalement à l'acide gluconique(Nanda et al, 2003).

Cela a été confirmé par White et al (1958) cité par et Bogdanov, Ruoff et Persano Oddo (2004) selon qui tous les miels sont acides avec un pH généralement compris entre 3,5 et 5,5.

Le pH est une mesure qui permet de déterminer l'origine florale du miel. En effet selon Gonnet (1986), les miels dont le pH est situé entre 3,5 et 4,5 sont issus de nectar par contre ceux provenant des miellats sont compris entre 5 et 5,5 et les valeur intermédiaires correspondent à des mélanges de miels de nectar et de miellat. Comparativement à ces données, 96,963% des échantillons analysés sont des miels issus de nectar et 3,03 % (E28 et E59) sont des miels de miellat ayant respectivement des indices de couleur de 83 et 62 mm Pfund correspondant à la couleur ambré clair.

On constate que le pH de l'échantillon 59 d'*Eucalyptus* est proche de la neutralité (6,23), et ayant des valeurs faibles en eau et en HMF, respectivement 14% et 2,25 mg/kg avec une activité diastasique de 11 par conséquent, il s'agit d'un miel frais qui n'a pas été soumis à une forte chaleur sans risque de fermentation et qui se conserve bien. De même pour l'échantillon 28 de *Tamarix* dont le pH est de 5.

Terrab et *al* (2002) ont observé que le miel de miellat provenant du Maroc possède un pH de 4,28 et les miels *d'Eucalyptus* et multifloraux ont un pH de 3,65 et 3,72, respectivement.

En outre le pH du miel de miellat Suisse a enregistré une valeur de 4,4 (Bogdanov ,1997).

Par ailleurs l'acidité libre, l'acidité totale et le pH sont très importants pour distinguer et classer les miels monofloraux alors que les lactones ne fournissent pas des informations utiles en raison de leur forte variabilité (Persano Oddo et al , 1986 Persano Oddo et Piro, 2004).

Les résultats des analyses d'acidité de nos échantillons varient entre 3 et 22,50 meq/kg avec une moyenne de 10,92meq/kg (tableau II). Bien qu'il existe de différence d'un échantillon à un autre, les valeurs déterminées ne dépassent pas la valeur maximale d'acidité libre exigée par le Codex Alimentarius (1998), à savoir 50 meq/kg. On observe que la plus faible valeur est marquée par l'échantillon 38 de *Vicia* (3 meq/kg), ayant des teneurs faibles en eau (15,08%) et en HMF (17,97mg/kg) et une mauvaise activité diastasique (6) qui expliquent qu'il a été chauffé exagérément, par contre le miel 21 a la teneur la plus élevée (22,5) meq/kg), vue sa bonne activité diastasique (20) et sa teneur en HMF basse (26,2mg/kg) le miel est frais et n'a pas été chauffé exagérément ainsi sa teneur élevée en acidité pourrait être la conséquence d'une action catalytique de ces acides sur les sucres, entraînant la hausse du taux d'HMF et l'intensification de la couleur foncée du miel. Le résultat obtenu peut se traduire par la richesse du nectar en acides organiques et d'autres secrétions de l'abeille qui enrichissent le miel au fur et à mesure de sa formation .Cependant la teneur en eau est de 18,8% par conséquent, il risque de fermenter. En effet Horn et lullmann (1992), rapporte qu'il existe quelques sortes de miels qui ont une teneur naturelle en acide plus élevée. En outre la présence de ces acides contribue à la saveur et à la stabilité du miel contre la détérioration microbienne.

Il existe des différences entre les résultats probablement liées à la race d'abeille, à l'environnement géographique, à la flore butinée et au climat qui contribuent à accentuer ces différences.

Couleur

L'indice de couleur de nos échantillons varie entre 18 et 119 avec une moyenne de74,82 mm Pfund. Par ailleurs le classement des miels de plus clair au plus foncé obtenu avec les indices de Pfund est, 3miel blancs, 7miels ambrés extra clairs, 36 miels ambrés clairs,17 miels ambrés et 3 miels foncés.

Les échantillons blanc, ambré extra clair et ambré clairs nous paraissent à l'observation clairs et sont représentés par les miels monofloraux de *Citrus*, *Rosmarinus,Tamarix, Hedysarum Echium, Pimpinella* et *Eucalyptus* alors que les miels ambrés paraissent sombres notamment

les miels d'*Helianthus*, *Centaurea*, *Daucus*, *Rubus*, type *Sedum* et *Eucalyptus* et les miels foncés par celui d'*Eucalytus.* On a constaté que la couleur des miels d'*Eucalyptus* et celle des miels multifloraux sont imprécises. Elles sont très variables. On conclue de ces observations que la couleur varie fortement selon l'origine florale, constatation prouvée par Schweitzer (2001) qui rapporte que la coloration est une caractéristique physique dépendant de l'origine du produit mais également un élément sensoriel qui détermine en partie le choix du consommateur.

L'indice le plus faible (18 mm Pfund) a été marqué par E7 de *Citrus* caractérisant la couleur blanche qui peut être selon Aubert et Gonnet (1983) lié à la qualité de pigmentation et le miel 12 d'*Eucalyptus* foncé ayant la valeur la plus élevée (119 mm Pfund) a été déjà mentionné en raison de sa forte teneur en HMF ainsi que l'échantillon 30 multifloral ambré (87,5 mm Pfund) .

Sucres

Les principaux sucres du miel sont le fructose et le glucose, leur concentration dans les échantillons analysés se situe entre 55,20 et 79,20 avec une moyenne de 70,95% (Tableau II). Ces teneurs en sucres réducteurs sont inclues dans les normes préconisées par Bogdanov et al (1999) qui sont d'au moins 60% pour les miels de nectar et 45% pour les miels de miellat ou mélanges de miel de miellat et de nectar. Ainsi, en analysant nos

résultats tous nos échantillons sont des miels de nectar. Seuls deux d'entre eux, les échantillons E56 et E59 ayant des valeurs (58,90 et 55,20%), se rapprochant de celle fixée pour les miels de nectar déjà citée. En outre, la bonne activité amylasique (15 et 11) et la teneur en HMF basse (16,96 et 2,25 mg/kg) de ces échantillons, nous ont incité à affirmer que ce sont des miels qui ne sont pas falsifiés par l'adjonction de sirop de sucre inverti plutôt des miels en léger mélange avec du miellat. Par ailleurs les résultats obtenus révèlent la maturité satisfaisante de 96,96% de nos échantillons. De même la valeur du rapport fructose /glucose est supérieur à 1 pour tous les miels. Ce qui prouve également qu'il n'y a pas eu de fraudes par l'adjonction de sirop inverti. Ce rapport apporte également quelques informations sur l'état de fraîcheur du miel, la valeur élevée du rapport étant pour le miel âgés (White et al, 1961). Cependant, dans nos échantillons E16 marque la valeur la plus élevée (2), probablement il provient du nectar ou prédomine le fructose et il n'est pas âgé, on a confirmé sa teneur en HMF de 30,07 mg/kg et celle de son indice diastasique de 11.

Par ailleurs la teneur en saccharose des échantillons de miels analysés varie de 0 à 4,30 avec une moyenne de1,13%. Ces résultats ne dépassent pas la valeur maximale fixée par les normes internationales (15%).

En examinant les concentrations en saccharose de nos miels, on constate que leurs taux sont faibles même inexistant pour certain d'entre eux. En effet, Belaid (1999) n'a pas détecté ce disaccharide dans les miels Algériens. Ce qui nous conduit à prédire que ces miels sont mûrs, car selon Azeredo et al (2003), un miel récolté précocement possède une teneur élevée en saccharose.

L'analyse de spectre des sucres révèle des différences entre échantillons. Cela peut être lié selon Schweitzer (2004) à leurs origines végétales.

Il ressort des résultats du profil des sucres des différences de concentration d'oligosaccharides entre les échantillons, notamment 7(10,60%) des miels analysés contiennent du tréhalose dont la teneur varie entre 0,1 et 0,20 % et il se trouve sous forme de traces dans 4(6,06%) miels.

La présence de mélézitose a été relevée dans 11(16,66%) échantillons à une concentration qui se situe entre 0,10 et 0,50% tandis que dans 3 (4,54%) d'entre eux, il se présente sous forme de traces, 17 (25,75%) échantillons marquent des teneurs en raffinose, comprises entre ,10 et 0,90%, un seul échantillon (1,51%) en contient des traces.

Toutefois, il s'est avéré que le mélibiose est présent uniquement dans l'échantillon E59 avec une teneur de 0,40%. En effet d'après Barbattini et *al* (1991) ; Fiori et *al* (2000), il y a des différences considérables entre les miels de nectar et de miellat. Ces derniers contiennent des quantités importantes d'oligosaccharides, principalement les trisaccharides, mélézitose et raffinose qui sont absents dans les miels de nectar.

La composition du spectre en divers sucres ainsi que leurs proportions varient donc selon l'origine botanique.

D'autre part une tentative pour différencier entre les miels de miellat a été étudiée par Von der Ohe et Von der Ohe (1996). Ils ont trouvés des différences dans la qualité et la quantité des sucres, tréhalose, raffinose et de deux oligosaccharides, appelés L1 et L2 .

De plus, il s'est avéré que le miel de Metcalfa , peut être distingué des autres miels de miellat par sa richesse en maltotriose et en oligomères appelés dextrines, nouveau type de miel de miellat produit surtout en Italie. (Bogdanov et *al*, 2004). Par ailleurs ces données nous font penser, le fait que la conductivité électrique et l'activité de l'invertase soient élevées dans les miels E5, E17, E28, E41 et E49 pourraient être dues à la plus grande teneur en miellat de ces miels. Cependant les miels E14, E19, E21, E35 et E43 présentent une activité de l'invertase basse bien qu'ils possèdent des valeurs de l'activité diastasique et de la conductivité

électrique élevée, probablement ces échantillons sont âgés ou surchauffés car l'invertase est très sensible à la chaleur et aux conditions de stockage que l'amylase.

Pour le maltose, indicateur de maturation du miel, l'échantillon 30 marque une teneur élevée (5,40%), il à été probablement soumis à une chaleur élevée et qui peut avoir pour effet la réduction de ses teneurs enzymatiques, on a confirmé que sa teneur en HMF est de 123,98 mg/kg. comme il a été déjà mentionné. Selon White et *al* (1962) cité par Cabrera et *al* (1997) le maltose est un disaccharide qui généré dans le temps par l'action de transglucosilase, la concentration en maltose est fonction des manipulations apicoles susceptibles de réduire plus ou moins les enzymes durant la période de stockage.

L'erlose a été identifié dans 37 échantillons avec une concentration qui se situe entre 0,10 et 3,70%. Il se présente à l'état de traces dans 13 échantillons. Cependant la concentration en ce sucre la plus élevée (3,70%) a été marquée par E59, ce qui est normal car selon Cabrera et al (1997), l'erlose est un indicateur d'identification du miel d'*Euclyptus*.

Le rapport fructose/glucose et la concentration de saccharose sont de bons critères pour la différencier les miels monofloraux (Bogdanov et *al* 1999).

Cendres

Les teneurs en matières minérales de nos échantillons sont comprises entre 0,01 et 0,40 avec une moyenne de 0,177% (tableau II) et ne dépassent pas la norme préconisée par le Codex alimentarius qui est de 1,2%.

Bogdanov et *al* (1999), rapportent que la teneur en cendres dépend de l'origine botanique du miel, ainsi le miel issu des nectars a une teneur en matières minérales ne dépassant pas 0,6%, tandis que celle du miel de miellat ou mélange avec du miel de nectar est comprise entre 0,6 et 1,2% (Cedex alimentarius, 1998). Parallèlement, Popek (2002), a démontré que le miel de miellat Polonais a une teneur en cendres de 0,56%. Comparativement à ces normes, nos échantillons sont tous des miels de nectar ou en léger mélange à des miellats.

Les différences de teneur entre les échantillons considérés sont la conséquence de certains facteurs, comme la date de récolte, la proportion des différents nectars récoltés qui s'ajoutent à la variété botanique des espèces butinées, au climat et à l'origine de provenance des échantillons contribuant à accentuer et à comprendre les différences existant entre les résultats. Il convient aussi de noter l'effet du mode d'extraction et éventuellement celui de la pollution sur la composition du contenu minéral des miels.

Récemment des études sur la relation avec l'origine géographique ont été tentées, notamment les travaux de Lasceve et Gonnet (1974) et de Feller et *al* (1989), ont bien confirmé qu'il y a corrélation entre le contenu minéral et l'origine géographique. Egalement Aupy et *al* (1994) affirment que La composition chimique du miel dépend de la nature du sol. De plus Feller et *al* (1989), ont montré la prédominance de l'influence marine sur les concentrations en éléments minéraux des miels canadiens.

D'une manière générale, Il ressort de nos résultats l'existence d'une relation de la couleur des miels et leur teneur en cendres. D'après Louveaux (1968) cité par Makhloufi (2000), les miels claires sont moins riches en cendres que les miels claires.

Conductivité électrique

Les 66 échantillons de miels étudiés présentent une conductivité électrique qui varie de 2,12 et 12,36 avec une moyenne de $6{,}52.10^{-4}$ S/cm (tableau II). Nos résultats concordent avec ceux rapportés par Gonnet (1986) cité par Makhloufi (2000) qui sont de 1 à 15.10^{-4} S/cm .

Cette mesure permet de séparer les miels de nectar des miels de miellat. La nouvelle directive le prend en compte pour certaines appellations (Schweitzer, 2003). En effet selon Bogdanov (1999), le miel de nectar et les mélanges des miels de nectar et de miellat possèdent une conductivité ne dépassant pas 8 .10 S/cm, tandis que celle de miel de miellat supérieure à 8 .10^{-4} S/cm. Comparativement à ces normes 27,27% des échantillons sont des miels de miellat, le reste est issu de nectar ou mélanges des miels des deux origines. Ces observations concordent avec celles de Piazza et al, (1991) qui affirment que La conductivité représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel et qui dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel ; plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée et il existe une relation linéaire entre ces paramètres. Cela a été également confirmé par Accorti et al (1987) cité par Bogdanov et al (2004), selon qui la conductivité électrique et les cendres sont corrolés, néanmoins, certains de nos miels n'évoluent pas dans le sens établi par les auteurs. Jusqu'à présent D'après Persano Oddo et Piro (2004), la conductivité électrique est le paramètre le plus utilisé pour la classification des miels unifloraux. Cependant il ressort de nos résultats que la conductivité électrique des échantillons d'Eucalyptus est comprise entre 3,71 et 11,58.10^{-4} S/cm, Ce qui est normal pour les miels monofloraux d'*Eucalyptus* dont la valeur de la conductivité varie fortement.

Activité enzymatique

L'activité diastasique est un facteur de qualité, bon indice de la teneur en amylase. L'activité diastasique des échantillons analysés varie entre 4 et 40 avec une moyenne de 17,36 (tableau II). Cependant 9,09% (E15, E38, E46, E47, E63 et E30) de nos miels présentent une activité diastasique inférieure à 8, valeur minimale requise par les législations, avec une tolérance jusqu'à 3 pour les miels naturellement pauvres en enzymes à condition que la teneur en HMF de ces miels ne dépasse pas 15mg/kg. En effet d'après Schweitzer (2000), certains miels ont de façon naturelle, une faible activité enzymatique, le cas le plus connu est celui des miels de rutacées : oranger, citronnier, c'est également le cas de l'arbousier. Ainsi les types de miels analysés de , *Rosmarinus* et de *Citrus* ont des indices diastasiques bas dont la valeur moyenne de 6-10. Ce sont des miels appartenant à la catégorie des miels dont la teneur naturelle en enzymes est basse, on a confirmé la moyenne de leur teneur en HMF de 2-18mg/kg tandis que celle des miels de *Eucalyptus, Rubus, Daucus, Hedysarum, Helianthus, Tamarix, Centaurea, Pimpinella* et crassulacea type *Sedum* sont élevées avec la valeur moyenne de 15-40. Nos observations sont similaires à celles de Persano Oddo et al (1990) pour les miels de *Citrus*, de *Rosmarinus*, d'*Eucalyptus*, d'*Hedysarum* et d'*Helianthus.*

En outre, on note que les échantillons 15, 38, 47, et 63 possèdent respectivement des indices diastasiques de 5, 6, 5 et 6 avec des valeurs respectives en HMF de 28,05 ; 17,97 ; 17,8 ; et 15,57mg/kg, ce qui nous incitent à penser qu'ils ne s'agissent pas de miels âgés mais surchauffés, tandis que l'échantillon 30 multifloral a été déjà mentionné en raison de sa forte teneur en HMF (123,98mg/kg) et de son activité diastasique la plus basse (4). Ces deux dernières mesures reflètent l'état de fraîcheur du miel et montrent qu'il a été préalablement soumis à un chauffage, qui peut éventuellement avoir pour effet une réduction de sa teneur enzymatique. Par ailleurs les valeurs de l'indice de l'activité amylsique (40), de l'HMF(1,84 mg/kg), de l'humidité (14,2 %) et de celle du pH(5) de l'échantillon 28 de *Tamarix* indiquent la maturité et la fraîcheur du miel , prouvent qu'il na pas été chauffé, attestant ainsi que le produit se conserve mieux , sans risque de fermentation ou d'altération, échantillon de très bonne qualité. On constate également que les divers types de miels analysés montrent des différences de l'activité enzymatique, très probablement due selon Persano Oddoet al (1990) ; Persano Oddo et al (1999) ; Persano Oddo et Pero(2004), aux quantité de nectars récoltée et à l'état physiologique des glandes durant la saison de production même si les enzymes sont ajoutés dans le miel principalement par l'abeille.

On a remarqué que la majorité des miels analysés ayant une activité diastasique élevée, enregistre des valeurs de la conductivité électrique élevées à titre d'exemple les échantillons 28, 41, 42 et 43 qui présentent respectivement des mesures de conductivité électrique de 8,29, 11,58, 10,34 et 12,36.10^{-4} S/cm correspondant

à des valeurs de l'activité de l'amylase suivantes, 40, 30, 25 et 20. Il est bien connu que les miels de miellat ont une activité diastasique nettement supérieure à celle des miels de nectar Ce qui signifie la présence probable de miellat

Il convient de signaler que tous nos échantillons de miels ayant des teneurs élevées en eau à l'exception de l'échantillon 30 déjà mentionné, possèdent des valeurs en activité diastasiques importante et des teneurs en saccharoses très faibles. De ce fait on peut prédire qu'il s'agit de miels issus de nectar dilué, ainsi l'abeille, en fabriquant le miel enrichit celui-ci en amylase qui est à l'origine de faibles concentrations en saccharose de ces échantillons.

Les résultats (Tableau II) montrent que l'activité de l'invertase se situe entre 0 et 20 avec une moyenne de 8,09 IN. Cependant 42 (63,63%) échantillons ne sont pas conformes à la norme de qualité fixée pour ce paramètre qui est de 10IN, mais pour les miels naturellement pauvres en enzymes, un indice de plus de 4 est recommandé (Bogdanov, 1999). Outre que les miels de *Rosmarinus* et de *Citrus*, connus pour leur faible teneur enzymatique, de très faibles valeurs ont été enregistrées pour certains échantillons, chez lesquels l'invertase peut être absente. Ce qui correspond à 38 (57,57%) des échantillons considérés. Toutefois 34 (51,51%) d'entre eux présentent des valeurs en HMF conformes aux normes ce qui nous donnent à penser qu'ils s'agissent de miels chauffés.

Il convient de noter que les échantillons 12 de Ghardaia à climat aride, très chaud et 30 de Sétif à climat semi aride, présentent des valeurs respectives de l'invertase de 1 et 0. Ce phénomène pourrait être en dehors du facteur climat la conséquence d'un traitement thermique exagéré, déterminant la réduction de l'activité enzymatique, la hausse du taux d'HMF qui est respectivement 110,71 et 123,98mg/kg et l'intensification de la couleur foncée, respectivement 119 et 87,5 mm Pfund, par contre l'échantillon 30 d'*Eucalyptus* de Khmis-meliana possède un indice de l'invertase le plus élevé (20) avec une bonne activité diastasique (30) et une faible teneur en HMF (10,24mg/kg), ce qui indique qu'il s'agit d'un miel fraîchement récolté et n'ayant pas était chauffé.

Il ressort de nos résultats que les valeurs des indices de l'invertase sont trop basses que celles des indices diastasique car l'invertase est plus sensible à la chaleur et au stockage que l'amylase.

En ce qui concerne la gluco-oxydase, les analyses des échantillons indiquent que la teneur en peroxyde d'hydrogène oscille entre 0 et 3 avec une moyenne de 1,05 mg/g/h. Comme on a pas trouvé de normes pour ce paramètre, on l'a étudié en fonction des résultats obtenus de trois échantillons de miels Français de bruyère (Callune), sapin et multifloral, frais et non chauffés ayant respectivement des teneurs de 2,5, 2,5 et 0,5 mg/g/h. En dehors des miels d'agrumes et de Romarin, déjà cités en raison de leur faible activité enzymatique naturelle, 51 (77,27%) des échantillons possèdent des teneurs inférieures en peroxyde d'hydrogène à celles trouvées pour les miels Français même inexistantes dans certains miels, ce défaut trouve son origine soit à la récolte, soit au stockage et au conditionnement. La bonne activité de l'amylase et de celle de l'invertase ainsi que le HMF bas de E5, E17 et de E54, apportent la preuve que les miels sont frais et n'ont pas été surchauffés, l'absence cependant de la gluco-oxydase dans ces échantillons peut se traduire selon Bogdanov et Blumer (2001) par leurs faibles teneurs en eau et qui sont respectivement 18, 16,32 et 15,80% car l'eau oxygénée se forme uniquement dans le miel non mûr, dans le cas contraire, le processus est bloqué. Si le miel est dilué, il peut être réactivé. La réduction peut être due aussi au pH bas des échantillons ayant respectivement des valeurs de 3,69, 4,33 et 4,28 puisque Molan (1992), affirme que l'enzyme a une bonne activité de pH 5,5 à 8 mais une réduction de l'activité est nette à pH proche de 4. Cela a été confirmé par E28 et E59 dont les teneurs respectives en peroxyde d'hydrogène sont 2 et 3 mg/g/h avec des pH proches de la neutralité qui sont respectivement 5 et 6,23. En plus des facteurs cités, il est connu que la gluco-oxydase est fortement sensible à la chaleur, à la lumière et à la durée du stockage que l'amylase et l'invertase. On a constaté que les miels les

plus claires (blanc et ambré extra clair) E7, E20, E21, E46, E47, et E51présentent des teneurs en eau oxygénée faible qui varie entre 0 et 2,5. Seul un d'entre eux (E51 de Citrus) possède la valeur de 2,5 mg/g/h, ce qui est normal pour les miels clairs dont l'activité enzymatique est faible.

On a constaté une grande variabilité de l'activité de l'ensemble des enzymes étudiées dans les différents types de miels analysés, on a confirmé que ce paramètre dépend fortement de l'origine botanique.

Analyse statistique

On a réalisé l'analyse statistique (statistica 06) avec les paramètres physico-chimiques, pour déceler les corrélations qui existent entre les paramètres considérés.

On a trouvé des corrélations significatives au seuil $p<0,05$, entre certains paramètres étudiés (Tableau III)

Il existe une excellente corrélation positive, entre les cendres, la conductivité électrique et la couleur (Tableau III). En comparaison avec les observations des auteurs données par la bibliographie, on est d'accord avec eux sur l'importance de ces trois critères dans la détermination de l'origine botanique des miels. Les trois variables changent en raison de la source botanique des échantillons.(Bosch et Mateo, 1984) cité par C Cabrera Ruiz ; J Montilla Gomez ; E Guerra Hernandez ; J L Molins Marin 1998) Qualité des miels de romarin commercialisés en Espagne Critères physico-chimiques pour caractériser leur origine.Bull.tech Apic, 1998, 25(2), 59-65. A présent selon Persano Oddo et Piro (2004), la conductivité électrique est le paramétre de qualité le plus utilisé dans la classification de miels monofloraux.

Sancho et al (1992) et Accorti al (1987) cité par Bogdanov et al (2004), ont trouvé que la conductivité et les cendres sont corrolés, au point qu'actuellement, la détermination de la teneur en cendres est remplacée par la mesure de la conductivité électrique.

D'autre part des corrélations sont avérées significatives entre la teneur en cendres et les activités de l'invertase et de l'amylase et entre l'activité de l'amylase et la couleur

(Tableau III), par conséquent les enzymes peuvent être considérées comme de bon indicateurs de l'origine botanique des miels. Cela a été confirmé par la bibliographie.

Une certaine corrélation a été observée entre l'activité de l'invertase et celle de la diastase. Les échantillons de miel qui ont une faible teneur en invertase ont généralement aussi une faible teneur en diastase et vice versa.

Une très bonne corrélation entre l'HMF et l'humidité et entre l'HMF et la couleur a été observée (Tableau III). Cependant une autre corrélation inversement proportionnelle entre l'activité enzymatique, l'HMF et l'humidité a été trouvée. Comme prévu que ces observations peuvent être traduit par le fait que l'HMF, l'humidité et la couleur sont de très bons indicateurs de qualité, de fraîcheur, de brunissement et de détérioration du produit entraînant la réduction des activités enzymatiques.

Une corrélation négative entre l'humidité et la gluco-oxydase qui oxyde l'eau pour produire du peroxyde d'hydrogène, ce qui diminue le taux d'humidité dans lemiel.

Il est bien connu que le pH mesure les acides libres dont la teneur augmente avec la fermentation il fallait donc s'y attendre à une très bonne corrélation entre l'humidité et les acides libres et à des corrélations inversement proportionnelles entre l'humidité et le pH et entre les acides libres et le pH, lequel est également inversement proportionnelle au brunissement et à la dégradation du miel. De ce fait, il n'est pas étonnant de trouver que les acides libres et la couleur sont en corrélation (Tableau III).

Comme il a été déjà mentionné dans la bibliographie que la conductivité des miels du miellat est élevée que celle des miels de fleurs mais ces derniers sont plus acides d'oú la corrélation inversement proportionnelle qui a été trouvée entre les lactones et la conductivité (Tableau

III). Ainsi apparemment, cette relation montre le rôle que peut jouer les lactones dans la détermination de la source botanique du miel. Contrairement à ce qui a été donnée dans la littérature.

Par ailleurs l'analyse montre que les lactones sont inversement proportionnels avec le HMF . Ce comportement peut être expliquer par le fait que, c'est les acides libres qui sont actifs et non les lactones. Puisque l'HMF s'accentue à pH bas par conséquent il évolue dans le même sens que les acides libres (Tableau III).

On a trouvé une corrélation inversement proportionnelle entre les lactones et le fructose en raison que les acides sont principalement la conséquence de l'action de la gluco-oxydase sur le glucose (Tbleau III).

On a constaté une corrélation entre les cendres, la conductivité et les acides libres. En effet, ces mesures sont très importantes dans la détermination de la source botanique du miel.

Les paramètres HMF, humidité, couleur, l'acidité et le pH sont inversement proportionnels à la majorité des sucres du spectre de nos échantillons. Ce qui est normal, puisque les cinq paramètres sont de bons indicateurs de qualité, de fraîcheur, de vieillissement et de degré de dégradation du miel .Ils peuvent avoir pour effet la réduction des principaux sucres du miel et des enzymes responsables de leur synthèse principalement l'invertase et l'amylase, la raison pour laquelle des rapports inverses ont été relevés entre ces variables et l'activité enzymatique et entre l'acidité, le pH et le teneur de F+G (Tableau III).

Tableau III : Corrélations significatives entres certaines paramètres ($p < 0.05$).

Variables en corrélation		Coefficient de corrélation (r)	Variables en corrélation		Coefficient de corrélation (r)
Cendres	- conductivité	0.46	**Humidité**	- acidité libre	0.45
	- couleur	0.54		- pH	-0.46
	- amylase	0.36		- isomaltose	0.28
	- invertase	0.37		- melezitose	-0.27
	- acidité libre	0.30			
			Acidité libre	- melezitose	-0.41
Conductivité	- couleur	0.45		- pH	-0.35
	- lactone	-0.24			
	- acidité libre	0.33	**Lactone**	- fructose	-0.29
				- F+G	-0.28
Amylase	- couleur	0.28			
	- invertase	0.46	**pH**	- fructose	-0.29

	- HMF	-0.31		- melibiose	-0.72
	- humidité	-0.26		- raffinose	-0.33
				- saccharose	-0.26
Invertase	- H_{2O2}	0.30		- glucose	-0.29
	- HMF	-0.46		- F+G	-0.38
	- humidité	-0.44			
			Acidité totale	- F+G	-0.25
H_{2O2}	- humidité	-0.24		- fructose	-0.26
	- melibiose	-0.28			
	- isomaltose	0.29	**Couleur**	- saccharose	-0.40
				- acidité libre	0.47
HMF	- humidité	0.38			
	- couleur	0.34			
	- H_{2O2}	-0.31			
	- lactone	-0.31			
	- trehalose	-0.27			

Conclusion

Dans cette étude, les résultats des analyses révèlent une description de la variabilité des paramètres examinés de 66 échantillons de miels Algériens.

Tous les échantillons considérés sont conformes aux normes fixées pour l'humidité dont 12,12% possèdent cependant des teneurs élevées (>18%), sans pour autant présenter de signes de fermentation ou de brunissement exagéré.

Par ailleurs 96,97% des miels analysés ne dépassent pas 40mg/kg d'HMF, à l'exception de deux d'entre eux sont largement au dessus, ce sont de vieux miels ou surchauffés.

Les miels de Tamarix et d'Eucalyptus ont un pH proche de la neutralité qui sont respectivement 5 et 6,23.Il s'agit de miels frais on a confirmé que leurs valeurs en eau et en HMF sont faibles d'autre part l'acidité de tous nos échantillons ne dépasse pas la valeur maximale d'acidité libre exigée par les normes internationales.

Les teneurs en sucres réducteurs et en saccharose sont tous conformes aux normes.

Concernant l'activité enzymatique, les résultats de l'activité diastasique montrent que 90,91% de nos miels sont conformes aux normes dont les miels de *Citrus* et de *Rosmarinus* marquent des valeurs basses, ce qui est normal car ils appartiennent à la catégorie des miels dont la teneur naturelle en enzymes est basse. Cependant l'activité de l'invertase indique que 63,63% des échantillons ne sont pas conformes aux normes de qualité fixées pour ce paramètre, enzyme très sensible à la chaleur et aux conditions de stockage que l'amylase.

Pour la gluco-oxydase, les analyses montrent que 21,21% des échantillons possèdent des teneurs inférieurs en peroxyde d'hydrogène que celles des miels Français qu'on a analysé, enzyme très sensible à la lumière et à la chaleur que les enzymes déjà citées. On observe que les activités des enzymes considérées varient fortement d'un échantillon à l'autre, on a confirmé que ce paramètre dépend de l'origine botanique.

La conductivité électrique, paramètre d'identification de l'origine du miel montre que 27,27% des échantillons sont des miels de miellat et le reste sont issus de nectar.

En fin la teneur en cendres présente des différences entre les échantillons qui peuvent être lié à l'origine botanique et géographique.

Le nombre de miels non conformes pour au moins un des caractères étudiés et de 2 soit 3,03%. Mais si on prend en compte l'ensemble des critères analysés, on trouve que 41,99 (63,63%) échantillons considérés ne sont pas en conformité avec les normes.

En outre les principales corrélations significatives ont été démontrées entre les cendres, la conductivité électrique et la couleur, critères de détermination de l'origine botanique; entre l'HMF, l'humidité et la couleur, indicateurs de fraîcheurs et de détérioration du produit.

Des corrélations également significatives entre les cendres et les activités de l'amylase et de l'invertase par conséquent les enzymes peuvent intervenir dans l'identification de l'origine botanique du miel

Par ailleurs les paramètres HMF, humidité, couleur, l'acidité et le pH sont inversement proportionnel à la majorité des sucres du spectre,en raison que les cinq mesures sont de bons indicateurs de qualité, de fraîcheur, de vieillissement et de degré de dégradation du miel.

Ce travail doit être poursuivi sur tout le territoire national en parallèle avec d'autres techniques d'analyses afin de mieux connaître les caractéristiques physico-chimiques des miels Algériens et pour arriver à des résultats pouvant contribuer à l'établissement de normes propres à notre pays.

Références bibliographiques

Louveaux J. (1985) les produits du rucher. In « les abeilles et leur élevage » , OPIDA(Ed), pp.165-199.

Persano Oddo L., et Piro R. (2004) Main European unifloral honeys : descriptive sheets, Apidologie 35(Suppl. 1), S38-S81.

Makhloufi C. (2000) Etude physico-chimique et palynologique de quelques miels du nord Algérien : Impact du rôle de l'abeille sur l'équilibre écologique. Mem, Mag, Agr, Tiaret. Algérie, 102p

Schweitzer P. (2003) Sur les sentiers des miels de France , l'analyse physico-chimique des miels, rev abeille de France, N° 891

Schweitzer P. (2005) terre des hommes, planète du miel : quelques éléments sur le vieillissement, rev abeille de France, n° 916.

Belaid M. (1999) Etude physico-chimique et palynologique de quelques miels du centre d'Algérie : Etablissement des normes d'identification. . Mem, Mag, Agr, INA. El Harrach. Alger, 172p

Nanda V. ; Sarkar, B. C. ; Sharma, H.K . ; et Bawa, A.S. (2003) Physicochemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India . Journal of Food Composition and Analysis. 16,613-619.

Bogdanove S ; Ruoff K, Persano Oddo L. (2004) Physico- chimical methods for the characterisation of unifloral honeys : a review Apidologie 35, S4-S17.

Cabrera Ruiz C., Montilla J., Gomez E., Hernandez G., Molins Marin J. L. (1997) Analyse physico-chimique des miels d'oranger commercialisés en Espagne. Bull. Tech,24(2),63-70.

Cabrera Ruiz C., Montilla J., Gomez E., Hernandez G., Molins Marin J. L. (1998)

Qualité des miels de romarin commercialisés en Espagne Critéres physico- chimiques pour caractériser leur origine. Bull. Tech, 25(2), 59-65.

Gonnet M. (1986) L'analysedes miels. Description de quelques méthodes de contrôle de la qualité. Bull.tech. Apic , 13(1), 17-36.

Aubert et Gonnet M. (1983): Mesure de la couleur des miels Apidologie, 14(2), 105-118

Terrab A., Diez, MJ. ; et Heredia, F, J. (2002) characterization of Moroccan unifloral h oneys by their physicochemical characteriscs.Food chemistry, 79, 373-379.

Schweitzer P. (2004) Sur les sentiers des miels de France , miels de tilleul hors normes rev abeille de France, n° 909

Piazza M.G, Accorti M, Persano Oddo L. (1991) Electrical conductivity , ash , colour and specific rotatory power in Italian unifloral honeys. Apicoltura 7, 51-63.

Schweitzer P. (1998) Sur les sentiers des miels de France. Histoire d'eau 2éme partie rev abeille de France n° 844.

Bogdanov S et Blumer P. (2001) propriétés antibiotiques naturelles du miel. 8p

Molan P.C. (1992)The antibactérial activity of honey

Persano Oddo L., Baldi E., Accotri M. (1990) Diastatic activity in some unifloral honeys. Apidologie 21, 17-24.

Bogdanov S .(1999) Qualité du mile et normes internationales relatives au mile; Rapport de la commission internationale du miel.

Schweitzer P (2000) Sur les sentiers des miels de France, L'activité amylasique des miels revue abeille de France n°861

Codex Alimentarius lullmann C. (1992) Das grosse Honigbuch, Ehrenwirth, Munchen

draft revised for honey at step 6 of the Codex procedure. (1998). CX 5/10, 2, CL 1998/12-S.

Bogdanov S. (1997) Nature and origin of the antibacterial substances in honey. Lebensm-Wiss.u.-Technol., 30: 748-753.

Bogdanov S., Bieri K., Figar M., Figueiredo V., IFF D., Kanzig A., Stockli H. and Zurcher K. (1995) Miel: definition et directives pour l'analyse et l'appréciation. In "Livre Suisse des denrées alimentaires". Ed OCFIM : 1-26.

Azeredo L.D.C., Azeredo M.A.A., De Souza S.R. and Dutra V.M.L.(2003) Protein content and physicochemical properties in honey samples of Apis Mellifera of different floral origins. Food Chemistry, 80: 249-254.

Aupy G., Paccalin J., and Lostalot J.D. (1994). Miel et abeille .Diététique et Médecine. 4 : 161-173.

Popek S. 2002. A procedure to identify a honey type. Food Chemistry, 79: 401-406.

Bogdanov S., Martin P., Lullmann C. (1997) Harmonized methods of the European Honey Commission . Apidologie spec. issue.

Bogdanov S., Martin P., Lullmann C. (1999). Honey quality and international regulatory standards: review by the international Honey Commission, Bee World 80, 61-69.

Von der Ohe W., Von der Ohe K. (1996) Characterizing honeydew honeys guided by specific saccharides, Apidologie 27, 270-272.

Persano Oddo L., Piro R. (2004) Main European unifloral honeys : descriptive sheets, Apidologie 35 (Suppl. 1), S38-S81.

Persano Oddo L., Piazza M.G., Pulcini P. (1999) Invertase activity in honey, Apidologie 30, 57-65.

Barbattini R., Greatti M., Iob M., Sabatini A.G., Marcazzan G.L., Colombo R. (1991) Osservazioni su Metcalfa pruinosa (Say) e indagine sulle caratteristiche del miele derivato dalla sua malata, Apicoltura 7, 113-135.

Feller-Demalsy M.J., Vincent B., Beaulieu F. (1989) Mineral content and geographical origin of Canadian honeys, Apidologie 20, 77-91.

Friori J., Serra G., Sabatini A.G., Zucchi P., Barbattini R., Gazziola F. (2000) Dextrins HPLC analysis in Metcalfa pruinosa (Say) honeydew, Ind. Aliment. 50, 419-425.

Persano Oddo L., Baldi E., Piazza M.G. (1986) Aciditae pH nei principali mieli uniflorali Italiani, Apicoltura 2, 145-154.

White J.W. Jr., Riethof M.L., Kushnir I. (1961) Composition of honey. VI. The effect of store on carbohydrates, acidity and diastase content. J. Food. Sci., 26, 63-71.

Codex Alimentarius. (1998) draft revised for Honey at step 6 of the Codex Procedure .CX 5/10,2, CL 1998/12-S.

Horn H., Lullmann C. (1992) Das gross Honigbuch, Ehrenwirth, Munchen.

Lasceve G., Gonnet M. (1974) Analyse par radioactivation du contenu mineral d'un mile. Possibilté de préciser son origine géographique, Apidologie, 5 (3), 201-223.

Schweitzer P. (2001) Sur les sentiers des miels de France. La couleur des miels, rev abeille de France n°873.

Fabrocini C .V. (1999), Les vertus du miel de la propolis et de la gelée royale ed DE VECCHI S.A.Parie 79p.

Ouchemoukh S., Louaileche H., Schweutzer P. (2005) Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys, j.foodcont.

Aubert et Gonnet M. (1983): Mesure de la couleur des miels Apidologie, 14(2), 105-118 Aupy G., Paccalin J., and Lostalot J.D. (1994). Miel et abeille .Diététique et Médecine. 4 : 161-173.

Azeredo L.D.C., Azeredo M.A.A., De Souza S.R. and Dutra V.M.L.(2003) Protein content and physicochemical properties in honey samples of Apis Mellifera of different floral origins. Food Chemistry, 80: 249-254.

Barbattini R., Greatti M., Iob M., Sabatini A.G., Marcazzan G.L., Colombo R. (1991) Osservazioni su Metcalfa pruinosa (Say) e indagine sulle caratteristiche del miele derivato dalla sua malata, Apicoltura 7, 113-135.

Belaid M. (1999) Etude physico-chimique et palynologique de quelques miels du centre d'Algérie : Etablissement des normes d'identification. . Mem, Mag, Agr, INA. El Harrach. Alger, 172p

Bogdanov S et Blumer P. (2001) propriétés antibiotiques naturelles du miel. 8p Bogdanov S. (1997) Nature and origin of the antibacterial substances in honey. Lebensm-Wiss.u.-Technol., 30: 748-753.

Bogdanov S .(1999) Qualité du mile et normes internationales relatives au mile; Rapport de la commission internationale du miel.

Bogdanov S., Bieri K., Figar M., Figueiredo V., IFF D., Kanzig A., Stockli H. and Zurcher K. (1995) Miel: definition et directives pour l'analyse et l'appréciation. In "Livre Suisse des denrées alimentaires". Ed OCFIM : 1-26.

Bogdanov S., Martin P., Lullmann C. (1997) Harmonized methods of the European Honey Commission . Apidologie spec. issue.

Bogdanov S., Martin P., Lullmann C. (1999). Honey quality and international regulatory standards: review by the international Honey Commission, Bee World 80, 61-69.

Bogdanove S ; Ruoff K, Persano Oddo L. (2004) Physico- chemical methods for the characterisation of unifloral honeys : a review Apidologie 35, S4-S17.

Cabrera Ruiz C., Montilla J., Gomez E., Hernandez G., Molins Marin J. L. (1997) Analyse physico-chimique des miels d'oranger commercialisés en Espagne. Bull. Tech,24(2),63-70.

Cabrera Ruiz C., Montilla J., Gomez E., Hernandez G., Molins Marin J. L. (1998) Qualité des miels de romarin commercialisés en Espagne Critéres physico- chimiques pour caractériser leur origine. Bull. Tech, 25(2), 59-65. draft revised for honey at step 6 of the Codex procedure. (1998). CX 5/10, 2, CL 1998/12-S.

Codex Alimentarius lullmann C. (1992) Das grosse Honigbuch, Ehrenwirth, Munchen draft revised for honey at step 6 of the Codex procedure. (1998). CX 5/10, 2, CL 1998/12-S.

Codex Alimentarius. (1998) draft revised for Honey at step 6 of the Codex Procedure . CX 5/10,2, CL 1998/12-S.

Fabrocini C .V. (1999), Les vertus du miel de la propolis et de la gelée royale ed DE VECCHI S.A.Parie 79p.

Feller-Demalsy M.J., Vincent B., Beaulieu F. (1989) Mineral content and geographical origin of Canadian honeys, Apidologie 20, 77-91.

Friori J., Serra G., Sabatini A.G., Zucchi P., Barbattini R., Gazziola F. (2000) Dextrins HPLC analysis in Metcalfa pruinosa (Say) honeydew, Ind. Aliment. 50, 419-425.

Gonnet M. (1986) L'analysedes miels. Description de quelques méthodes de contrôle de la qualité. Bull.tech. Apic , 13(1), 17-36.

Horn H., Lullmann C. (1992) Das gross Honigbuch, Ehrenwirth, Munchen.

Lasceve G., Gonnet M. (1974) Analyse par radioactivation du contenu mineral d'un mile. Possibilté de préciser son origine géographique, Apidologie, 5 (3), 201-223.

Louveaux J. (1985) les produits du rucher. In « les abeilles et leur élevage » , OPIDA(Ed), pp.165-199.

Makhloufi C. (2000) Etude physico-chimique et palynologique de quelques miels du nord Algérien : Impact du rôle de l'abeille sur l'équilibre écologique. Mem, Mag, Agr, Tiaret. Algérie, 102p

Molan P.C. (1992) The antibactérial activity of honey

Nanda V. ; Sarkar, B. C. ; Sharma, H.K . ; et Bawa, A.S. (2003) Physicochemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India . Journal of Food Composition and Analysis. 16,613-619.

Ouchemoukh S., Louaileche H., Schweutzer P. (2005) Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys, j.foodcont.

Persano Oddo L., Baldi E., Piazza M.G. (1986) Aciditae pH nei principali mieli uniflorali Italiani, Apicoltura 2, 145-154.

Persano Oddo L., Baldi E., Accotri M. (1990) Diastatic activity in some unifloral honeys. Apidologie 21, 17-24.

Persano Oddo L., Piazza M.G., Pulcini P. (1999) Invertase activity in honey, Apidologie 30, 57-65.

Persano Oddo L., Piro R. (2004) Main European unifloral honeys : descriptive sheets, Apidologie 35 (Suppl. 1), S38-S81.

Piazza M.G, Accorti M, Persano Oddo L. (1991) Electrical conductivity , ash , colour and specific rotatory power in Italian unifloral honeys. Apicoltura 7, 51-63.

Popek S. 2002. A procedure to identify a honey type. Food Chemistry, 79: 401-406.

Schweitzer P. (1998) Sur les sentiers des miels de France. Histoire d'eau 2éme partie rev abeille de France n° 844.

Schweitzer P (2000) Sur les sentiers des miels de France, L'activité amylasique des miels revue abeille de France n°861

Schweitzer P. (2001) Sur les sentiers des miels de France. La couleur des miels, rev abeille de

France n°873.

Schweitzer P. (2003) Sur les sentiers des miels de France , l'analyse physico-chimique des miels, rev abeille de France, N° 891

Schweitzer P. (2004) Sur les sentiers des miels de France , miels de tilleul hors normes rev abeille de France, n° 909

Schweitzer P. (2005) terre des hommes, planète du miel : quelques éléments sur le vieillissement, rev abeille de France, n° 916.

Terrab A., Diez, MJ. ; et Heredia, F, J. (2002) characterization of Moroccan unifloral h oneys by their physicochemical characteriscs.Food chemistry, 79, 373-379.

Von der Ohe W., Von der Ohe K. (1996) Characterizing honeydew honeys guided by specific saccharides, Apidologie 27, 270-272.

White J.W. Jr., Riethof M.L., Kushnir I. (1961) Composition of honey. VI. The effect of store

on carbohydrates, acidity and diastase content. J. Food. Sci., 26, 63-71.

INVENTAIRE DE LA FLORE MELLIFÈRE ALGÉRIENNE

MAKHLOUFI Chahra

Université Ibn khaldoun, 10 route de Sougueur, Tiaret 14 000.
Tiaret, Algerie, chahramakhloufi@yahoo.fr.

RÉSUMÉ

L'objectif du présent article est l'étude des miels originaires de différentes régions du Nord Algérien. Il s'agit de mettre en évidence par mélissopalynologie la flore mellifère et les ressources alimentaires dont dispose l'abeille dans cette région. Dans le cadre de cette étude, il a été réalisé une classification selon leur richesse en pollen et selon leurs origines florales et géographiques. A la lumière des résultats de l'analyse pollinique quantitative, il a été constaté que la majorité des échantillons analysés appartiennent à la classe II qui est la catégorie des miels moyennement riches. Cependant l'analyse pollinique qualitative a permis d'établir une liste de plantes régulièrement visitées par les abeilles notamment l'*Eucalyptus*, qui d'après nos résultats représente une ressource mellifère importante dans cette région suivi par d'autres espèces mellifères telles que les arbres fruitiers, *Citrus* et l'*Hedysarum* qui est représenté massivement dans les montagnes de la Kabylie.

Mots clés: palynologie, miel, pollen, flore mellifère, Origine botanique, algérien.

INTRODUCTION

Les produits de la ruche (miel, gelée royale, pollen …) sont d'excellents produits naturels qui ont conservé le goût et le Parfum des fleurs dont ils sont issus, les analyser consiste ainsi à préciser leur qualité et à connaître leurs origines botaniques et géographiques. Cependant les miels de l'Afrique du Nord restent relativement mal connus du point de vue de leurs spectres polliniques. Ainsi l'objectif recherché est d'améliorer nos connaissances sur la flore mellifère de la région d'étude et sur les ressources alimentaires dont disposent les abeilles.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a porté sur 50 échantillons de miels de deux années 1999 et 2000, provenant du Nord algérien. Les analyses polliniques ont été effectuées selon les méthodes de la melissopalynologie préconisées par la Commission Internationale de Botanique de l'U.I.S.B (Louveaux et *al.,*1970)

Résultats et discussions

Tableau 1 : Richesse en pollen des miels (%)

Région	Riche (>10000) : classe III	Moyen (2000-10000) : classe II	Pauvre (< 2000) : classe I
Ouest	18.18	54.54	27.27
Centre	13.04	56.52	30.43
Est	20	60	20
Nord Algérien	16	56	28

Les miels moyennement riches en pollens (classe II) qui dominent (Tab. 1). Les résultats montrent que même si chaque région est considérée individuellement, ce sont encore les miels de la catégorie moyenne qui dominent.

Cette teneur en grains de pollen est influencée en premier lieu par la teneur en pollen dans le nectar d'où le miel provient et en second lieu par le mode d'extraction. Cela peut s'expliquer également par la variation de la taille des grain de pollens.

L'analyse pollinique qualitative montre que l'*Eucalyptus e*st dominant dans 19 échantillons et omniprésent dans la majorité des spectres polliniques (94%). Louveaux et *al*. (1984) indiquent que cette espèce est une plante mellifère maghrébine. L'*Eucalyptus* est donc une ressource mellifère importante, suivi par d'autres espèces mellifères telles que *Citrus*, *Hédysarum* et arbres fruitiers.

Les résultats de ces expériences permettent d'affirmer que malgré les 45 formes identifiées, les types de miels monofloraus sont peu nombraux il s'agit des miels d'*Eucalyptus*, d'*Hedysarum*, de *Vicia*, D'arbres fruitiers, de *Rosmarinus* et de *Lavandula* par contre les miels multifloraus sont les plus communs.

Des formes d'importance locale ont été trouvées, le pollen d'*Hedysarum* est très abondant dans la région de la Kabylie.

CONCLUSION

A la lumière de nos résultats, on a constaté que la majorité des échantillons appartiennent à la classe II qui représente la catégorie des miels moyennement riches en pollens. L'analyse du spectre pollinique des miels de chaque point de prélèvement ne peut se Caractériser des régions voisines que par des formes d'importance locale à titres d'exemple : le pollen d'*Hedysarum* très abondant dans la région de la Kabylie. L'*Eucalyptus e*st dominant dans 19 échantillons et omniprésent dans la majorité des spectres polliniques, suivi par d'autres espèces mellifères telles que *Citrus*, *Hédysarum* et arbres fruitiers. Ce travail doit être poursuivi sur tout le territoire national en parallèle avec d'autres techniques d'analyses pour arriver à des résultats pouvant être une base de données propres à notre pays.

Références bibliographiques

Louveaux J., Maurizio A., Vorwohl G., Commission Internationale de Botanique apicole, L'U.I.S.B Les méthodes de la mélissopalynologie, Apidologie 1(2) (1970) 211-227.

Louveaux J., Abed L., Les miels d'Afrique du Nord et leur spectre pollinique, Apidologie 15(2) (1984) 145-170.

Caractérisation physicochimique et effet antibactérien du miel algérien

Makhloufi Chahra, Abdellah Fatiha, Benhenni Salima, Bouguetifa Nadia, Derrar Soumia
Université Ibn khaldoun, 10 route de Sougueur, Tiaret 14 000. Algérie.
chahramakhloufi@yahoo.fr.

Résumé

Le miel est un produit naturel utilisé depuis longtemps par l'homme pour ses propriétés nutritionnelles et thérapeutiques. La présente étude est menée en vue d'évaluer la qualité des miels algériens sur la base des analyses physico-chimiques et effet antibactérien de deux échantillons de miels de provenance de Tiaret et de Zamoura (Relizen). on utilisant la méthode d'incorporation en milieu gélosé afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des miels étudiés vis-à- vis des souches testées (*Escherichia coli* ATCC 25922*, Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 *et Staphylococcus aureus* ATCC 33862*)*. Les analyses physico-chimiques de ces miels ont montré que tous les échantillons sont conformes aux normes internationales. L'estimation du pouvoir antibactérien a révélé que tous les échantillons possèdent un effet antibactérien important vis-à-vis des trois souches testées. La bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus sensible à l'action des deux miels, alors que les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*) sont les espèces les plus résistantes. Le miel d'eucalyptus de la région de Tiaret est le plus efficace que le miel de citrus de Zamoura Cela ouvre une perspective intéressante dans le domaine thérapeutique et pharmaceutique.

Mot clés : Miel, Propriétés physico-chimiques, Effet antibactérien, Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Introduction

L'utilisation du miel par l'homme remonte aux temps les plus reculés de son histoire et il fait partie des aliments les plus anciens de l'humanité. Le miel contient principalement des hydrates de carbone et de l'eau (Terrab et *al*., 2003; Azeredo et *al*., 2003). Il présente des propriétés thérapeutiques (Louveaux, 1985). Il affecte la croissance et la survie des microorganismes par des actions bactéricides ou bactériostatiques (Manzoor et *al.,* 2013). La production du miel en Algérie reste insuffisante malgré les capacités apicoles sont possibles grâce à la douceur relative du climat et les ressources mellifères très variées. En outre, le miel produit est souvent exposé aux tentatives de fraudes de nature physico-chimique, botanique et géographique, aussi son utilisation diététique et thérapeutique a entraîné une hausse de son prix dans notre pays. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail, qui a pour objectif d'évaluer la qualité des miels algériens sur la base de l'étude des propriétés physico-chimiques et antibactériennes.

1. Matériel et méthodes

1.1. Miel

La présente étude a été réalisée sur deux échantillons de miels, collectés de deux régions différentes (Tab.1).

Tableau 1 : Présentation des échantillons de miel étudiés.

Echantillons	Date de récolte	Région de récolte	Origine florale
E1	2015	Tiaret	Toutes fleurs
E2	2015	Zamoura	Toutes fleurs

1.2. Méthodes

1. 2.1. Méthodes physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques ont été effectuées selon les méthodes harmonisées de la Commission européenne du miel (Bogdanov et *al.,* 1997).

1. 2.1. 1. Détermination de la teneur en eau

Ce paramètre est déterminé par la mesure de l'indice réfractométrique à l'aide d'un réfractomètre.

1. 2.1. 2. Détermination de la conductivité électrique

Déterminée par un conductivimètre à 20°C, d'une solution de miel à 20% de matière sèche du produit.

1. 2.1. 3. Détermination du pH, de l'acidité libre, des lactones et de l'acidité totale

Réalisée par la méthode de titrage au point d'équivalence. L'acidité libre est obtenue par la courbe de neutralisation du miel par une solution d'hydroxyde de sodium et détermination du pH du point équivalent (pHE). L'acidité due aux lactones est obtenue par l'ajout d'un excès d'hydroxyde de sodium à la solution de miel en déterminant cet excès par un titrage en retour **par l'acide sulfurique.**

1. 2.1. 4. Hydroxyméthylfurfural (HMF)

Déterminé par la méthode de Winkler, réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible à une longueur d'onde de 550 nm.

1. 2.1. 5. Cendres

La teneur en cendres est déterminée par incinération du produit dans un four à moufle.

1. 2.2. Evaluation de l'effet antibactérien des miels.

1. 2.2.1. Souches bactériennes

Les souches bactérienne utilisées dans l'essai antibactérien sont: les bactéries à Gram négatif, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 et une bactérie à Gram à positif, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862. Elles proviennent du laboratoire de microbiologie de l'hôpital universitaire Mustapha Pacha Alger. Les souches sont conservées à 4 °C dans des tubes à essais contenant le milieu solide Mueller Hinton jusqu'à l'utilisation.

1. 2.2. 2. Préparation de l'inoculum standard des souches

A partir d'une culture pure de 24 h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625nm, équivalent à 1×10^8 ufc/ ml. L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum (Boukrâa et al 2013).

1.2.2.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu solide

L'analyse antibactérienne a pour principe de mettre à chaque fois une souche bactérienne en contacte avec le miel Pour la détermination des CMI on utilisant la méthode d'incorporation en milieu gélosé. Dans des tubes à essai stériles différentes concentration des miels (de 3% à 6%) sont mélangés avec le milieu Mueller Hinton préalablement fondu et maintenu à 45 °C pour avoir un volume final de 5 ml, Les tubes ont été agités à l'aide d'un vortex afin de bien disperser les miels dans le milieu de culture avant de les verser dans les boites de Pétri de 60 mm de diamètre. Des témoins, contenant les milieux de culture seule, sont également préparés. Ensuite les boites ont été ensemencées par écouvillonnage avec un inoculum standard de 0,5 McFarland de chaque souche à tester. Les boites sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h (Boukrâa, 2008).

2. Résultats et discussion

2.1. Analyses physico-chimiques

2.1.1. Résultats

Les résultats des paramètres étudiés des miels analysés sont donnés dans le tableau 2.

Tableau 2: Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de miels.

Paramètres	E1	E2	Limites standard internationales	Echantillons non conformes aux normes
Humidité (%)	13,52	15,08	Pas plus de 20%	
Cendres (%)	0,360	0,290	Miel de nectar: pas plus de 0,6% Miel de miellat: pas moins de 0.6%	
Conductivité électrique (mS/cm)	0,700	0,700	Miel de nectar: pas plus de 0,8 mS/cm Miel de miellat: pas moins de 0.8 mS/cm	
pH	4,410	4,300	Miel de nectar: 3,5-4,5 Miel de miellat: 5-5,5 mélanges de miels de nectar et de miellat: valeurs intermédiaires	
Acidité libre (meq/kg)	11,000	8,000	Pas plus de 50 meq/kg	
Acidité combinée (meq/kg)	14,500	19,500	Limite non fixée	

Acidité totale (meq/kg)	25,500	27,500	Limite non fixée	
HMF (mg/kg)	19,000	82,300	Pas plus de 60 mg/kg	1 échantillons

2.1.2. Discussion

2.1.2.1. Teneur en eau

La teneur en eau des échantillons de miels varie de 13,52 à 15,08% avec une moyenne de 14.3 % (Tab. 2).Ces résultats sont largement en dessous de la limite maximale fixée par les normes internationales. Les résultats obtenus sur les miels algériens par Hadj Said et *al.* (2009), sont de 16,24 à 16,67 % avec une moyenne de 16,36 %. Les travaux de Chefrour (2008) sur la caractérisation physico-chimique de 62 miels de l'Est d'Algérie, montrent que la teneur en humidité varie de 13,6 à 22 %. Ouchemoukh et *al.* (2007) ont trouvé dans 11 échantillons de miel de Bejaia des valeurs allant de 14,6 à 19 %. Selon Schweitzer (2000), la fermentation n'intervient pas dans le cas où la teneur en eau est inférieure à 17 %. Tous les échantillons étudiés sont donc des miels de qualité vis-à-vis de la conservation et du stockage. D'après Bogdanov et *al.* (1995), les teneurs en eau élevées sont à mettre au compte d'une récolte précoce et d'un climat humide. Persano Oddo et Piro (2004) rapportent que selon la saison de production et le climat, les miels montrent quelques différences dans la teneur en eau.

2.1.2.2. Conductivité électrique

La conductivité électrique est l'un des meilleurs paramètres pour la distinction entre les miels de différentes origines florales (Terrab et *al.,* 2004). Cette mesure permet de séparer les miels de nectar des miels de miellat. La conductivité électrique des miels examinés varie de 0.70 à 0.70 mS/cm avec une moyenne de 0.70 mS/cm (Tab.2). Tous nos échantillons possèdent des valeurs inférieures à 0.8 mS/cm, ce qui suggère que les miels analysés sont de nectar. Zerrouk et *al.* (2011); Piazza et *al*. (1991) signalent que la conductivité électrique du miel est étroitement liée à la concentration en sels minéraux, en protéines et en acidité du miel. D'autre part elle est en rapport avec sa couleur (Gonnet, 1984; Kaskonienė et *al*., 2010; Louveaux, 1980). Les miels foncés conduisent mieux le courant électrique que les miels clairs car ils sont plus riches en matières minérales (Gonnet, 1982).

2.1.2.3. Teneur en cendres

Les teneurs en matières minérales de nos échantillons varient de 0,29 à 0,36 % avec une moyenne de 0,32 % (Tab. 2). En comparaison avec les résultats de Makhloufi et *al.* (2010); d'Ouchemoukh et *al.* (2007) et de Belaid, (1999) qui varient de 0,01 - 0,40%; 0,06 - 0,54% et 0,02 - 0,65% respectivement, nos résultats sont assez bas, Par contre les résultats de Chefrour (2008) sur les miels de l'Est indiquent des teneurs en cendres plus élevées allant de 0,11 à 1,56%. Ayari et *al.* (2013) ont trouvé dans douze échantillons de miel tunisiens des valeurs allant de 0,09 % à 0,52 %. Les différences de teneurs en cendre entre les échantillons considérés sont la conséquence de certains facteurs, comme le climat, la proportion des différents nectars récoltés qui s'ajoutent à la variété botanique des espèces butinées, à l'origine de provenance des échantillons et au mode d'extraction. Selon Louveaux, (1968), en générale les miels clairs sont nettement moins riches en cendres que les miels foncés.

2.1.2.4. Hydroxyméthylfurfural (H.M.F)

L'HMF est un composé chimique issu de la dégradation du fructose et du glucose (Belaid, 1999). Ce produit se forme sous l'action des acides, sa concentration augmente également dans le temps et avec la température. La teneur en HMF reflète donc le degré de vieillissement et le niveau de chauffage subi par le miel. Un miel naturel récolté sans chauffage, ne contient pas plus de 5 mg/kg d'HMF. Il faut toujours éviter que la température du miel dépasse 40°C et de limiter sa durée de conservation (Schweitzer, 1999). La mesure de la teneur en H.M.F permet l'évaluation de la qualité du miel et son état de fraîcheur. La teneur en H.M.F des miels étudiés varie de 19 à 82,300 mg/kg avec une moyenne de 50.65 mg/kg (Tab. 2). L'échantillon E2 du jujubier dépasse la limite de 60 mg/kg, probablement il a été soumis à une forte chaleur ou à l'adultération. D'après Schweitzer (2005), l'HMF apparaît spontanément dans les miels et cela d'autant plus rapidement que ceux-ci sont acides (pH bas) ou portés à haute température. Les travaux de Draiaia et *al.* (2015) sur 38 miels algériens ont montré que les valeurs d'HMF varient de 0,14 à 571,9 mg /kg, valeurs élevées à celles obtenues par Mekious et *al*. (2015) sur 36 miels de Djelfa qui sont comprises entre 0,14 et 15mg/kg. Terrab et *al*. (2002) ont trouvé des valeurs en HMF de l'ordre de 3,8-48,4 mg/kg dans les miels multifloraux marocains, où le climat pourrait augmenter son contenu.

2.1.2.5. pH et acidité

Comme le montre le tableau 2, le pH des miels étudiés varie de 4,41 à 4,3 avec une moyenne de 4,35. Ces résultats confirment le caractère acide des miels qui est due à la présence d'acides organique, principalement à l'acide gluconique (Nanda et *al.*, 2003 cités par Ouchemoukh et *al.,* 2007). Cela a été également confirmé par White et *al.* (1958) cités par Bogdanov; Ruoff et Persano Oddo (2004) selon lesquels tous les miels sont acides avec un pH généralement compris entre 3,5 et 5,5. Le pH est parmi les mesures qui permettent de déterminer l'origine florale du miel. Belhaj et *al*. (2015) ont trouvé des valeurs de pH allant de 3,39 à 4,19 dans les miels marocains. Toutefois la variation des valeurs serait due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (Louveaux, 1968). Les résultats des analyses de l'acidité libre de nos échantillons varient de 14,5 à 19,5 meq/kg avec une moyenne de 17 meq/kg (Tab. 2). les valeurs déterminées ne dépassent pas la limite d'acidité libre de 50 meq/kg. Il existe des différences entre les résultats probablement liées à la race d'abeille, à l'environnement géographique, à la flore butinée et au climat qui contribuent à accentuer ces différences. Selon Gonnet (1982), l'acidité combinée est représentée principalement par l'acide gluconique, formée à partir du glucose. Les valeurs obtenues de ce paramètre varient entre 25,5 et 27,5 meq/kg avec une moyenne de 26.5meq/kg (Tab.2). Les résultats de l'acidité totale varient entre 19 et 82,3 meq/kg, la moyenne est de 50.65meq/kg (Tab. 2). La détermination de l'acidité totale est importante, car la fermentation du miel provoque son augmentation.

2.2. Effet antibactérien des miels

2.2.1. Résultats

Le tableau 3 représente les valeurs de CMI des miels étudiés vis-à-vis les souches testées.

Tableau 3: Résultats de l'effet antibactérien des miels

Souches testées / Echantillons	***Escherichia coli*** **ATCC 25922**	***Staphylococcus aureus*** **ATCC 33862**	***Pseudomonas aeruginosa*** **ATCC 27853**
Miel de Tiaret (E1)	5%	3%	5%
Miel de Zamoura (E2)	6%	5%	6%

2.2. 2. Discussion

D'après les résultats obtenus (Tab. 3), on constate que les deux miels étudiés présentent un effet antibactérien contre toutes les souches testées. Les CMI obtenues étaient situées de 5% à 6% pour *E.coli*, de 3% à 5% vis-à-vis de *S.aureus*, et pour *P.aeruginosa* la CMI oscille de 5% à 6%. Un grand nombre d'études explorant l'activité antibactérienne du miel sur plus de 70 espèces ont été publiées depuis une plusieurs décennies d'années (Molan, 1992 et Cooper et *al.,* 2009). Les chercheurs ont montré que c'est l'action combinée des propriétés physico-chimiques qui confère aux miels leur activité antibactérienne. Selon Boukraâ et *al*. (2013), l'activité antimicrobienne du miel est due principalement à l'effet osmotique, son degré d'acidité. D'autre part Merah et *al.* (2010) ont montré que l'effet antimicrobien du miel peut partiellement être expliqué par son contenu en enzyme, la gluco-oxydase qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène, ce dernier possède une activité antiseptique. En revanche la présence d'autres inhibines dites « non peroxydes » telles que certains facteurs phytochimiques (flavonoïdes, lysozymes, dérivés phénoliques) inhibent également la multiplication bactérienne. L'action du miel naturel sur les microorganismes dépend d'une part de la structure de la parois de la cellule cible et d'autre part de la composition du miel lui-même (French et *al*., 2005).Les résultats obtenus dans notre étude (tab. 3) montrent que les deux échantillons (E1, E2) sont plus actifs sur la bactérie gram positif (*S. aureus*) que les bactéries gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*); ceci peut être du à la nature de la paroi des bactéries à Gram négatif qui est formé principalement de lipoprotéine, lipopolysaccharide et de lipide. Ces composés jouent un rôle de barrière et limitent la pénétration des agents antimicrobiens à travers de la paroi bactérienne contrairement à *S. aureus* qui a une paroi de type Gram positif, exempt de ces composés (Larpent, 1985), ce constat est similaire à celui obtenu par Nedji et Ayad (2014) qui ont trouvé une forte activité antimicrobienne du miel contre les bactéries à Gram positif que les bactéries Gram à négatif. D'après les résultats obtenus, on constate que le miel de Tiaret (E2) est le plus efficace et possède le meilleure effet antibactérien vis-à-vis des trois souches bactériennes testées, cet effet peut être du à sa faible teneur en HMF (19 mg /kg) par rapport à l'autre miel. En effet ce miel présente une faible teneur en eau avec une valeur de 13,92% qui va permettre d'agir d'une manière osmotique (Assie, 2004). Nos résultats montrent que l'effet antibactérien des deux variétés des miels testés varie en fonction de l'origine botanique et géographique du miel.

Conclusion

Les résultats obtenus à partir des analyses physicochimiques et de l'étude de l'effet antibactérien de deux variétés de miels algériens, nous ont permis de caractériser les miels et d'évaluer leur qualité. Chacun des paramètres analysés contribue à une indication précise sur la qualité du miel, ainsi ils peuvent être classés en trois groupes: Ceux qui déterminent la fragilité (teneur en eau et pH), la fraicheur (HMF) et l'origine florale (conductivité électrique, pH et les cendres). Pour la mise sur le marché des miels analysés, l'échantillon E2 est exclu en raison de son taux élevé d'hydroxyméthylfurfural. Concernant l'origine botanique, les valeurs de la conductivité électrique, du pH et des cendres indiquent que les miels examinés sont probablement issus de nectar. En ce qui concerne l'activité antibactérienne, toutes les souches bactériennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice des miels analysés. Le miel de Tiaret (E2) est le plus efficace et possède le meilleur effet antibactérien.

Références bibliographiques:

Assie B., 2004. Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'état de Doctorat en Médecine , Université de Toulouse III, P 115.

Ayari B., Abbassi F., Hammami M.A ., Landoulsi A., 2013. Physicochemical and antimicrobial properties of Tunisian honeys: Honey inhibited the motility of bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 32, 4138-4145.

Azeredo L.C., Azeredo M.A.A., Souza S.R., Dutra V.M.L., 2003. Protein content and physicochemical properties in honey samples of Apis mellifera of different floral origins. *Food Chemistry*, 80, 249-254.

Belaid M., 1999. Etude physico-chimique et palynologique de quelques miels du centre d'Algérie : Etablissement des normes d'identification. Mem. Mag. Agr. INA. El Harrach.

Belhaj O., Oumato J., Zrira S., 2015. Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét*, 3, 3, 71-75.

Bogdanov S., Bieri K., Figar M., Figueiredo V., Iff D., Kanzig A., Stockli H., Zurcher K.,1995.Miel: définition et directives pour l'analyse et l'appréciation. *Centre Suisse de Rcherche Apicoles*.1- 26 p.

Bogdanov S., Lüllman C. et Martin P., 1997.Harmonised methods of the European Honey Commission, Apidologie 28, extra issue, 1-59. Updated 2009 publication via International Honey Commission http://www.bee-hexagon.net/en/network.htm Choose Publication : Harmonised methods of Euripean Honey Commission (accessed on 25September 2009).

Bogdanov S., Ruoff K., Persano L., 2004. Physico-chemical methods for characterization of unifloral honeys : a review. *Apidologie* , 35,4-17.

Boukrâa L., 2008. Additive Activity of Royal Jelly and Honey Against *Pseudomonas aeruginosa. Alternative Medicine Review*, 13, 330-333.

Boukrâa L., Alzahrani H.A., Abdellah F., Bakhotmah B.,Hammoudi M.,2013.Synergistic Effect of Monofloral Honey and Essential Oils against *Pseudomonas aeruginosa. British Microbiology Research* . 3 ,4 ,564-573.

Chefrour A., 2008. Miels Algériens : Caractérisation physico-chimique et melissopalynologique (Cas des miels de l'Est de l'Algérie).Thèse de doctorat d'état de sciences, Université d'Annaba.

Cooper R.A.,Jenkins L.,2009.A comparison between medical grade honey and table honeys in relation to antimicrobial efficacy. *Wounds Compend*. ***Clinical*** Research ***Practice***.21(2) 29-36.

Draiaia R ., Chefrour A., Dainese N., Borin A., Manzinello C., Gallina A., Mutinelli F.,2015. Physicochemical parameters and antibiotics residuals in Algerian honey. *African Journal of Biotechnoloy,* 14, 14, 1242-1251.

French V.M., Cooper R.A., Molan P.C., 2005. The antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci. *journal of antimicrobial Chemotherapy*.56.228-231.
Gonnet M., 1982. Le miel. Composition, propriétés, conservation. Echauffour, OPIDA, France. P 132.
Gonnet M., 1984. un miel de soleils. Rev. Fr. Apic , 434, 483-485.

HADJ SAID A., MAKHLOUFI C., CHOUKRI A., DAVIN A., 2009. CARACTÉRISATION DE CERTAINS MIELS DU NORD ALGÉRIEN. *REVUE DE L'ÉCOLOGIE–ENVIRONNEMENT*, N° 5, ED UNIVERSITÉ IBN KHALDOUN TIARET, PP 79-97.

Kaskonienė V., Venskutonis P.R., Ceksteryté V., 2010. Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 5, 801-807.

Larpent J. P.,Gourgaud M .I.,1985.Manuel pratique de microbiologie. Hermano, Paris.
Louveau J., 1968. Composition propriété et technologie du miel. Les produits de la ruche. In traitée de biologie de l'abeille. Masson et Cie, Paris.

Louveaux J., 1985. Les produits du rucher. In «Les abeilles et leur élevage».Opida,Paris.

Louveaux. J., 1980. Les abeilles et leur élevage. Hachette, paris.

Makhloufi C., Kerkvliet J.D., Ricciardelli d'Albore G., Choukri A., 2010. Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods *Apidologie*, 41, 509-521.

Manzoor M., Mathivanan V., Nabi shah GH., Mir G. M., Selvisabhanayakam M., 2013. Physico-chemical Analysis of Honey of Apis Cerana indica and Apis Mellifera from different regions of Anantnag district, Jammu & Kashmir. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,*5,3, 635-638.

Mekious S., Houmani Z., Bruneau É., Masseaux C., Guillet A., Hance T., 2015. Caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 19, 3, 221-231

Merah M., Bensaci Bachagha M., Bouderhem A., 2010. Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltes du territoire algérien.*annales des sciences et technologie.*2(2).Université Kasdi Merbah Ouargla.

Molan P., 1992. The antibacterial activity of honey: 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World*, 73, 2, 59-76.

Nedji N., Ayad W.L.,2014. Antimicrobial Effects of Algerian Honey on Pathogenic Food-Related Bacteria. *Advance Journal of Food Science and Technology* .6,11, 1194-1200.

Ouchemoukh S., Louaileche H., Schweitzer P., 2007. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honey. *Food control*, 18, 52-58.
Persano Oddo L., Piro R. 2004. Main European unifloral honeys : descriptive sheets, *Apidologie,* 35,1, 38-81.
Piazza MG., Accorti M., Persano Oddo L., 1991. Electrical conductivity, ash, colour and specific rotatory power in Italian unifloral honeys. *Apicoltura*, 7, 51–63.

Schweitzer P., 2000. La couleur des miels. *Abeille de France* n°872.

Schweitzer P., 1999. Sur les sentiers des miels France. L'HMF et les miels. *Abeille de France*, n° 849.
Schweitzer P., 2005. Sur les sentiers des miels de France, terre des hommes, planète du miel : quelques éléments sur le vieillissement. *Abeille de France*, n° 916.
Terrab A., Diez M.J., Heredia F.J., 2002.Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their Physico-chemical characteristics. *Food Chemistry*, 79, 337, 373.

Terrab A., Diez M.J., Heredia F.J., 2003. Palynological, Physico-chemical and colour characterization of Moroccan honeys:III. Other unifloral honey types. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 395-402.

Terrab A., Recamales A. F., Hernanz D., Heredia F.J.,2004. Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry* , 88, 537–542.

Zerrouk S.H., Fallico B.G., Arena E.N., Ballistreri G.F., Boughediri L.A., 2011. Quality evaluation of some honey from the central region of Algeria. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 4, 4, 243-248.

La culture des bactéries lactiques sur des milieux de culture naturels à base de matières végétales disponibles localement.

Hamed Djahira[1], KeddariSoumia [1], Nacef Ahmed[2], Riazi Ali[1]

Résumé

Dans cette étude trois milieux de culture ont été développé (PD, ND et NL) à base de matières végétales disponibles localement avec une faible valeur marchande, il s'agit de (datte sèche MechDagla) et un déchet agro-industriels (noyaux de datte). Les lentilles ont été additionnées aux milieux de culture afin de pallier la carence protéique. Cette étude à permis de valoriser ces déchet d'une part et l'obtention d'un milieu de culture moins onéreux par rapport au milieu de référence MRS qui est un milieu favorable pour la croissance des bactéries lactique d'autre part. Quatre souches bénéfiques lactiques ont été exploitées (Lb-P, Lb-A, Bb12 et Bb443). Sur le plan de leur cinétique de croissance, il n'existe pas une différence significative (p> 0,05) entre PD et MRS. La biomasse la plus importante est obtenue sur les milieux MRS et PD avec une valeur de 14,39 et 17,35 log UFC/ml respectivement, faible sur milieu NL et négligeable sur milieu ND. Les quantités en sucres totaux ainsi qu'en protéines des milieux fermentés ont été satisfaisantes. Selon la cinétique d'évaluation du pH, les deux milieux ND et MRS sont similaires et toutes les souches testées ont un pouvoir acidifiant rapide sur ces milieux.

Mots clés: Datte, Bactéries lactiques, Valorisation, Fermentation, Biomasse.

1. Matériels

1.1. Matériel biologique

Notre travail a été effectué au sein du Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAF) de l'université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem**.** Il consiste à valoriser des produits végétaux de faible valeur marchande et des déchets d'industries agro-alimentaires utilisés comme substituant pour la fermentation des bactéries bénéfiques.

1.2. Origine des souches

Les souches utilisées dans ce travail comportent des souches bénéfiques lactiques et bifides qui proviennent de la collection du laboratoire LMBAF.

Les souches lactiques : il s'agit de *lactobacilles acidophiles* LbA-CECT 4523, *lactobacilles plantarum* LbP-CECT 748.

Les souches bifides sont représentées par bifidobacterium aninatis subsiplactis, codées Bb12 et bifidobacterium eriniumbifidum codées par Bb443

II .2. Méthodes

II.2.1 Revivification des souches

Les souches conservées à -20^{0}C dans du glycérol, ont été réactivées sur milieu MRS liquide et incubés en anaérobiose à 37 C° pendant 24 à 72 heures.

Des ensemencements sur milieu MRS gélosé ont été effectués, suivis par des repiquages par stries d'épuisement de colonies obtenues afin de vérifier la pureté de la souche.

Les boites ensemencées par des monocultures ont été incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies ont été soumises à des observations microscopiques et macroscopiques.

2.1.1 Etude macroscopique

2.1.2 Etude microscopique

La pureté de la souche est vérifiée sous microscope photonique en utilisant frottis frais et frottis fixé coloré par méthode de Gram.

2.2. Sélection des substrats utilisés:

Le choix de bases des matières premières utilisées pour la préparation des milieux de culture a été fait essentiellement en raison de certains critères qui sont.

- Leur disponibilité localement.
- Leur richesse en élément nutritifs (Richesse en sucre / azote / éléments minérale).
- Leur faible cout et faible valeur marchande.

2.2.1 Sélection de dattes

La variété de datte retenue dans cette étude est très répandue dans les palmeraies de la région Sud-Est. C'est la variété sèche : Mech-Degla (Figure 3).

Le choix de cette variété se justifie par son abondance au niveau national, sa faible valeur marchande, sa facilité de conservation (datte sèche)

II.2.2.2 Sélection de noyaux de dattes:

Le noyau de datte présente 7 à 30 % du poids de la datte. il est possible d'obtenir une farine dont la valeur fourragère est équivalente à celle de l'orge **(Djouab A ., 2007).**

II.2.2.3 Sélection de lentille:

Les lentilles utilisées sont des variétés communes lentilles vert disponible sur le marché Algériens

II.2.3. Préparation des milieux de cultures naturels:

On propose trois milieux naturels

- (PD) milieu de culture à base de poudre de datte.
- (ND) milieu de culture à base de poudre de noyau de datte.
- (NL) milieu de culture à base de poudre de lentille et de noyau de datte.

Séchage	Broyage	Agitation

Centrifugation	Filtration	Autoclavage

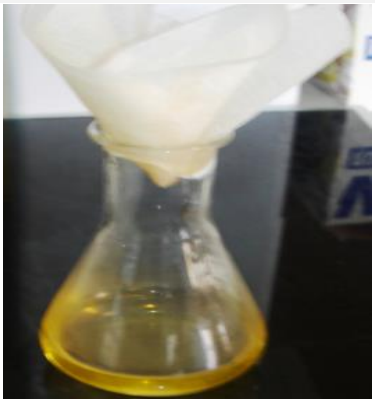


Figure 6 : les étapes de préparation du milieu de culture PD

Séchage	Broyage	Agitation

Centrifugation	Filtration	Autoclavage

Figure 7: Les étapes de préparation du milieu de culture ND

2.3.2 Préparation du milieu de culture à base de noyau de datte (ND)

II. Résultats et discussions

III.2.1. La couleur des différents milieux préparés est mentionnée dans le tableau 9

MILIEU	ND	PD	N+L	MRS
Couleur	Grena	Jaune claire	Jaune claire	Jaune
Image				

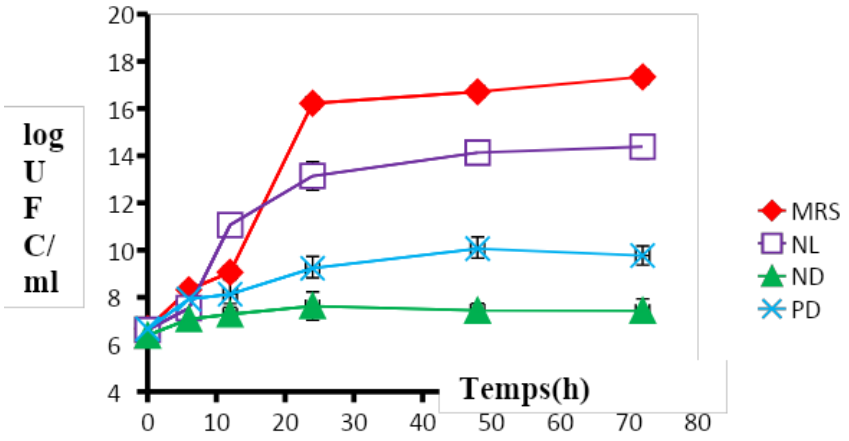
III.2.2. Estimation du cout des milieux développés

D'après les couts des milieux mentionnés dans le tableau 10 tout les milieux développés sont moins onéreux comparés au milieu MRS, les noyaux de datte est cout nul, les milieux a base de poudre de datte et le noyau de datte plus lentille sont moins onéreux avec des couts 150 fois inferieur à milieu MRS.

Tableau 10: estimation du cout des milieux développés et le milieu MRS

Milieu	de 1 kg en DA
MRS	15000
PD	100
ND	00
ND+LEN	100

La courbe de croissance de la souche Bb443 et Bb12 sur différents milieux de culture pendant 72heures d'incubation à 37°C



Conclusion

Comparés au milieu MRS, les milieux de cultures développés au cours de cette étude, sont beaucoup moins onéreux. En effet, le déchet agro-industriel (ND) a un coût nul et les deux autres milieux (PD et NL) sont 200 fois moins chers que le MRS. L'analyse biochimique révèle une richesse en sucres pour les trois milieux avec des teneurs entre (40.2 à 72.1 mg/ml), desteneur en protéines entre (1,12 et 2.48 mg/ml), le PD estle milieu le plus pauvre. Malgré cette carence en protéines, ce dernier reste le milieu le plus proche du milieu MRS une biomasse importante a été obtenue sur milieu à base de poudre de datte(PD) et MRS d'une moyenne 12,47 et14, 32 log UFC/ml par ailleurs d'une faible croissance à été enregistré sur le milieu à base de noyau de datte Aucune signification statistique a été obtenue entre le milieu MRS et milieu PD. Ceci permet de conclure que le milieu PD peut être un substitut du milieu MRS