

**Directeur de la revue:** BOUTARFAIA Ahmed  
(Recteur de l'Université de Ouargla)  
**Directeur de la publication:** KHELIFA Abdelkader  
**Directeur scientifique de la publication:** BISSATI Samia  
**Rédacteur en chef:** OULD EL HADJ Mohamed Didi

**ISSN 2170-1318**

**ADRESSE DE LA DIRECTION DE LA PUBLICATION**

*Algerian Journal of Arid Environment*

Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides

Faculté des sciences de la nature et de la vie

BP 511, Université Kasdi Merbah-Ouargla

30000 Ouargla, Algérie

Tél.: (+213) 29 71 65 71/29 71 56 89 Fax.: (+213) 29 71 56 89

Web: [www.ouargla-univ.dz](http://www.ouargla-univ.dz) E-mail: [ecosys.infos@yahoo.fr](mailto:ecosys.infos@yahoo.fr)

URL: <http://revues.univ-ouargla.dz/index.php/acceill/algerian-journal-of-arid-and-environment-ajae>

DOI: S10.12816/0008911; <http://www.crossref.org/missingmd?datatype=j&prefix=10.12816>





**Université Kasdi Merbah-Ouargla  
(Algérie)**

*Algerian Journal of Arid Environment*

**Revue des Sciences de la nature et de la vie  
Editée par l'Université Kasdi Merbah-Ouargla (Algérie)**

*Laboratoire de Protection des Ecosystèmes  
en Zones Arides et Semi Arides (Ecosys)*

**ISSN 2170-1318**

**Directeur de la revue:** Pr. HALILAT Mohamed Taher  
(Recteur de l'Université de Ouargla)

**Directeur de la publication:** KHELIFA Abdelkader

**Directeur scientifique de la publication:** BISSATI Samia

**Rédacteur en chef:** OULD EL HADJ Mohamed Didi

Volume 6, numéro 2, décembre 2016





**ALGERIAN JOURNAL OF ARID ENVIRONMENT**  
 REVUE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
 LABORATOIRE DE PROTECTION DES ECOSYSTEMES EN ZONES ARIDES ET SEMI ARIDES  
 UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA  
 ISSN 2170-1318



<p style="text-align: center;"><b>Directeur de la revue</b></p> <p style="text-align: center;">Pr. HALILAT Mohamed Taher</p> <hr/> <p style="text-align: center;"><b>Directeur de la publication</b></p> <p style="text-align: center;">Mr KHELIFA Abdelkader</p> <p style="text-align: center;"><b>Directeur scientifique de la publication</b></p> <p style="text-align: center;">Pr. BISSATI Samia</p> <p style="text-align: center;"><b>Rédacteur en chef</b></p> <p style="text-align: center;">Pr. OULD EL HADJ Med Didi</p> <p style="text-align: center;"><b>Comité de rédaction</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr. CHELOUFI Hamid</li> <li>- Pr. SAKER Med Lakhdar</li> <li>- Dr DADDI BOUHOUN Mustapha</li> <li>- Dr BOUAL Zakaria</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Mise en page</b></p> <p style="text-align: center;">Mr CHAABENA Ahmed</p> <p style="text-align: center;"><b>Comité scientifique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr. OULD EL HADJ M. D., Algérie</li> <li>- Pr. DADDA MOUSSA B., Algérie</li> <li>- Pr. MESSAITFA A., Algérie</li> <li>- Pr. HADJ-MAHAMMED M., Algérie</li> <li>- Pr. SOLTANI N., Algérie</li> <li>- Pr. BOUGHEDIRI L., Algérie</li> <li>- Pr. DOUMANDJI S., Algérie</li> <li>- Pr. DOUMANDJI-MITICHE B., Algérie</li> <li>- Pr. LAAMARI M., Algérie</li> <li>- Pr. HALITIM A., Algérie</li> <li>- Pr. BENALAOUA S., Algérie</li> <li>- Pr. SAMRAOUI B., Algérie</li> <li>- Pr. COTE M., France</li> <li>- Pr. MICHAUD P., France</li> <li>- Pr. SERGE MARLET C., France</li> <li>- Pr. CHERITI A., Algérie</li> <li>- Pr. TAMISIER A. J., France</li> <li>- Pr. BOUTIN C., France</li> <li>- Pr. HAMDY AISSA B., Algérie</li> <li>- Pr. TRAORE S. A., Burkina Faso</li> <li>- Pr. O/ EL HADJ-KHELIL A., Algérie</li> <li>- Pr. SIBOUKER O., Algérie</li> <li>- Pr. TOUCHAN R., USA</li> <li>- Pr. BOUTATAOU D., Algérie</li> <li>- Pr. ADAMOUCHE A., Algérie</li> <li>- Dr ESNAULT M. A., France</li> <li>- Dr M'SADAK Y., Tunisie</li> <li>- Dr SANON S., Burkina Faso</li> <li>- Dr BOURAS N., Algérie</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><b>ADRESSE DE LA DIRECTION DE LA PUBLICATION</b></p> <p style="text-align: center;"><i>Algerian Journal of Arid Environment</i></p> <p style="text-align: center;">Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides    Faculté des sciences de la nature et de la vie    BP 511, Université Kasdi Merbah-Ouargla    30000 Ouargla, Algérie</p> <p style="text-align: center;">Tél. : (+213) 29 71 65 71/29 71 56 89 Fax. : (+213) 29 71 56 89    Web: <a href="http://www.ouargla-univ.dz">www.ouargla-univ.dz</a> E-mail: <a href="mailto:ecosys.infos@yahoo.fr">ecosys.infos@yahoo.fr</a></p> <hr/> <p style="text-align: center;"><b>Instructions aux auteurs</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1.- Les articles peuvent être rédigés dans deux langues (arabe, français ou anglais). Ils doivent subir deux expertises, à la fois scientifique et linguistique, avant acceptation.</li> <li>2.- Le nombre total de pages de l'article dépend de sa nature : Originale (15 pages), synthèse (8 pages) et étude de cas (6 pages). Les articles doivent présenter des résultats non publiés, et ceux de synthèse et d'étude de cas doivent être synthétiques sans illustrations.</li> <li>3.- Leurs soumissions doivent parvenir à l'adresse électronique en format TNR pour le texte et JPG pour les illustrations.</li> <li>4.- L'auteur correspondant recevra après expertise et acceptation un tiré à part sous format PDF et un exemplaire de revue gratuitement.</li> <li>5.- Pour permettre une pérennité et une large diffusion à la revue un abonnement sera proposé sur le site de l'université et dans la revue aux particuliers, institutions et étudiants avec des tarifs étudiés selon la catégorie et la destination.</li> <li>6.- Le texte doit être en forme TNR taille 12 avec numérotation des lignes. Le titre de l'article en langue de rédaction et en anglais de forme TNR taille 14 gras, est suivi des nom et prénom des auteurs en forme TNR taille 12 avec adresses et Email en forme TNR taille 11, avec un astérisque sur l'auteur correspondant.</li> <li>7.- Les résumés doivent être rédigés en langue de rédaction, en arabe ou anglais, de forme TNR taille 10, italique. Ils doivent comporter cinq mots clés au maximum.</li> <li>8.- Les illustrations légendées ne doivent pas dépasser cinq illustrations avec mention dans le texte et numérotées en chiffres arabes (figure, photo 1, 2, etc.) et chiffres romains (tableau I, II, etc.).</li> <li>9.- Les références bibliographiques ne doivent pas être sélectives d'articles de revues, de livre et d'article de livres seulement. Ils seront classés par leur ordre d'apparition dans le texte et appelées dans ce dernier par leur numéro placé entre crochets :       <ul style="list-style-type: none"> <li>- Exemple de revue : Maduakor H., 1991 - Efficient fertilizer. Fertilizer Research, 29: 65-79.</li> <li>- Exemple de livre : Steel R., Torrie J., 1960 - Principles and procedures. McGraw-Hill, London, 433 p.</li> <li>- Exemple d'article de livre: Tal M. Selection for stress tolerance. In : Evans D.A., Shap N.R., Ammirato P.V., eds. Handbook for plant cell culture. New York : Macmillan, 1992 : 101-112.</li> </ul> </li> </ol> <hr/> <p>Les thèmes des articles publiés dans <i>Algerian Journal of Arid Environment</i> concernent tout ce qui touche au développement et à la gestion durable de l'environnement des régions arides et semi arides de la planète.</p> <p style="text-align: right;"><b>Rédacteur en chef</b></p> <p style="text-align: right;">Pr. OULD EL HADJ Med Didi</p>
--	---

# **Algerian Journal of Arid Environment**

## **“AJAE”**

vol. 6, n°2 - 2016

**Sommaire**

- Insécurité alimentaire et pauvreté des ménages en milieu rural au Niger: cas de la région de Tahoua**  
MOUSSA DIT KALAMOU Mahamadou \*, YAMBA Boubacar, LEBAILLY Philippe 4
- Planomonospora* sp. PM18: isolation and taxonomy of new actinobacterial strain isolated from algerian saharan soil**  
CHAABANE CHAOUCH Fawzia, BOUZNADA Khaoula, BOURAS Noureddine \*, TATA Samira, MEKLAT Atika, MOKRANE Salim, LAMARI Lynda, KEMASSI Abdellah, MATHIEU Florence and SABAOU Nasserdine 16
- Comparaison de l'activité protéasique des souches de *Bacillus thuringiensis* Strains**  
SELLAMI Sameh \*, ABDELKEFI-MESRATI Lobna, TOUNSI Slim, KAIS Jamoussi 24
- Etude de la gestion raisonnée de la fertilisation et des pourritures racinaires sur le rendement d'une collection marocaine du blé**  
SALAMA Youssef \*, CHENNAOUI Mohammed, El AMRAOUI Mohammed 32
- Situation sanitaire mammaire et pertes laitières engendrées en élevage bovin hors sol dans le centre-est de Sousse (Tunisie)**  
M'SADAK Youssef \*, MAKHLOUF Marwa, SBOUI Houyem 43
- Compostage en cuve des déchets ménagers et valorisation agricole du compost obtenu**  
CHENNAOUI Mohammed \*, SALAMA Youssef, MAKAN Abdelhadi, MOUNTADAR Mohammed 53
- Effet du stress salin sur la variation d'isoenzymes d'estérases de deux géotypes contrastés de médicago**  
AMOURI Adel Amar 67
- Chemical composition and anti-inflammatory activity of *Myrtus communis* L. essential oil**  
TOUAIBIA Meriem 73
- Effet de quelques traitements physiques sur la germination des glands et la croissance ultérieure des plants de chêne vert (*Quercus rotundifolia* Lam.)**  
KOUMICHE Fatiha et BENMAHIOUL Benamar\* 83
- Le petit renard des hautes plaines de Tiaret: une espèce méconnue en danger!**  
BENCHOHRA Mokhtar\* et AMARA Karim 93

## INSÉCURITÉ ALIMENTAIRE ET PAUVRETÉ DES MÉNAGES EN MILIEU RURAL AU NIGER: CAS DE LA RÉGION DE TAHOUA

MOUSSA DIT KALAMOU Mahamadou<sup>1\*</sup>, YAMBA Boubacar<sup>2</sup>, LEBAILLY Philippe<sup>3</sup>

<sup>(1)</sup>Université d'Agadez, Agadez, Niger

<sup>(2)</sup>Département de Géographie, Université Abdou Moumouni de Niamey, Niger

<sup>(3)</sup>Unité d'Economie et Développement Rural de l'ULG Gembloux Agro Bio Tech  
Gembloux, Belgique

E-mail: [mmkalamou@gmail.com](mailto:mmkalamou@gmail.com)

**Résumé.-** La présente étude porte sur la situation d'insécurité alimentaire et la pauvreté des ménages dans la région de Tahoua (Niger). Les investigations ont intéressé 420 ménages répartis dans 20 villages selon un échantillonnage raisonné proportionnel au poids démographique des 8 départements de la région. L'insécurité alimentaire des ménages résulte de l'insuffisance des terres cultivables. Ainsi la pauvreté reste majoritairement liée au faible accès aux services sociaux de base tels que l'éducation avec 29% des scolarisés et 53% des analphabètes; la couverture sanitaire avec 53,09% et des habitats rudimentaires constitués de cases en banco, de paillottes, de semi-paillotte ou de matériaux définitifs. Les infrastructures hydrauliques permettent une couverture en l'eau potable de 13,5% des ménages. Par conséquent le gouvernement nigérien doit réagir pour réduire cette vulnérabilité des populations à l'insécurité alimentaire et la pauvreté par la mobilisation des réserves foncières, l'appui au pastoralisme et aux activités extra agricoles, et la maîtrise de la démographie.

**Mots clés.-** Insécurité alimentaire, pauvreté, terres cultivables, Tahoua, Niger.

### FOOD INSECURITY AND POVERTY OF THE HOUSEHOLDS IN RURAL AREAS IN NIGER: THOSE OF THE REGION OF TAHOUA

**Abstract.-** This study examines the food insecurity situation and household poverty in Tahoua region (Niger). The investigations concerned 420 households distributed in 20 villages according to a reasoned sampling proportional to the demographic weight of 8 departments of the region. Household food insecurity results from inadequate cultivable land. Thus, poverty is mostly linked to poor access to basic social services such as education with 29% of school attendees and 53% of illiterates; Health coverage with 53.09% and rudimentary habitats consisting of hutches, straw huts, half or final materials built. Water infrastructure provides 13.5% of households with drinking water. Consequently, the Niger government must respond to reduce the vulnerability of populations to food insecurity and poverty by mobilizing land reserves, supporting pastoralism and non-agricultural activities, and controlling demography.

**Key words:** Food insecurity, Poverty, cultivable land, Tahoua, Niger

### Introduction

En septembre 2000 lors du sommet du millénaire des Nations Unies, cent quatre vingt neuf (189) gouvernements du monde se sont engagés à unir leurs efforts pour réduire la pauvreté mondiale de moitié à l'horizon 2015. En plus de la réduction de la pauvreté et la faim, les objectifs majeurs du développement (déclaration du millénaire) engageaient les Etats à promouvoir le développement humain, maintenir un environnement durable et mettre sur pied des partenariats pour le développement [1].

Depuis les années quatre vingt, le Niger n'a pas cessé de chercher les solutions idoines aux problèmes cruciaux de pauvreté et d'insécurité alimentaire qui d'ailleurs sont liés, à travers des politiques macro-économiques comme le Programme d'ajustement structurel (PAS), la stratégie de réduction de la pauvreté (SDR) sous toutes ces formes d'amendement, le programme spécial du fonds des Pays Pauvres Très Endettés (PPTE) et l'initiative 3 N (les Nigériens Nourrissent les Nigériens) de la 7<sup>ème</sup> république. Il s'agit plus particulièrement de Stratégie de Développement Accéléré et de Réduction de la Pauvreté (SD/RP) 2008-2012 et de ses différents programmes d'intervention notamment ceux conduits dans le cadre de la Stratégie de Développement rural (SDR) dont le plan d'action fait du secteur rural le moteur de la croissance économique, du Dispositif National de Prévention et de Gestion de Crises Alimentaires (DNPGCA) et sa composante Système d'Alerte Précoce (SAP) et du Programme Cadre de Lutte Contre la Pauvreté (PCLCP) et ses objectifs du millénaire. Ainsi, il existe plusieurs types de pauvreté, qui varient aussi selon qu'on se trouve en milieu urbain ou en milieu rural; puis elle est vécue différemment selon les sexes. Le Niger est un des pays les plus pauvres du monde avec un taux de pauvreté de 62,1% en 2005 contre 59,1 [2]. Près de 65,7% des pauvres vivent en milieu rural avec une forte féminisation de la pauvreté (trois quarts des pauvres). Le sous-emploi touche 4 personnes sur 5 en raison du caractère saisonnier de l'activité agricole. La pauvreté est aggravée par des pénuries alimentaires chroniques essentiellement liées aux catastrophes naturelles, à l'instar de celle de 2005 et 2010.

En outre, la pression démographique avec une fécondité très élevée de 7,1 enfants par femme, et un fort taux d'accroissement naturel de 3,9% et la désertification menacent l'environnement malgré les efforts de reboisement et de récupération des terres [3]. La pauvreté au Niger est liée au faible accès des populations aux services sociaux de base. Les principaux indicateurs des Objectifs du Millénaire pour le Développement (OMD) sont à des niveaux relativement bas: 198% des enfants meurent avant d'atteindre 5 ans; le taux net de scolarisation dans le primaire s'élève à 43% et la population adulte n'est alphabétisée qu'à 28,7%; le taux d'accès à l'eau potable est de 68,7%. L'espérance de vie à la naissance était de 55,8 ans en 2005. La féminisation accrue de la pauvreté résulte des inégalités entre les sexes dans l'accès aux facteurs de production et au savoir. Les différentes crises ont occasionné des bouleversements sur le plan sociopolitique (sécheresse, famine, instabilité politique, résilience) et beaucoup affecté les ménages de la région.

La présente étude recherche les caractéristiques sociodémographiques des ménages de la région de Tahoua (Niger). Elle vise à générer une masse données pertinentes sur la pauvreté en général, et plus spécifiquement sur la pauvreté des femmes, la pauvreté structurelle, imperceptible voir indéfinissable qui affecte durablement en milieu rural nigérien une certaine catégorie de personnes et de ménages en raison de leur situation ou statut social. L'objectif consiste à rendre disponible une base d'informations dont l'utilisation sera d'une importance notable dans la lutte contre ce fléau qui gangrène les populations rurales.

## 1.- Matériel et méthodes

La région de Tahoua est subdivisée en huit (8) départements à savoir Abalak, Birni Nkonni, Bouza, Illéla, Keita, Madaoua, Tahoua département et Tchintabaraden. Suite à la communalisation intervenue en 2002, elle dispose de neuf (9) communes urbaines et 35 communes rurales. Les institutions coutumières se composent de 12 cantons et 23

groupements nomades totalisant 2077 villages administratifs et «hameaux». La population de cette région comptait 2.685.080 habitants en 2010 soit environ 18% de la population nigérienne.

Dans le souci d'une meilleure représentativité régionale il est opté pour un échantillonnage raisonné en commun accord avec l'Institut National des Statistiques et le Service Régional du Développement Communautaire de Tahoua. Ainsi une taille de l'échantillon de 420 ménages ont été enquêtés pour toute la région en fonction d'un échantillonnage raisonné suivant le poids démographique des départements qui constituent la région. Les ménages sont tirés dans 20 villages avec un effectif de 21 ménages par village échantillon, pour cela un chiffre était choisi de 1 à 5 au hasard qui avait constitué le numéro du premier enquêté du village et aussi la raison ou le pas du tirage afin de choisir les 21 ménages par village pour obtenir les 420 ménages sur l'ensemble des 20 villages échantillons.

La méthode de la détermination de la taille d'échantillon a été faite avec l'appui du directeur technique de l'institut national des statistiques agricoles, puis la base de sondage de la région de Tahoua a servi pour le tirage des villages échantillons avec la collaboration de la direction régionale de l'aménagement du territoire et du développement communautaire de Tahoua.

La logistique pour la présente étude, se compose d'un véhicule tout terrain, un appareil photo, un GPS, un enregistreur, les logiciels Excel et SPSS et la fiche d'enquête. Les villages échantillonnés appartiennent à trois zones agro-écologiques (agricole, agropastorale et pastorale).

L'enquête diagnostic ne concerne que les ménages sédentaires. En zone pastorale, l'échantillonnage a ciblé les villages sédentarisés suite à la perte de leur cheptel lors des sécheresses et crises alimentaires des dernières décennies (1974, 1984, 2005, 2010). Les ménages échantillons ont été tirés à partir de la base de sondage de la région disponible au niveau de la Direction Régionale du Développement Communautaire et de l'Aménagement du Territoire de Tahoua (DRDC/AT).

## **2.- Résultats**

Les résultats portent sur les caractéristiques sociodémographiques des ménages (structure par sexe et âge, composition, taux de fréquentation scolaire, niveau d'instruction) et sur les caractéristiques des logements ainsi que sur certains biens durables que détiennent les ménages. Ils sont obtenus auprès des ménages investigués sur caractéristiques de l'environnement socioéconomiques immédiat des hommes et femmes chef de ménages issus de l'échantillon de l'enquête diagnostic sur l'insécurité alimentaire dans la région de Tahoua conduit en 2010. Aussi ces caractéristiques socioéconomiques et environnementales sont des déterminants de l'état des conditions d'une vie de la population (santé, éducation et la sécurité alimentaire à travers la disponibilité de l'eau potable et les moyens de production). Ces caractéristiques permettront de mettre en exergue le risque de vulnérabilité des ménages à l'insécurité alimentaire et l'état de pauvreté des ménages dans la région de Tahoua.

## 2.1.- Population

La population de la région de Tahoua se compose de plusieurs ethnies (adérawas, gobérawas, konnawas, touareg, peulhs, lissawanes, kourfayawas, arabes, bouzous, et maouris). Elle est passée de 1.397.351 habitants (698.815 femmes) à 2.658.099 habitants (1.341.426 femmes) de 1990 à 2010 [6]. Ainsi 87% de la population vivent en milieu rural contre 13% qui résident en milieu urbain. En vingt (20) ans, cette population a presque doublé comme celle du Niger [3]. De façon générale, la population de la région était équitable répartie par sexe en 1990 avec 50% de la composante féminine. Cette situation a légèrement évolué pour atteindre le seuil de 50,5% en 2010. Néanmoins elle n'est pas de même en milieu rural de surcroît dans le cas de cette étude où elle est constituée de 51% des hommes et 49% des femmes. Le village le plus peuplé est celui de Balgaya avec 6,8% de l'effectif. Il se trouve dans la commune de Dogaraoua, département de Birni Konni à la frontière du Nigéria. Ce village fait partir de la zone agricole la plus dense et la plus peuplée de la région. Tandis que le village le moins peuplé est celui d'Abala Sani avec 3,6%, qui est dans la commune de Danfan, département de Tahoua. Ce village est l'un des villages chroniquement déficitaire où l'insécurité alimentaire se pose avec acuité à cause des sécheresses, la pauvreté des sols et le départ massif des bras valides en exode. Il est plus désert que le village de la zone désertique comme Edouk<sub>2</sub> (4%) dans la commune de Kao, département de Tchintabaraden, qui est situé dans la zone pastorale, la moins peuplé du Niger où la densité de la population est naturellement faible. Les tendances des populations observées au niveau des villages, ainsi les départements les plus peuplés demeurent Birni N'konni et Madaoua avec respectivement 22 et 20,2% de la population échantillon. Ces départements se situent dans la zone agricole et font frontière avec le pays le plus peuplé d'Afrique le Nigeria. Les départements les moins peuplés se trouvent dans la zone pastorale. Il s'agit de Tchintabaraden et d'Abalak. Ils représentent aussi respectivement 4 et 5,3% de la population totale de l'échantillon.

## 2.2.- Répartition des chefs de ménage par sexe

Les quatre cent vingt (420) chefs de ménages échantillons sont constitués de 364 ménages masculins soit un taux de 87% de l'échantillon et de 56 ménages féminins soit un taux de 13% de l'échantillon obtenus au hasard dans le tirage des ménages échantillon à partir des listings des ménages constituant le village. Il apparaît que l'échantillon est constitué de 64% de personnes âgées (entre 46 à 85 ans). Il est à souligner la présence de chefs de ménages mineurs dont les âges varient entre 10 à 17 ans qui sont au nombre de deux (2). Cette tranche des mineurs sont des garçons qui se voit confier la destinée du ménage suite à un cas de décès du père, ou à un cas d'exode durable du père ou bien enfin lorsque le jeune garçon est émancipé et qu'il se trouve que son père est très vieux pour coordonner les activités agricoles du ménage. La tranche des ménages âgés comporte aussi des actifs agricoles mais moins efficaces que ceux de la tranche des majeurs. Dans cette région, se rencontrent des vieux cultivant la terre jusqu'à l'âge de 75 ans. Malheureusement, ils ne sont pas performants du fait du faible rendement de travail par manque d'énergie et de force conséquente. En général, les individus de cet âge qui ne rattachent pas les travaux champêtres sont ceux qui n'ont pas de relève, ou bien qui sont abandonnés par leurs fils ou filles en exode. Quant aux chefs des ménages mineurs, ils sont non seulement inexpérimentés, mais aussi inefficaces dans la conduite des activités agricoles du ménage. Ils sont parfois assistés, aidés ou guidés par les aînés du village (parentés). Il est à noter que les ménages les plus peuplés dont les membres dépassent la vingtaine sont situés dans les communes où les villages se trouvent sur la route nationale par

exemple la commune d'Illéla (Roumbouki) et de Bangui (Malley sédentaire), les communes aux villages frontaliers avec le Nigéria par exemple la commune de Dogaraoua (Balgaya) qui compte deux (2) ménages dans ce cas, et les communes rurales de karofane, Bambaye et kéita qui est une commune urbaine. Cela prouve que la forte densité de la population se trouve dans l'extrême sud de la région (Madaoua et Konni) qui sont dans la zone agricole la plus arrosée de la région. Il y a aussi l'influence de mœurs du pays voisin le Nigeria qui est le plus peuplé de l'Afrique. Dans le même ordre d'idée en 2010, l'espérance de vie à la naissance des nigériens est de 58 ans, alors que celle de la région est de 55 ans. Cet écart pourrait expliquer le niveau de vulnérabilité au niveau de la région. La structure par âge de la population met en exergue l'importance des jeunes âgés de moins de 15 ans qui représentent 48,5 % de la population totale. Les personnes âgées de plus de 64 ans ne représentent que 3% de la population. Les femmes représentent 50,01% de la population totale.

### 2.3.- Liens de parentés: état civil des chefs de ménages

La monogamie domine avec 51,7%. Elle est suivie de la polygamie qui est aussi non moins importante. Elle est pratiquée par 34% des ménages échantillons. En suite viennent les autres situations d'état civil telles que les veuves (9,5%), les femmes victimes d'exode (2,9%), les divorcés (1%), garçon /fille et femme libre avec respectivement 0,7% et 0,2%. La taille de l'échantillon est de 420 ménages. Elle comporte 56 (13%) chefs de ménage féminins et 364 (87%) chefs de ménage masculins. Parmi les ménages féminins, les veuves sont plus importantes et représentent 9,28% de l'échantillon suivi de femme victime d'exode qui représente 3%. Il ressort du tableau I que cette taille par zone agro-écologique se compose de 168 ménages (40%) en zone agricole, de 210 ménages (50%) en zone agro pastorale et de 42 ménages (10%) en zone pastorale. Sur l'ensemble des zones agro-écologiques, seule la zone agricole et la zone agro pastorale possèdent des chefs de ménage de sexe féminin. C'est ainsi que les ménages dirigés par les femmes sont respectivement au nombre de 11 (20%) et 45 (80%) en zone agricole et en zone agro pastorale. La zone pastorale ne possède pas de chef de ménage de sexe féminin.

**Tableau I.-** Répartition des chefs de ménages par sexe et par zone agro-écologique

Chef de ménage par sexe		Zone agro-écologique			Total
		Zone agricole	Zone agro-pastorale	Zone pastorale	
<b>Ménage masculin</b>	Nombre	157	165	42	364
	Pourcentage	43,13%	45,33%	11,54%	100%
<b>Ménage féminin</b>	Nombre	11	45	0	56
	Pourcentage	19,64%	80,36%	0%	100%
<b>Nombre de ménages</b>	Nombre	168	210	42	420
	Pourcentage	40%	50%	10%	100%

### 3.4.- Etat civil de l'effectif total de la population des ménages

En considérant la population des ménages échantillons dans son ensemble (3961 habitants), les célibataires dominent l'état civil (62,1%) suivis des mariés (monogames et polygames) avec 35 %, des veuves/veufs (2,2%), des divorcés (0,4%), et des unions libres (0,4%) également.

### **3.5.- Ancienneté du chef de ménage**

Une typologie de chef de ménage en fonction des périodes en années a été établie. En effet, 4% des chefs de ménages n'ont même pas cinq (5) années d'expérience en matière de la gestion du ménage contre 40% ont plus de 30 années en tant que chef d'exploitation. Toutefois, les chefs de ménages qui possèdent entre 10 à 25 ans d'expérience (34%) semblent plus efficace dans la gestion quotidienne du ménage parce qu'ils ne sont ni trop jeune, ni trop vieux dans ce rôle de chef de ménages. Cette typologie permet de voir le niveau de maîtrise de la gestion par expérience des ménages. Le ménage âgé a une forte capacité d'innovation, de résilience à la vulnérabilité. Malgré, le rendement faible dans les travaux agricoles, le ménage âgé possède une assise sociale dans le village d'où l'utilisation du terme "Lattchizo" pour désigner les âgés responsables et ils représentent aussi les sages du village. Ils jouent un rôle primordial dans le règlement des conflits au tour des ressources naturelles. Ils incarnent la mémoire du village ou des terroirs.

### **3.6.- Professions des ménages**

L'emploi rural se limite essentiellement au travail agricole. L'agriculture occupe près de 36,73% des ruraux. Les autres professions déclarées ont des taux non significatifs. La part des sans profession concerne presque 33,20% des ménages. Parmi les stratégies de lutte contre l'insécurité alimentaire, figure le recours à l'exode. En dehors de trois (3) paysans pour les quels l'exode dévient une profession, tous les agriculteurs en font pour assurer l'équilibre de leur ménage ou pour acquérir une certaine dépendance économique ou réduire leur vulnérabilité. En réalité, cette part de sans profession n'est que l'ensemble les agriculteurs hormis les vieux qui cultivent encore, les femmes agricultrices et les handicapés qui restent au village après la campagne agricole. Les jeunes agriculteurs et les sans profession se donnent à l'exode, malgré que le taux de ceux qui ont déclaré l'exode comme activité professionnelle n'est que de 0,08%.

### **3.7.- Infrastructures sociales de base**

Les infrastructures rurales améliorent les conditions de vie des communes rurales, et leur promotion conduit à un développement durable des communes. L'accès aux infrastructures sociales de base permet de mesurer les différents taux de couverture des ménages en soins et santé, en eau potable, en logement, et en fréquentation scolaire.

### **3.8.- Cadre de vie**

Le cadre de vie est en étroite relation avec les facteurs de vulnérabilité des ménages; par exemple la santé affecte la force de travail et entraîne la décapitalisation foncière; l'insuffisance des infrastructures sociales de base entrave les activités économiques et l'amélioration du niveau d'instruction concourent dans la lutte contre l'insécurité alimentaire et la résilience des ménages.

### **3.9.- Habitat**

L'habitat est constitué des habitations, des équipements et des infrastructures qui servent de logements sociaux et des moyens de conservation des stocks. Il fait partir des

facteurs économiques de la vulnérabilité, un logement décent garanti le bien être, l'hygiène et la santé dont à besoins les couches socioprofessionnelles en milieu rural en vue d'atténuer les risques de l'insécurité alimentaire et de la vulnérabilité des ménages. Les différents types d'habitations des ménages de la région de Tahoua se composent essentiellement des cases en banco (97,4%), les cases paillottes (9,8%), les cases semi-paillottes (7,8%) et une case en ciment (0,2%). Il ressort un taux de couverture en logement de 32% (nombre de logements sur l'effectif de membres du ménage). Les habitations sont les constructions destinées au logement. Ils sont en terre ou en paillotte très rudimentaires et sensibles aux risques des incendies. La qualité de l'habitat influe sur le cadre de vie et l'amélioration des conditions de travail puis d'une bonne production.

### 3.10.- Moyens de stocks alimentaires: greniers

Les ménages échantillons totalisent cinq cent dix neuf (519) greniers soit une moyenne de 1,23 grenier par ménage. La capacité de stockage de ces greniers se chiffre à 1522,675 tonnes soit une moyenne de 3,62 tonnes par ménages et 0,384 tonne par membre du ménage. En considérant le besoin céréalier annuel d'un individu fixé à 250 kg /an, l'effectif et la capacité de stockage des greniers pourront théoriquement couvrir les besoins de l'ensemble des ménages ruraux de la région. Des moyens de stockage type moderne existent. Ce sont les magasins dans certains chefs lieux de communes rurales. Environ 60% des ménages ont une capacité de stockage du grenier qui varie entre 1 à 200 bottes et 11,7% des ménages n'ont aucune capacité de stockage. C'est-à-dire qu'ils ne possèdent pas de grenier pour stocker leur récolte. Il ressort que 11,67% des ménages ne disposent pas de grenier, malgré qu'ils possèdent des champs dont le nombre varie de un à trois. L'acquisition d'un grenier ("Rihéwa" en haoussa de l'Ader, "Roumbou" au sud du pays et "Barma" à l'ouest chez les Zarma) est essentiel en milieu rural parce qu'elle permet aux paysans de non seulement sécuriser sa production mais aussi de bien gérer l'utilisation dans le temps en faisant des prélèvements périodiques et rationnelle pour la consommation ou la vente dans certaines conditions. De même 62% des ménages disposent d'un seul grenier malgré la possession de champs qui varient de 1 champ (61%) à 6 champs (1,43%). Un seul ménage dispose d'un 5<sup>ème</sup> grenier, et il ne possède qu'un seul champ. Quant au 8<sup>ème</sup> grenier, il est détenu par un seul ménage qui dispose d'un 6<sup>ème</sup> champ. Le 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> grenier sont détenus par respectivement 19% et 5,71% des ménages qui possèdent aussi un effectif des champs qui varie de 1 à 6. Le 4<sup>ème</sup> grenier est possédé par 0,71% des ménages dont le nombre des champs varie de 1 à 4.

### 3.11.- Santé

Il existe onze (11) cases de santé communautaire accessibles à deux cent vingt trois (223) ménages soit un taux de couverture de 53,09%, trois (03) Centres de Récupération et Education Nutritionnelle Infantile (CRENI) pour 62 ménages soit un taux de couverture de 14,76% et enfin un (01) Centre de Santé Intégré (CSI) à un (01) ménages soit 0,23% de taux de couverture. Ces infrastructures sanitaires participent au rehaussement de taux de couverture sanitaire de 68,09% des ménages, bien que majoritairement offerte par les cases de santé gérées par des agents ou infirmiers certifiés communautaires de base. Ces centres offrent des services relatifs aux premiers soins et aux évacuations des accidentés avec des moyens de bord disponibles dans le village vers les grands centres de santé installés dans les chefs lieux de commune, de département ou de la région.

### 3.12.- Education

Les alphabétisés représentent 47% contre 53% des non-instruits (analphabètes). Parmi les instruits, seuls 28% ont été scolarisés, soit un taux brut de scolarisation de 29%, qui semble relativement faible par rapport au taux brut de scolarisation nationale qui était de 67,8% en 2008-2009 [3]. Le niveau d'instruction de cette région est globalement faible, une politique éducative doit être prise en urgence pour sortir cette frange de la population de l'analphabétisme et la déscolarisation des jeunes qui constituent un véritable frein au développement socio-économique de cette région. Avec un taux de fréquentation de seulement 7% pour l'ensemble de la population, la fréquentation scolaire est très faible.

### 3.13.- Hydraulique

En matière d'hydraulique villageoise, les chefs de ménage de la région de Tahoua s'approvisionnent en eau potable à partir des infrastructures hydraulique qui offre une faible couverture. En effet, le taux de la population qui s'alimente aux puits traditionnels et modernes représente respectivement 4,3% et 6,8%. Seuls 2,4% ont accès aux bornes fontaines véritable source d'approvisionnement en eau potable. Le faible accès aux infrastructures hydrauliques permet de confirmer une faible couverture en eau potable de la population (13,5%). En plus de la faiblesse du taux de couverture en eau potable, la qualité et la distance à parcourir pour s'approvisionner apparaît comme une préoccupation majeure. En période de fortes températures certains points d'eau traditionnels tarissent, obligeant les populations à effectuer des longues distances pour s'approvisionner. Dans le pire des situations, les paysans recourent aux eaux stagnantes de surcroît non potable qu'elles cherchent parfois sur des distances de près de 6 km. La distance moyenne est de 1,27 km.

### 3.- Discussion

La population de cette région croit à un rythme exponentiel, c'est ainsi lors du deuxième recensement général de la population au quatrième (deux décennies) la population de la région à presque triplée. Le taux de croissance de 3,1% en 2001 est passé à 4,6% en 2012. Ce taux de croissance naturel de Tahoua reste le plus élevé des huit régions du Niger selon les résultats provisoires de ce quatrième recensement général de la population tenue en décembre 2012. Si cette tendance se maintient dans l'avenir, la faible production de la région ne pourrait pas couvrir les besoins alimentaires de cette population. Par conséquent, la maîtrise de la croissance démographique reste un défi majeur pour rompre avec l'insécurité alimentaire et la pauvreté en l'occurrence des ménages féminins qui n'ont pas les mêmes possibilités d'accès aux ressources foncières. La population des vingt (20) villages échantillons est répartie aussi dans vingt (20) communes rurales et urbaines, elle se chiffre à trois mille neuf cent soixante un (3961) habitants, d'où une moyenne de neuf (9) habitants par ménages échantillon. Cela rappelle l'aspect des familles nombreuses des pays en développement dont le poids démographie constituerait aussi un frein au développement socio-économique. Parmi les ménages enquêtés, 51% ont un effectif des membres qui oscille entre 6 à 10 individus. Cela montre que plus de la moitié des ménages possèdent en moyenne huit individus. Cette moyenne s'approche de la moyenne normale des ménages échantillon qui est de neuf (9) individus par ménage. Elle est aussi supérieure à la moyenne nationale de l'indice synthétique de fécondité qui est de 7,2 enfants par femme selon le Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGP/H) 2001 [3]. D'autres ménages ont des effectifs pléthoriques, c'est ainsi que 7,9%

des ménages comptent 16 à 20 individus, pire 1,9 % possèdent des effectifs allant de 21 individus à plus. Les ménages qui ont un nombre réduit des individus (1 à 5) ne représentent que 17,4% des ménages échantillons. Le groupe d'individu dominant est celui qui est formé de 6 à 10 individus par ménage avec un taux de 50,7%. Ce groupe comprend la moyenne nationale de 7 individus par ménage et celle régionale donnée par l'Institut National des Statistiques du Niger (INS, 2010) et nos investigations sur le terrain de juillet 2010. De ce fait, l'importance des effectifs pourrait avoir des conséquences néfastes sur l'économie des ménages ruraux, puis que plus de bouche à nourrir suppose que le ménage doit avoir suffisamment de production agricole pour subvenir aux besoins alimentaires et sociaux de base des membres du ménage. La production agricole devrait contribuer à réduire la pauvreté avec tous ses corollaires. ANGELO (2007) note qu'«une augmentation de la production vivrière à elle seule ne peut résoudre le problème de la faim et de l'insécurité alimentaire» [7]. La production céréalière régionale qui est obtenue en fonction de la somme des productions du mil, du sorgho et du niébé de la même année. Cette production céréalière avait passé de 3,56 tonnes par ménage en 2007 à 3,21 tonnes par ménage en 2008, puis elle avait chuté à 0,78 tonne par ménage en 2009 soit 82,45 kg par individu au lieu de 250 kg qui est le besoin annuel en céréale d'un individu en bonne santé au Niger selon l'Institut National des Statistiques du Niger. Le besoin alimentaire des ménages n'est même pas atteinte pour mettre le surplus sur le marché afin d'obtenir les frais pour supporter les dépenses liées aux besoins sociaux (soins et santé, éducation, cérémonies...). La production reste en adéquation avec la population des ménages enquêtés d'où cette situation d'insécurité alimentaire qui perturbe l'économie de la région liée en majorité aux activités agricoles. Ces situations ne se présentent pas tous les ans, mais de manière cyclique et sont dues surtout par les conjonctures tels que les sécheresses, les inondations, les attaques des criquets et les ennemis des cultures. Quant au secteur de l'éducation, il joue un rôle important dans le développement à la base d'une population. L'éducation intervient aussi en tant que facteur social et de risque de vulnérabilité des paysans. Elle est un facteur déterminant de la vulnérabilité d'autant plus qu'elle permet au jeune d'avoir un niveau plus moins élevé de perception des événements, d'action pour faire face aux risques. C'est la raison qui nous a poussé à vérifier le niveau d'instruction de la population cible. Ce secteur est apprécié à travers le niveau d'instruction qui fait ressortir les taux de scolarisation, de l'alphabétisation et la proportion des non instruits. Une population instruite n'aura pas le même comportement face aux risques de vulnérabilité et à la lutte contre l'insécurité alimentaire. Malgré les efforts consentis dans le domaine de l'éducation, des efforts conséquents restent à faire pour instruire cette population rurale. En comparant ce taux de scolarisation de 29% avec les valeurs régionales qui étaient 55,9% en moyenne [2]. Cela laisse à croire que les infrastructures scolaires et les centres d'alphabétisation sont plus développés dans les centres urbains. Certes, la création des écoles et des centres d'apprentissage s'avère indispensable dans ces milieux ruraux, ce qui nécessite la collaboration et de l'encouragement des parents ou chefs de ménage majoritairement non instruits. A long terme, le problème des cadres risque de se poser si de nos jours seuls un taux de 0,1% fréquentent le niveau supérieur.

Le taux de couverture sanitaire est inférieur à celui de la région calculée à 66,26% en 2010 (INS, 2010). Ces différents taux donnent une couverture sanitaire moyenne de 42%; chiffre largement inférieur à la moyenne régionale de 53,23% en 2009. Le taux de couverture nationale est de 66, 27% aussi largement supérieur à celui de la région. La faiblesse de taux de couverture tient dans une large mesure à l'absence d'autres infrastructures sanitaires de niveau supérieur comme les centres de Protection Maternelle

et Infantile (PMI) qui est un système de protection de la mère et de l'enfant, les hôpitaux et les centres de santé intégrés; quoique certaines cases de santé soient appelées à se transformer en centre de santé intégré selon les prochaines programmations du Ministère de la santé publique. Ce secteur constitue avant tout un maillon essentiel d'atténuation de la pauvreté des ménages. Ces résultats prouvent que les ménages n'ont pas accès à l'hôpital, au centre de santé intégré, et au centre de PMI. Seuls 53% des ménages ont accès aux cases de santé où le service est de mauvaise qualité et aussi les médicaments et les matériels de soins sont insuffisants. D'autres cases de santé manquaient même les agents lors de l'enquête. Dans le secteur de l'hydraulique, la région de Tahoua comme dans la plupart des régions du Niger, la corvée de l'eau est une activité qui augmente la souffrance des femmes rurales. L'eau potable est une denrée rare et difficilement accessible dans cette région. Elle est cherchée par les femmes et les jeunes filles auxquelles les hommes ont dévoué cette tâche pénible. En plus des activités agricoles, la corvée d'eau est l'une des activités non agricoles qui alourdit les tâches ménagères de la femme. C'est pourquoi Gita Sen dit que «la pauvreté est sexospécifique en ceci que les hommes et les femmes ne la subissent pas également et qu'ils ne la vivent pas de la même manière, mais, mais aussi en ceci que les mécanismes qui conduisent à la pauvreté diffèrent d'un genre à l'autre, même s'ils sont apparentés». C'est conscient de tout ce qu'elles subissent, le rapport établi par le Fonds international pour le développement agricole (FIDA) sur la pauvreté, «concluait ainsi que les femmes vivant dans les campagnes des pays en développement comptaient parmi les personnes les plus pauvres et les plus vulnérables du monde» et aussi du fait qu'ils ont constaté que le nombre des ménages dirigés par une femme augmente aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en développement, les analystes ont conclu à une féminisation de la pauvreté [1]. Pour minimiser (ou amoindrir) la vulnérabilité de la femme rurale, en plus du rehaussement des autres indicateurs des secteurs sociaux de base il serait nécessaire d'établir une planification rigoureuse des infrastructures hydrauliques, un renforcement du maillage et un assainissement des eaux usées ou pluviales. En effet le nombre des greniers détenus par les ménages ne sont pas toujours proportionnels au nombre des champs sauf le cas exceptionnel d'un seul ménage qui possède 8 greniers et 6 champs à la fois, mais la majeure partie de 62% des ménages ne disposent que d'un seul grenier malgré l'effectif variable du nombre des champs (1 à 6). L'agriculture reste l'activité principale, elle se suit par l'élevage d'où la vocation agricole de cette région. Aussi l'exode demeure une activité non négligeable parce qu'elle touche tous les actifs agricoles et génère des revenus conséquents pour la région. Ainsi les pratiquants de l'exode vont dans l'objectif de trouver les moyens de s'approvisionner le complément alimentaire et les moyens de se marier ou d'entretenir sa famille. La région de Tahoua est réputée dans l'exode rural (Tchin Rani), la veille de la campagne agricole est surnommée 'fatan bakoye' qui signifie le 7<sup>ème</sup> mois ou le mois de la reprise de la campagne agricole. C'est le mois de référence pour le retour d'exode même en cas d'exode prolongé. La pratique d'exode est encrée dans les mœurs; parce que même en année de campagne agricole normale, les jeunes quittent le village pour les centres villes et les pays limitrophes du Niger. Malgré son côté positif dans la lutte contre la pauvreté et l'insécurité alimentaire des ménages, cette pratique a fait beaucoup de victimes dans les sociétés de la région dont les abandons des femmes et enfants pendant des années, l'introduction des nouvelles maladies comme le sida en milieu rural. L'exode devient alors un comportement sociologique, une norme où seuls les plus âgés échappent après avoir déjà connu l'expérience. Cette situation a accentué le travail des femmes et surtout des enfants dans cette région. En effet, les femmes qui dirigent les ménages représentent 13% de l'échantillon. Il existe «une disparité des mécanismes pouvant amener une femme à diriger le ménage sont la coutume, le veuvage, le divorce, la séparation, la polygamie et les migrations» [1]. Dans cette région

de Tahoua, les femmes deviennent cheffes de ménage par suite d'un veuvage (9,5%), d'une séparation (0,2%), d'un divorce (1%) et d'une migration prolongée ou exode durable de l'épouse (2,9%).

## Conclusion

La maîtrise de la croissance démographique reste un déficit majeur pour vaincre l'insécurité alimentaire et la pauvreté des ménages dans la région de Tahoua. En effet, cette région a le plus grand taux de croissance naturel (4,6%) et dépasse largement le taux national pour le Niger qui se chiffre à 3,9% malgré son augmentation de 0,6% par rapport à celui de 2001. Il ressort aussi que tous les indicateurs sociaux sont faibles voire très faibles. Par exemple les taux de scolarisation n'est que de 29%, de couverture en eau potable à 13,5%, d'accès à un logement 32% et d'accès aux cases de santé est de 53%. Le niveau d'instruction de cette région est globalement faible, une politique éducative s'impose pour sortir cette population de l'analphabétisme et la déscolarisation des jeunes qui constituent un véritable frein au développement socio-économique de cette région. La déperdition scolaire s'accroît avec les cas d'abandon des élèves en pleine année scolaire qui pendant la période de soudure les familles se déplacent avec les enfants scolarisés pour un autre horizon à la recherche des vivres. L'agriculture n'occupe les ménages que pendant 4 mois sur les 12 de l'année après tous les bras valides se donnent à l'exode et laissent la plupart des femmes et des enfants dans les villages sans vivres suffisants. Les activités rurales sont très mal réparties au sein des ménages et précisément entre les femmes et les hommes. La faible fréquentation des centres de santé par les ménages aggrave leur situation sanitaires et les rendent plus vulnérables à la pauvreté et aux maladies. Pour lutter efficacement contre ce fléau de pauvreté en milieu rural dans la région de Tahoua, le politique et les communautés doivent s'investir dans l'augmentation des infrastructures sociales de base (seuls 7% des ménages confirment la fréquentation scolaire) et les ménages n'ont pas accès aux gros centres de soins plus ou moins équipés (CSI, PMI et CHR); dans la réduction de l'inégalité entre homme et femme par une valorisation des activités économiques des femmes non rémunérées accomplies dans des conditions déplorables (corvées de l'eau, du bois, ...); et dans la lutte contre ce nouveau phénomène des sans emplois en milieu rural (33% des ménages) par la création des emplois adaptable et bénéfique pour ce milieu rural dégradé. Puis nous suggérons aussi la mise en œuvre des programmes intégrés de développement agricole pour lutter contre l'insécurité alimentaire et booster la croissance économique de la région.

## Références bibliographiques

- [1].- Kabeer, N., 2005.- Intégration de la dimension genre à la lutte contre la pauvreté et objectifs du millénaire pour le développement. Manuel à l'intention des instances de décision et d'intervention; les presses de l'Université de Laval, L'Harmattan, CRDI, collection Nord-sud, 306 p.
- [2].- Institut National des Statistiques du Niger, 2008.- Enquête Nationale sur le Budget et Consommation. Institut National des statistiques du Niger, 45 p.
- [3].- Institut National des Statistiques du Niger, 2010.- Annuaire statistiques des cinquante ans de l'indépendance du Niger. Edition spéciale, Novembre 2010, 338 p.

- [4].- Boureima A. G., 2010.- Crises alimentaires en Afrique sahélienne - les réponses paysannes. Préface du Pr. C. Coquery-Vidrovitch, les éditions du Flamboyant, ISBN 978-99919-59-58-0, 210 p.
- [5].- Guengant J. P. et Banoïn M., 2003.- Dynamique des populations, disponibilités en terres et adaptation des régimes fonciers: le cas du Niger. Institut de Recherche pour le Développement (IRD) et Faculté d'Agronomie de l'Université Abdou Moumouni, FAO et CICRED, 144 p.
- [6].- Plan de Développement Economique et Social (PDES) de la région de Tahoua, 2012.- Bilan diagnostique régional. Direction Régionale du Développement Communautaire de Tahoua 2012-2015, Tahoua avril 2012.
- [7].- Angelo B., 2007.- La Nourriture des pauvres: comment les collectivités locales peuvent-elles réduire l'insécurité alimentaire en Afrique ? Fonds d'Equipeement des Nations Unies Développement Local, ISBN: 978-92-1-226020-4, 136 p.
- [8].- Diarra M., 2010.- Capitalisation genre: Projet pilote de sécurisation foncière à l'échelle du village de Dan Saga, dans le département d'Aguié; 35 p. en ligne. [http://www.ifad.org/english/land/women\\_land/WomenAndLand\\_Niger\\_Report\\_French.pdf](http://www.ifad.org/english/land/women_land/WomenAndLand_Niger_Report_French.pdf) consulté le 26 février 2013.

## **Planomonospora sp. PM18: ISOLATION AND TAXONOMY OF NEW ACTINOBACTERIAL STRAIN ISOLATED FROM ALGERIAN SAHARAN SOIL**

CHAABANE CHAOUCH Fawzia<sup>1</sup>, BOUZNADA Khaoula<sup>1</sup>, BOURAS Nouredine<sup>1,2\*</sup>,  
TATA Samira<sup>1</sup>, MEKLAT Atika<sup>1,3</sup>, MOKRANE Salim<sup>1</sup>, LAMARI Lynda<sup>1</sup>, KEMASSI  
Abdellah<sup>2,4</sup>, MATHIEU Florence<sup>5</sup> and SABAOU Nasseridine<sup>1</sup>

<sup>(1)</sup>Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM)

Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algeria

<sup>(2)</sup>Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre  
Université de Ghardaïa, BP 455, Ghardaïa 47000, Algeria

<sup>(3)</sup>Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Université Saâd Dahleb, Blida, Algeria

<sup>(4)</sup>Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides  
Université Kasdi Merbah Ouargla, 30000 Ouargla, Algeria

<sup>(5)</sup>Université de Toulouse, Laboratoire de Génie Chimique (LGC), UMR 5503 (CNRS/INPT/UPS)  
INP de Toulouse/ENSAT, 1 Avenue de l'Agrobiopôle, Castanet-Tolosan cedex, France

E-mail: noureddine\_bouras@yahoo.fr

**Abstract.-** An actinobacterial strain, designated PM18, was isolated from a Saharan soil sample by agar plate dilution method on chitin-vitamin agar supplemented with polymyxin after pretreatment of the soil sample at 120°C (dry heat) for 1 h. The taxonomic status of this strain was determined basis on morphological and physiological characteristics and phylogenetic analysis based on the 16S rRNA gene sequence. Strain PM18 developed an extensively branched and non-fragmented substrate mycelium. The isolate was characterized by the presence of cylindrical monosporous sporangia, which were produced only on the aerial mycelium. Sporangia were arranged closely in parallel double rows. The monosporous sporangia were motile. The morphological features of this isolate corresponded to those of members of the genus *Planomonospora*. Furthermore, phylogenetic analysis based on the 16S rRNA gene sequence revealed that strain PM18 is a member of the genus *Planomonospora*. The 16S rRNA gene sequence similarity showed that this strain was most closely related to *Planomonospora sphaerica* JCM 9374<sup>T</sup> (99.2%) and *Planomonospora parontospora* subsp. *antibiotica* JCM 3094<sup>T</sup> (98.8%). Based on phenotypic differences and the separate position of strain PM18 in the phylogenetic tree, this strain may be a representative of a putative novel species in the genus *Planomonospora*.

**Key words:** *Planomonospora*, Actinobacteria, taxonomy, Saharan soil, Microbial diversity.

## **Planomonospora sp. PM18: ISOLEMENT ET TAXONOMIE D'UNE NOUVELLE SOUCHE D'ACTINOBACTÉRIE ISOLÉE DU SOL SAHARIEN ALGÉRIEN**

**Résumé.-** Une souche d'actinobactérie, désignée PM18, est isolée d'un échantillon de sol saharien par la méthode de suspensions-dilutions sur milieu chitine-vitamines agar additionné de polymyxine, après un prétraitement de l'échantillon de sol à 120°C (chaleur sèche) pendant 1 h. La position taxonomique de cette souche est déterminée sur la base des caractéristiques morphologiques et physiologiques, ainsi que sur l'analyse phylogénétique après séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S. La souche PM18 produit un mycélium du substrat ramifié et non fragmenté et un mycélium aérien portant des sporanges cylindriques monosporés disposés en une double rangée parallèle. Les sporangiospores sont mobiles. Les caractéristiques morphologiques de cette souche correspondent à ceux des membres du genre *Planomonospora*. L'appartenance à ce genre a été confirmée par l'analyse phylogénétique. L'alignement de la séquence de la souche PM18 a montré un pourcentage de similarité de 99,2% avec *Planomonospora sphaerica* JCM 9374<sup>T</sup> et 98,8% avec *Planomonospora parontospora* sous espèce *antibiotica* JCM 3094<sup>T</sup>. En se basant sur les

*différences phénotypiques et sur sa position distincte dans l'arbre phylogénétique, la souche PM18 pourrait être une nouvelle espèce du genre Planomonospora.*

**Mots clés:** *Planomonospora, Actinobactéries, taxonomie, sol saharien, diversité microbienne.*

## Introduction

Research isolating rare actinobacterial genera from Saharan soils is based on the assumption that samples from widely diverse locations are more likely to yield novel microorganisms and therefore, hopefully, novel secondary metabolites as a result of the geographical (eco-pedological) variation. Besides, this approach is helpful in discovering new actinobacterial species which produce a wide range of bioactive substances from Saharan soils [1-5].

*Planomonospora* is a Gram positive and not acid fast genus in the family *Streptosporangiaceae* that forms cylindrical to clavate sporangium, which contains a single motile sporangiospore on the aerial mycelium [6]. Substrate and aerial mycelia develop on various agar culture media. Substrate mycelia (0.6-1.0  $\mu\text{m}$  in diameter) of *Planomonospora* strains are irregularly branched, occasionally septate, and non-fragmenting. Aerial mycelia (0.4-1.1  $\mu\text{m}$  in diameter) are sparsely branched and rarely septate. Cylindrical to clavate sporangia (0.9-1.5  $\mu\text{m}$  wide  $\times$  3.5-5.5  $\mu\text{m}$  long), each containing a single spore, are formed only on the aerial mycelium [7]. Generally, the isolated *Planomonospora* strains are chemoorganotrophic, aerobic and mesophilic microorganisms (grows well between 28 and 37°C). Usually, the colonies of *Planomonospora* strains grown on complex agar media are raised or flat with rugose or smooth surface. The color of substrate mycelium is either rose to light orange or brown-violet to light brown. The aerial mycelium is white with a rose or grayish white. The peptidoglycan of the cell walls contains *meso*-diaminopimelic acid (*meso*-DAP), and madurose is the characteristic sugar of whole-cell hydrolysates.

The name *Planomonospora* is derived from ancient Greek: *Planos* meaning wanderer (or vagabond), *monos* meaning solitary (single), and *spora* meaning a spore (a seed). The name therefore describes a motile, single organism with a single endospore.

At the time of writing, the genus *Planomonospora* still comprised only six species (including two sub-species) with validly published names: *Planomonospora parontospora* subsp. *parontospora*, *Planomonospora parontospora* subsp. *antibiotica*, *Planomonospora venezuelensis*, *Planomonospora sphaerica*, *Planomonospora alba*, *Planomonospora corallina* and recently *Planomonospora algeriensis* as described by CHAABANE CHAOUCH *et al.* (2016) [8].

As far as we are aware, no reports are available on the diversity and the characteristics of the members of *Planomonospora* in Saharan soils. The current study was designed to describe the isolation, the taxonomic position of a new actinobacterium, strain PM18, belonging to the genus *Planomonospora* isolated from Algerian Saharan soil.

## 1. - Materials and methods

### 1.1. - Isolation of the actinobacterial strain

Three non-rhizospheric Saharan soil samples (5–20 cm of depth) were collected aseptically from Béni-Abbès (Béchar, Saoura region, South-West Algeria). The samples were placed in sterile polyethylene bags, closed tightly and stored at 4°C until analysis. The soil samples were air-dried at room temperature for 10 days before being baked at 120°C for 1 h [9]. The soil was then suspended in sterile distilled water, serially diluted and spread-plated on chitin-vitamin B agar medium [10] supplemented with polymyxin and/or penicillin each at 25 mg l<sup>-1</sup>. The plates were incubated at 30°C for 28 days, and all colonies were examined directly by light microscopy to detect the *Planomonospora*-like isolates.

### 1.2. - Cultural and morphological characteristics of strain PM18

Morphological properties were observed by light microscopy (Model B1, Motic) using cultures grown on various International *Streptomyces* Project media (ISP 2, ISP 3, ISP 4, ISP 6 and ISP 7) [11], Glucose-Asparagine Agar [11], HTA: Hickey-Tresner-Agar [12] and Bennett's medium [13] at 30°C for 14 days. The color of substrate and aerial mycelia was recorded using ISCC–NBS color charts [14].

### 1.3. - Physiological characteristics of strain PM18

Production of melanoid pigments was tested on peptone yeast extract-iron agar (ISP 6) and tyrosine agar (ISP 7) media [11]. Sensitivities to sodium chloride (0–4%) (w/v) and growth at 20, 30, 40 and 45°C and pH 4.0–12.0 were evaluated on HTA (Hickey-Tresner-Agar) medium. Other physiological characteristics, including utilization of sole carbon sources, decarboxylation of organic acids, degradation of adenine, aesculin, arbutin, casein, cellulose, gelatin, guanine, hypoxanthine, starch, Tween 80, tyrosine and xanthine, reduction of nitrate, milk peptonization and milk coagulation, were assessed by the media and methods of GORDON *et al.* (1974) and WILLIAMS *et al.* (1989) [15, 16].

### 1.4. - DNA extraction, PCR amplification and 16S rRNA gene sequencing

The strain PM18 was grown at 30°C for 4 days with agitation (250 rpm) in a 500 ml flask containing 100 mL of ISP 2 medium. Biomass was harvested by centrifugation (8,000 rpm for 10 min) and washed twice with double-distilled water. The 16S rRNA was amplified by PCR using an Invitrogen kit and two universal primers: 27f (5'–AGAGTTT GATCCTGGCTCAG–3') and 1492r (5'–GGTTACCTTGTT ACGACTT–3'). The PCR amplification was conducted using a thermocycler (STRATAGENE RoboCycler Gradient 96) in 50 µl containing 1.25 U of *Taq* DNA polymerase, 1 µl (500 ng) of purified DNA, 1 × PCR buffer (10 mM of Tris–HCl, 50 mmol of KCl, pH 9.0 at 25°C), 1.5 mmol of MgCl<sub>2</sub>, 200 µmol of each dNTP and 1 µmol of each primer. Reaction conditions were: 97°C for 4 min, followed by 35 cycles of 97°C for 45 s, 52°C for 45 s, and 72°C for 45 s, with a final elongation step at 72°C for 10 min. The amplified products were visualized on a 0.8% (w/v) agarose gel by ultraviolet (UV) fluorescence after ethidium bromide staining. PCR products were purified with a PCR product purification kit (Qiagen, Hilden, Germany). The PCR products were sequenced using the same primers as above on an automated sequencer (model 3130 Genetic Analyzer; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)

using a Big Dye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), according to the manufacturer's instructions.

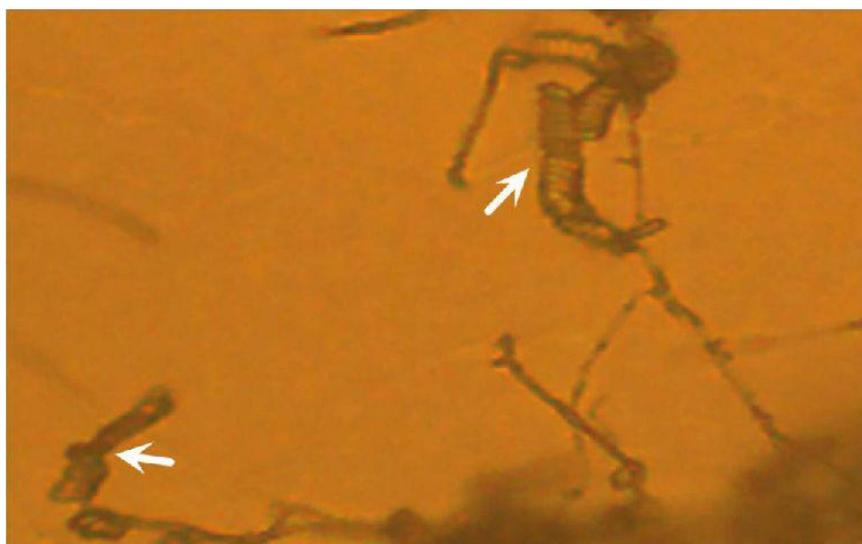
### 1.5. - Phylogenetic analysis

The identification of phylogenetic neighbors and calculation of pairwise 16S rRNA gene sequence similarity were achieved using the EzTaxon-e server (<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>) [17], a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S rRNA gene sequences from type strains. Multiple alignments with sequences from closely related species were performed by using the program CLUSTAL W (with default parameters) in MEGA version 6 [18]. Evolutionary distance was generated as described by Jukes and Cantor [19] and a phylogenetic tree was inferred by the neighbor-joining method [20]. Tree topologies were evaluated by bootstrap analysis [21], based on 1000 re-samplings of the neighbor-joining dataset.

## 2. - Results and discussion

In total, 14 actinobacterial *Planomonospora*-like isolates were harvested from Saharan soil samples collected in Béni-Abbès, Béchar, Saoura region, South-West Algeria (GPS coordinates 30° 08' N and 02° 10' W). Among them one strain, designated PM18, was isolated on chitin-vitamins agar medium supplemented by polymyxin (cyclic peptide antibiotic inhibits mainly Gram-negative bacteria) as a selective agent from a soil sample that was previously baked at 120°C for 1 h.

Strain *Planomonospora* sp. PM18 showed good growth on Hickey-Tresner agar (HTA) and Bennett's agar media, moderate growth on ISP 3, ISP 4 and ISP 7 and little growth on ISP 2 and Glucose-Asparagine Agar, but no growth occurred on ISP 6 medium. Strain PM18 forms an extensively branched and non-fragmented substrate mycelium which was orange on ISP 2 and ISP 3, pink-orange on ISP 4 and beige on ISP 7, Glucose-Asparagine Agar, Hickey-Tresner agar and Bennett's agar media. It produces scanty white aerial mycelia on ISP 3, ISP 4, Glucose-Asparagine Agar, Hickey-Tresner agar and Bennett's agar with cylindrical sporangia arranged in double parallel rows (Figure 1).



**Figure 1.-** Micromorphology with light microscopy of strain PM18 grown on Hickey-Tresner agar (HTA) medium for two weeks at 30°C. The arrows indicate the sporangia.

Each one contains a single motile sporangiospore. No spherical bodies were produced on the aerial mycelia on ISP 4 medium. No diffusible pigments or melanoid pigments were observed on any media tested. The cultural characteristics of strain *Planomonospora* sp. PM18 are summarized in Table I.

**Table I.-** Macromorphological characteristics of strain PM18 on different media after 14 days of incubation (+: weak, ++: moderate, +++: well, -: no one)

Agar medium	Growth	Production and color of:	
		Aerial mycelium	Substrate mycelium
ISP 2	+	-	Orange
ISP 3	++	+ white	Orange
ISP 4	++	+ white	Pink-orange
ISP 6	-	-	-
SP 7	++	-	Beige
GAA	+	+ white	Pale beige
HTA	+++	+ white	Beige

With regard to physiological characteristics, strain PM18 could utilize L-arabinose, D-cellobiose, D-galactose, D-glucose, maltose, D-mannitol, D-mannose, L-rhamnase, salicin, trehalose, D-xylose, sodium acetate, sodium butyrate, sodium lactate, sodium pyruvate and sodium succinate as sole carbon source, but not adonitol, cellulose, D-fructose, glycerol, *myo*-inositol, lactose, melezitose, melibiose,  $\alpha$ -Methyl-D-glucoside, raffinose, D-ribose, sorbitol, sucrose and sodium salts of the following organic acids: benzoate, citrate, oxalate, propionate and tartrate. It is positive for milk peptonization, nitrate reduction and decomposition of aesculin, arbutin, casein, gelatin, starch, L-tyrosine and Tween 80, but negative for milk coagulation and decomposition of adenine, hypoxanthine and xanthine.

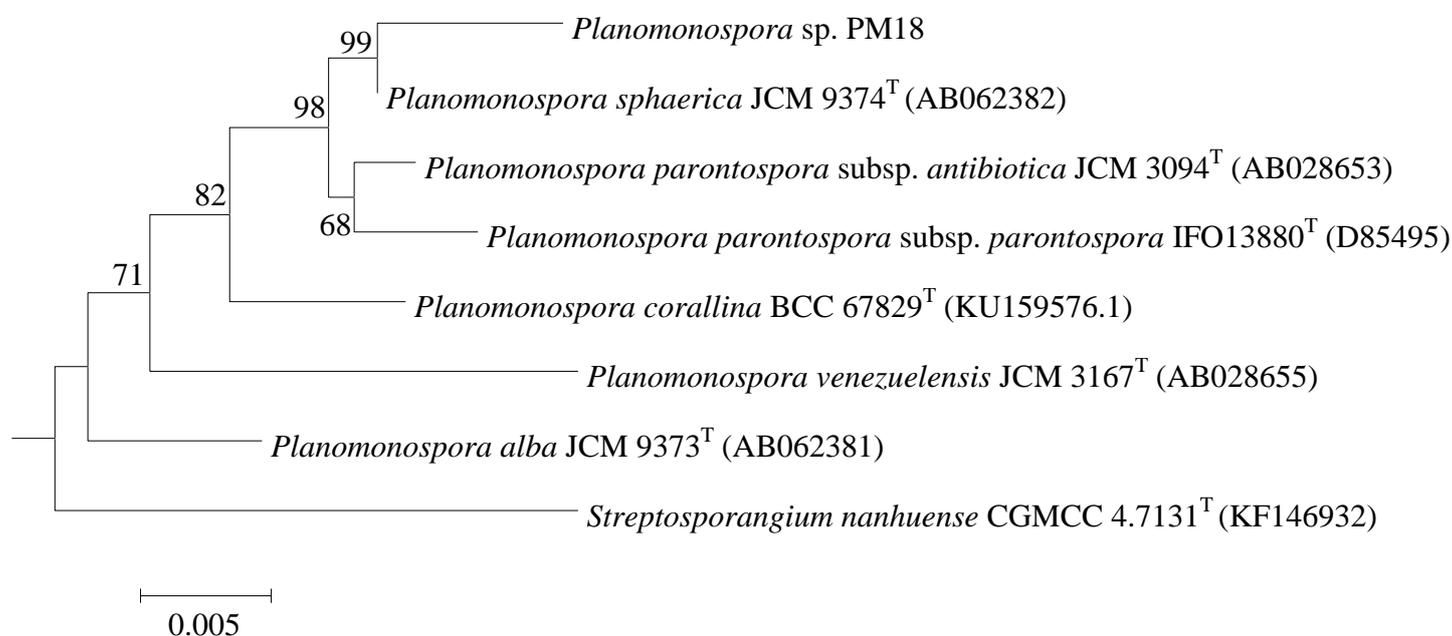
Strain PM18 grew between 20-45°C, pH 5.0-11.0 and in the presence of 0-1% (w/v) NaCl. Table II shows the results of physiological tests of strain PM18 in comparison with the most closely related species *Planomonospora sphaerica* DSM 44632<sup>T</sup>.

**Table II.-** Physiological characteristics of strain PM18 compared with the most closely related species *Planomonospora sphaerica* DSM 44632<sup>T</sup> (1: strain PM18; 2: *Planomonospora sphaerica* DSM 44632<sup>T</sup>; +: Positive reaction; -: negative reaction; ND: not determined; \*: Data from Mertz [22])

Characteristics	1	2*	Characteristics	1	2
<i>Growth on sole carbon sources</i>			Citrate	-	-
Adonitol	-	-	Lactate	+	+
L-Arabinose	+	+	Oxalate	-	-
D-Cellobiose	+	+	Propionate	-	-
Cellulose	-	-	Pyruvate	+	+
D-Fructose	-	+	Succinate	+	-
D-Galactose	+	+	Tartrate	-	-
D-Glucose	+	+	<i>Decomposition of:</i>		
Glycerol	-	-	Aesculin	+	-
<i>Myo</i> -Inositol	-	-	Adenine	-	-
Lactose	-	-	Arbutin	+	ND
Maltose	+	+	Casein	+	+
D-Mannitol	+	+	Gelatin	+	+

D-Mannose	+	+	Hypoxanthine	-	-
Melezitose	-	-	Starch	+	+
Melibiose	-	-	L-Tyrosine	+	+
$\alpha$ -Methyl-D-glucoside	-	-	Xanthine	-	-
L-Rhamnose	+	+	Tween 80	+	ND
Raffinose	-	-	Milk coagulation	-	ND
D-Ribose	-	-	Milk peptonization	+	ND
Salicin	+	+	pH range	5-11	ND
Sorbitol	-	-	Nitrate reduction	+	+
Sucrose	-	+	Growth at 45°C	+	-
Trehalose	+	+	Growth at 2% NaCl (w/v)	-	+
D-Xylose	+	+			
<i>Decarboxylation of sodium</i>					
Acetate	+	+			
Benzoate	-	-			
Butyrate	+	+			

The almost-complete 16S rRNA gene sequence (1461 nt) of strain PM18 was determined. EzTaxon-e analysis of the 16S rRNA gene sequence confirmed that strain PM18 belonged to the genus *Planomonospora*. The 16S rRNA sequence of strain *Planomonospora* sp. PM18 exhibited the highest similarities, 99.23% with *Planomonospora sphaerica* JCM 9374<sup>T</sup> and 98.81% with *Planomonospora parontospora* subsp. *antibiotica* JCM 3094<sup>T</sup>. A phylogenetic tree was constructed based on 16S rRNA gene sequences to show the comparative relationship between strain *Planomonospora* sp. PM18 and other *Planomonospora* species (fig. 2). The phylogenetic tree based on the neighbor-joining algorithm showed that strain *Planomonospora* sp. PM18 lies in a clade with its closest neighbor *P. sphaerica* JCM 9374<sup>T</sup> at a bootstrap value of 99%.



**Figure 2.-** Neighbor-joining tree [18] (based on almost-complete 16S rRNA gene sequences showing the position of strain *Planomonospora* sp. PM18 amongst its phylogenetic neighbors. *Streptosporangium nanhuense* CGMCC 4.7131<sup>T</sup> was used as an outgroup. Numbers at nodes indicate levels of bootstrap support (%); only values  $\geq 50\%$  are shown. GenBank accession numbers are given in parentheses. Bar, 0.005 substitutions per site.

Besides of the separate position of strain PM18 in the phylogenetic tree, it differs with *Planomonospora sphaerica* JCM 9374<sup>T</sup> in a number of morphologic characteristics such as the absence of the spherical bodies and physiologic features (tab. II). Hence, it is clear that this strain may be a new species of *Planomonospora*. Still, DNA/DNA hybridization experiments and chemotaxonomic analysis need to be performed to confirm this separate taxonomic status.

It is evident from this current research that rare actinobacteria from Algerian Saharan soils notably *Planomonospora* strains may be an excellent source of novel taxa.

## References

- [1].- Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H-P., Sabaou N., 2013.- *Actinopolyspora mzabensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from an Algerian Saharan soil. International Journal of Systematic Evolutionary and Microbiology, 63: 3787-3792.
- [2].- Saker R., Bouras N., Zitouni A., Ghouli M., Rhode M., Schumann P., Spröer C., Sabaou N., Klenk, H. P., 2014.- *Mzabimyces algeriensis* gen. nov., sp. nov., a halophilic filamentous actinobacterium isolated from a Saharan soil, and proposal of *Mzabimycetaceae* fam. nov. Antonie van leeuwenhoek, 106: 1021-1030.
- [3].- Bouras N., Meklat A., Zitouni A., Mathieu F., Schumann P., Spröer C., Sabaou N., Klenk, H-P., 2015.- *Nocardiopsis algeriensis* sp. nov., an alkalitolerant actinomycete isolated from Saharan soil. Antonie van leeuwenhoek, 107: 313-320.
- [4].- Bouznada K., Bouras N., Schumann P., Spröer C., Sabaou N., Klenk H-P, 2016.- *Actinophytocola algeriensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from Saharan soil. International Journal of Systematic Evolutionary and Microbiology, 63: 2760-2765.
- [5].- Chaabane Chaouch F., Bouras N., Mokrane S., Zitouni A., Schumann P., Spröer C., Sabaou N., Klenk H-P, 2016.- *Streptosporangium saharense* sp. nov., an actinobacterium isolated from Saharan soil. Journal of Systematic Evolutionary and Microbiology, 66:1371-1376.
- [6].- Vobis G., Lodders N., Kämpfer P., 2012.- Genus Viii. *Planomonospora*. In Whitman W.B., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.J., Trujillo M.E., Ludwig W., Suzuki K., Parte A. (eds). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edn, vol. 5. Springer, New York, pp 1811-1873.
- [7].- Thiemann J.E., Pagani H., Beretta G, 1967.- A new genus of the *Actinoplanaceae*: *Planomonospora*, gen. nov. Giornale Di Microbiologia, 15, 27-38
- [8].- Chaabane Chaouch F., Bouras N., Mokrane S., Bouznada K., Zitouni A., Pötter G., Spröer C., Klenk H-P., Sabaou N., 2016.- *Planomonospora algeriensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from a Saharan soil of Algeria. Antonie van leeuwenhoek, In Press.
- [9].- Hayakawa M., Sadakata T., Kajiura T., Nonomura H., 1991.- New methods for the highly selective isolation of *Micromonospora* and *Microbispora* from soil. Journal of

Fermentation and Bioengineering, 72, 320–326.

- [10].- Hayakawa M., Nonomura H. 1987.- Humic acid–vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *Journal of Fermentation Technology*, 65:501-509.
- [11].- Shirling, E.B., Gottlieb, D., 1966.- Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16: 313-340.
- [12].- Hickey R.J., Tresner H.D., 1952.- A cobalt containing medium for sporulation of *Streptomyces* species. *Journal of Bacteriology*, 64:891-892.
- [13].- Warren H.B., Prokop J.F., Grundy W.E. 1955.- Non synthetic media for antibiotic producing actinomycetes. *Antibiotics and Chemotherapy*, 5, 6-12.
- [14].- Kelly K.L., Judd D.B. 1976.- Color. Universal Language and Dictionary of Names (National Bureau of Standards Special Publication 440). US Department of Commerce, Washington DC, p. 196.
- [15].- Gordon R.E., Barnett D.A., Handerhan J.E., Pang, C.H.N. 1974.- *Nocardia coeliaca*, *Nocardia autotrophica*, and the nocardin strain. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 24: 54-63.
- [16].- Williams S.T., Goodfellow M., Alderson G. 1989.- Genus *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339<sup>AL</sup>. In: Williams St, Sharpe Me, Holt Jg (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1961., vol. 4. Williams and Wilkins, Baltimore: 2452-2492.
- [17].- Kim O.S., Cho Y.J., Lee K., Yoon S.H., Kim M., Na H., Park S.C., Jeon Y.S., Lee J.H. and other authors. 2012.- Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *International Journal of Systematic Evolutionary and Microbiology*, 62: 716-721.
- [18].- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., 2013.- MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- [19].- Jukes T.H., Cantor C.R., 1969.- Evolution of protein molecules. In: Munro HN (ed) *Mammalian Protein Metabolism*, vol. 3. Academic Press, New York: 21-132.
- [20].- Saitou N., Nei M., 1987.- The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- [21].- Felsenstein J. 1985.- Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783-791.
- [22].- Mertz F.P., 1994.- *Planomonospora alba* sp. nov. and *Planomonospora sphaerica* sp. nov., two new species isolated from soil by baiting techniques. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44: 274-281.

## COMPARAISON DE L'ACTIVITE PROTEASIQUE DES SOUCHES DE *Bacillus thuringiensis* STRAINS

SELLAMI Sameh\*, ABDELKEFI-MESRATI Lobna, TOUNSI Slim, KAIS Jamoussi  
 Centre de Biotechnologie de Sfax, Laboratoire de Protection et d'Amélioration  
 des Plantes Equipe des Biopesticides, Sfax, Tunisie  
 E-mail: sellamisameh@gmail.com

**Résumé.**- Au cours de ce travail, il est réalisé un criblage parmi 4 souches réceptrices de *B. thuringiensis* visant la souche la moins productrice en enzymes protéolytiques. Il est noté que l'activité protéolytique des sous espèces israelensis 14T et 4Q7 après 48h, est d'une valeur de 165.9 UI et de 138.08 UI, respectivement, alors que celle pour les sous espèces kurstaki HD1cryB et BUPM95 est de 95.36 UI et de 400.62 UI, respectivement. Ainsi, il est choisi les souches HD1cryB et 4Q7 comme cellules hôtes pour le plasmide pHT-Blue-vip3Aa16. La vérification de l'électroporation des souches recombinantes de *B. thuringiensis* est réalisée par amplification PCR puisqu'il est retrouvé une bande de 820 pb reconnue au niveau du gène vip3Aa16. La synthèse de la protéine Vip3Aa16 à partir des souches recombinantes HD1cryB (pHT-Blue-vip3Aa16) et 4Q7 (pHT-Blue-vip3Aa16) a démontré que les protéases qu'héberge HD1cryB n'ont pas influé le taux d'expression de la protéine Vip3Aa16. La souche HD1cryB de *B. thuringiensis* pourrait être une souche réceptrice très adéquate.

**Mots clés:** *B. thuringiensis*, protéases, expression.

## COMPARISON OF THE PROTEOLYTIC ACTIVITIES OF *Bacillus thuringiensis* STRAINS

**Abstract.**- During this work, a screening among 4 receiving host cells of *B. thuringiensis* was realized in order to distinguish the least producing proteolytic enzymes strain. We found that the proteolytic activity of the *B. thuringiensis* subspecies israelensis 14T and 4Q7 after 48 hours is about 165.9 IU and at 138.08 IU, respectively. While the *B. thuringiensis* subspecies kurstaki HD1cryB and the cured BUPM95 is about 95.36 IU and 400.62 IU, respectively. Therefore, HD1cryB and 4Q7 were chosen as hosts cells for the pHT-Blue-vip3Aa16 plasmid. The electroporation of *B. thuringiensis* strains was verified via the PCR amplification since a band of 820 pb corresponding to the vip3Aa16 gene was detected. The synthesis of the protein Vip3Aa16 from the recombinant strains HD1cryB (pHT-Blue-vip3Aa16) and 4Q7 (pHT-Blue-vip3Aa16) demonstrated that HD1cryB proteases did not affect the Vip3Aa16 expression rate. Thus, the *B. thuringiensis* HD1cryB could be a very suitable host strain.

**Key words:** *B. thuringiensis*, proteases, expression.

### Introduction

Durant plusieurs décennies, la lutte aux insectes nuisibles s'est faite par le biais des pesticides chimiques. Récemment, les communautés scientifiques ont été sensibilisées aux graves conséquences qu'entraînait l'usage de ces produits dangereux tels que l'accumulation de substances chimiques dans les sols et les eaux [1]. De ce fait, une alternative plus viable pour l'environnement s'est recherchée, ainsi se fut l'apparition de *B. thuringiensis*; la bactérie la plus utilisée en tant que biopesticide dans le monde entier [2].

*B. thuringiensis* est un bâtonnet, Gram-positif, aérobie produisant lors de la phase de sporulation des inclusions parasporales contenant des cristaux protéiques ou  $\delta$ -endotoxines, qui sont toxiques pour une variété d'insectes [3]. Pendant la phase végétative, *B. thuringiensis* secrète une autre classe de protéines insecticides, ce sont les protéines Vip (Vegetative Insecticidal Proteins) actifs sur plusieurs espèces d'insectes, parfois différents que ceux ciblés par les  $\delta$ -endotoxines [4, 5].

A part les  $\delta$ -endotoxines et les protéines Vip, *B. thuringiensis* synthétise également différents facteurs de virulence parmi lesquelles les chitinases, les protéases, les phospholipase C et les  $\beta$ -exotoxines [6]. La production des protéases par *B. thuringiensis* commence après la fin de la phase exponentielle et se poursuit durant la phase stationnaire. Ces enzymes sont thermostables et appartiennent essentiellement à la classe des métalloprotéases par rapport aux protéases alcalines et cystéiques. Par exemple, la sous-espèce *tenebrionis* et *kurstaki* produisent en majorité des métalloprotéases, alors que la sous-espèce *israelensis* produisent des protéases de nature alcaline [7]. La proportion de ces classes varie d'une sous-espèce à une autre. Il existe deux types de protéases : les protéases intracellulaires qui interviennent dans plusieurs processus cellulaires et métaboliques telles que la régulation du cycle cellulaire, la différenciation et la sporulation [8], et les protéases extracellulaires qui permettent à la bactérie d'hydrolyser les protéines dans les milieux de culture synthétiques ou complexes.

Les protéases produites par *B. thuringiensis* ont fait l'objet d'un nombre important de recherches depuis quelques années vu leurs importances dans l'industrie des enzymes, ainsi plusieurs optimisations ont été réalisées au niveau du procédé de production de *B. thuringiensis* et sa capacité à produire des enzymes protéolytiques. Au contraire, en biotechnologie, ces protéases présentent des limites puisqu'ils peuvent dégrader des protéines étrangères lors des expressions hétérologues [9].

Le présent projet de recherche vise à chercher parmi 4 souches de *B. thuringiensis*, la souche la moins productrice de protéases afin de l'utiliser comme souche hôte pour garantir une meilleure expression de la protéine insecticide Vip3Aa16.

## 1.- Matériel et Méthodes

### 1.1.- Souches Bactériennes, plasmides et Conditions de Culture

Les souches de *B. thuringiensis* HD1*cryB* et BUPM95 curée appartiennent à la sous espèce *kurstaki* et sont obtenues à partir du curage des souches sauvages HD1 et BUPM95, respectivement, alors que les souches 14T et 4Q7 de *B. thuringiensis*, sont classées sous la sous espèce *israelensis* [10, 11]. Toutes ces souches n'hébergent pas le gène *vip3Aa16* sauf la souche de *B. thuringiensis* sous espèce *kurstaki* BUPM95 [*vip3Aa16* (+)] utilisée comme contrôle positif.

Les souches de *B. thuringiensis* utilisées au cours de ce travail ont été cultivées dans le milieu LB et à 30°C [12]. La concentration de l'érythromycine utilisée pour la croissance des souches recombinantes de *B. thuringiensis* est de 50  $\mu$ g/ml [9].

Le plasmide pHT-Blue-*vip3Aa16* qui exprime la protéine Vip3Aa16 a été construit par MESRATI *et al.* (2005) [13].

## 1.2.- Cultures des souches de *Bacillus thuringiensis* :

La cinétique de croissance des souches de *B. thuringiensis* HD1cryB, BUPM95 curée, 14T, 4Q7 et BUPM95 ont été réalisées. Brièvement, des cultures de 50 ml de milieu LB liquide ont été inoculées avec des précultures qui correspondent aux différentes souches de *B. thuringiensis* à une DO initiale de 0.15 [12]. Ces cultures ont été effectuées dans un shaker à 30°C et sous agitation de 200 rpm. Par la suite, des prélèvements ont été réalisés au cours du temps et la DO à 600 nm a été mesurée afin de déterminer la cinétique de croissance de différentes souches de *B. thuringiensis*.

## 1.3.- Dosage de l'activité protéasique des souches de *Bacillus thuringiensis*

La mesure de l'activité protéolytique a été réalisée selon KEMBHAVI *et al.* (1993) [14] en présence d'une solution de caséine à 1% préparée dans le de Tris-HCl (0.1 mM) et à pH 7. Au début, les échantillons ont été centrifugés à 10.000 rpm pendant 10 minutes. Les surnageants obtenus ont été dilués dans une solution de Tris-HCl (0.1 mM) et additionnées à la caséine. Le mélange est incubé par la suite pendant 20 min et à 60°C. L'arrêt de la réaction se fait suite à l'ajout de 3 ml d'une solution d'acide trichloracétique préparée à 5% pendant 30 min. Après la centrifugation pendant 15 min, le surnageant obtenu est mesuré à 280 nm. Pour chaque échantillon, on prépare un blanc avec de l'enzyme inactivée à 100°C pendant 5min. Toutes les mesures ont été réalisées en triplicata. Une unité internationale d'enzyme est définie comme étant la quantité d'enzyme nécessaire pour la libération de 1 µg de tyrosine de la caséine par minute (1).

$$UI = \frac{DO * 5 * F}{(20 * 0.0055)} \quad (1)$$

5 ml: Volume final de la dilution

F: Facteur de dilution

20 min: temps de la réaction

0.0055: coefficient d'extinction de la tyrosine

## 1.4.- Electroporation de la souche de *B. thuringiensis* HD1cryB

Une culture de 50 ml de LB liquide est inoculée par une préculture de la souche HD1cryB et 4Q7, séparément, puis incubée à 30°C et sous une agitation de 200 rpm jusqu'à atteindre une valeur de DO 600 nm comprise entre 0,4 et 0,6. Après une incubation de 10 min dans la glace, cette culture est centrifugée pendant 10 min à 4000 rpm et à 4°C. Le culot est récupéré dans le tampon d'électroporation (400 mM sucrose, 1 mM MgCl<sub>2</sub>; 7 mM Tp phosphate-potassium; pH 8) puis incubé pendant 2 heures dans la glace. Les cellules compétentes sont mélangées, séparément, avec 1 µg d'ADN du vecteur recombinant pHT-*Blue-vip3Aa16* dans une cuve d'électroporation (BIORAD) pré-refroidie, puis soumise au choc électrique en utilisant «Gene Pulser» de BIORAD [13]. Ensuite, la suspension est diluée dans 1,2 ml de LB et incubée pendant 1 h à 30°C sous une agitation de 200 rpm, puis étalée sur un milieu sélectif LB-Em et incubés pendant une nuit à 30°C [9].

## 1.5.- Extraction d'ADN plasmidique et Amplification par PCR

Après avoir préparé les précultures des clones recombinants HD1cryB (pHT-*Blue-vip3Aa16*) et 4Q7 (pHT-*Blue-vip3Aa16*), procéder à l'extraction des ADN par minilysat

alcaline [12]. L'exactitude des clones recombinants a été réalisée par amplification PCR via les amorces V6 (TTCACCTGAATTCTACTTATTCTT) et V8 (GCTCTCCTGCAGATATTCTT) qui amplifient une région de 820 pb.

### 1.6.- Concentration des protéines par précipitation au TCA

Des échantillons de 10 ml des cultures totales des souches recombinantes de *B. thuringiensis* HD1cryB (pHT-Blue-vip3Aa16) et 4Q7 (pHT-Blue-vip3Aa16) et de la culture sauvage BUPM95 utilisée comme contrôle positif ont été prélevés puis centrifugés 10 min à 5000 rpm et à 4°C dans des tubes Falcon [9]. Ensuite, les surnageants ont été récupérés dans 1 ml de TCA 100% et incubés 30 min dans la glace dans le but de précipiter les protéines. Par la suite, les surnageants ont été centrifugés 20 min à 7000 rpm et à 4°C. Sur les culots récupérés, il est ajouté 200 µl du tampon de dépôt des protéines (1X), puis quelques microlitres de NaOH (5N) pour la neutralisation. Les échantillons de protéines précipitées sont solubilisés puis chauffés 5 min à 100°C pour compléter la dénaturation des protéines.

### 1.7.- Analyse des échantillons par Western blot

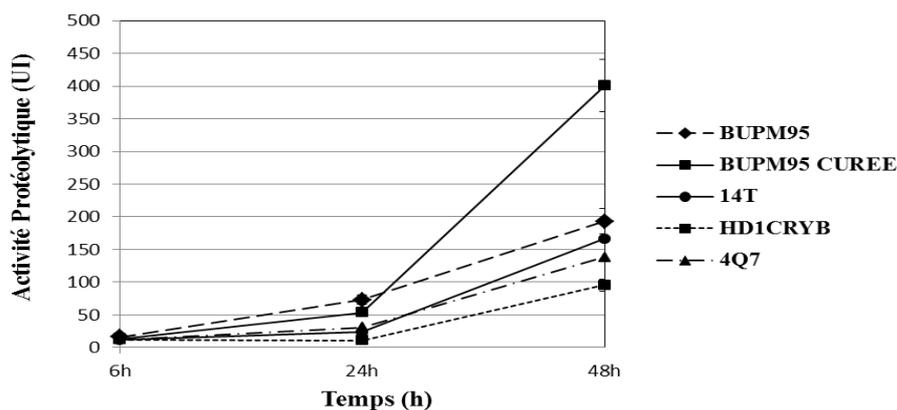
Les échantillons de protéines précipitées sont migrés au niveau d'un gel SDS-PAGE dont le pourcentage est de 9% [15]. Après l'électrophorèse, le gel est transféré sur une membrane "Hybond C+" comprise entre 2 papiers Wathman imbibés avec le tampon de transfert pendant 1 heure et sous un champ électrique de 15 V. Après le transfert, la membrane est lavée au PBS 1×, saturée avec la solution de saturation (PBS 1×, 4 % lait écrémé) pendant 30 mn à température ambiante et sous agitation, puis incubée avec l'anticorps anti-Vip3Aa16 pendant 2 h sous agitation et à température ambiante. Ensuite, la membrane est lavée 3 fois pendant 15 min dans le tampon (PBS 1×, lait écrémé 4 %) et hybridée avec l'anticorps anti-IgG de lapin couplé à la peroxydase (Biorad) pendant 1 h. La révélation se fait avec le kit ECL<sup>+</sup> selon les instructions du fournisseur (Amersham). Un film Kodak Biomax est exposé puis développé à l'obscurité [9].

## 2. -Résultats et discussion

### 2.1.- Détermination de l'activité protéolytique

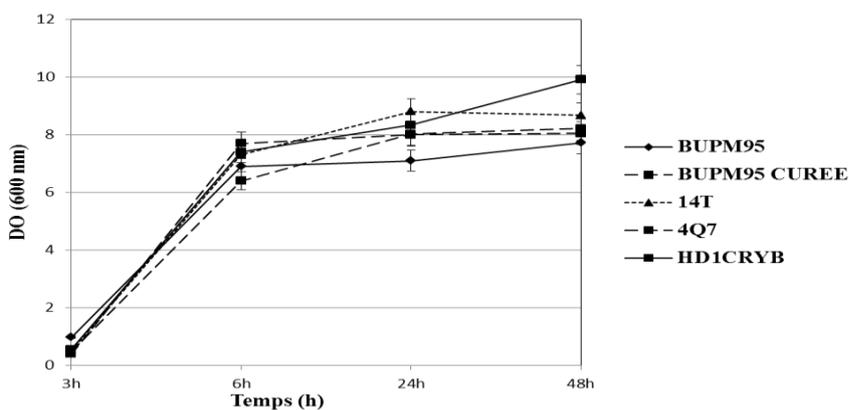
La plupart des souches de *B. thuringiensis* produisent des protéases nécessaires pour la synthèse des protéines nécessaires pour leurs croissances [16]. Cependant, ces protéases peuvent dégrader entre autres les protéines qui s'expriment à partir des plasmides recombinants. En effet, lors des manipulations génétiques de la souche entomopathogène *B. thuringiensis*, on assiste souvent à l'expression homologue et hétérologue de différents gènes codant pour des protéines insecticides afin d'améliorer le pouvoir insecticide des souches réceptrices [17]. Il est fixé comme objectif au cours de ce travail d'exprimer la protéine Vip3Aa16 dans une souche réceptrice de *B. thuringiensis* qui exprime le moins de protéases afin d'obtenir une meilleure synthèse de Vip3Aa16. Pour se faire, nous avons commencé au début par la mesure de l'activité protéolytique de 4 souches de *B. thuringiensis* BUPM95 curée, HD1cryB, 14T, et 4Q7 qui n'hébergent pas le gène *vip3Aa16* dans le but de choisir la souche la plus pauvre en protéases. La figure 1 montre que la souche BUPM95 curée qui est obtenue suite au curage plasmidique de la souche sauvage BUPM95, présente l'activité protéolytique la plus élevée de 400.62 UI après 48h et ceci par rapport à la souche contrôle BUPM95 présentant uniquement une valeur de

193.18 UI après 48h (fig. 1). Ce résultat est déjà confirmé par *DRISS et al.* qui a démontré que le curage plasmidique des souches sauvages de *B. thuringiensis* provoque l'augmentation de la synthèse des protéases [18]. Ceci suggère que la souche BUPM95 curée sera la souche la moins potentielle à être transformée. La figure 1 montre également que l'activité protéolytique de la souche 14T est de 165.9 UI après 48h. D'autre part, il est démontré que la souche HD1cryB présente l'activité protéolytique la plus basse de 95.36 UI après 48h, à son voisinage se trouve la souche 4Q7 avec une valeur de 138.08 UI après 48h. C'est pour cette raison qu'ils sont choisis ces deux souches comme cellules hôtes pour le plasmide pHT-*Blue-vip3Aa16*.



**Figure 1.-** Mesure de l'activité protéolytique des souches de *B. thuringiensis* BUPM95, BUPM95 curée, 14T, 4Q7 et HD1cryB

En parallèle de la mesure de l'activité protéolytique des différentes souches de *B. thuringiensis*, il est également réalisé le suivi de la croissance et démontré que la souche HD1cryB présente la croissance la plus rapide (fig. 2).

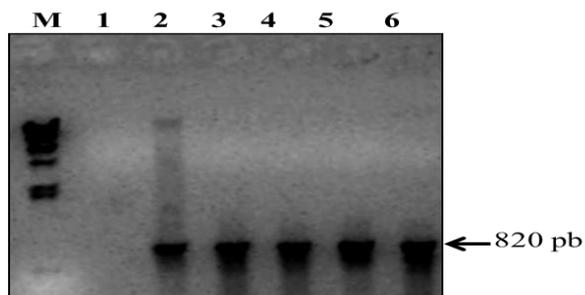


**Figure 2. -** Courbes de croissance des souches de *B. thuringiensis* BUPM95, BUPM95 curée, 14T, 4Q7 et HD1cryB

### 3.2.- Synthèse de Vip3Aa16 à partir de HD1cryB et 4Q7

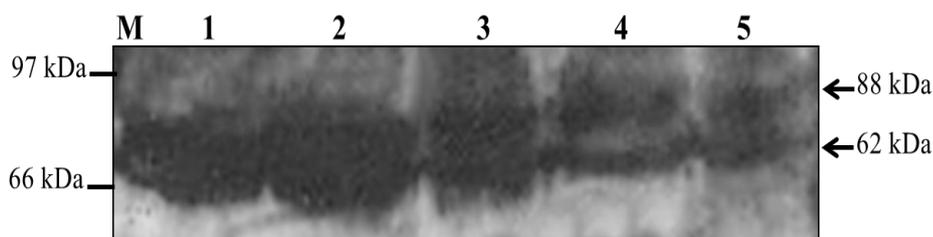
Afin de comparer la synthèse de la protéine Vip3Aa16 à partir du plasmide pHT-*Blue-vip3Aa16*, il est procédé à son transfert par électroporation aux souches HD1cryB et 4Q7. Ce transfert a été vérifié via des amplifications PCR en utilisant les amorces V6, V8

qui reconnaissent une région de 820 pb au niveau du gène *vip3Aa16*. La figure 3 montre la présence d'une amplification de 820 pb à partir de HD1*cryB* (pHT-*Blue-vip3Aa16*) et 4Q7 (pHT-*Blue-vip3Aa16*) par rapport au contrôle négatif qui ne présente aucune bande.



**Figure 3.-** Amplification par PCR via les amorces (V8 + V6) en utilisant l'ADN [2: BUPM95, 3: BUPM95 curée (clone 1), 4: BUPM95 curée (clone 2), 5: 4Q7 (clone 1), 6: 4Q7 (clone 2); M:  $\lambda$ /PstI (14,50; 5,07; 4,50; 2,83; 2,55; 2,45; 2,14; 1,98; 1,7; 1,15; 1,09; 0,80; 0,51; 0,46; 0,44; 0,33; 0,24 kb); 1: témoin sans ADN]

Par la suite, les souches recombinantes ont été cultivées dans le milieu LB et la production de Vip3Aa16 dans le milieu de culture a été analysée après 12 h de culture. L'autoradiogramme de la figure 4 laisse apparaître que le taux d'expression de la protéine Vip3Aa16 à partir de HD1*cryB* (pHT-*Blue-vip3Aa16*), est très élevé et il est comparable à celui de la souche sauvage BUPM95. Ce résultat témoigne que la souche HD1*cryB* pourrait être une souche réceptrice très adéquate et que les protéases qu'elle héberge et n'influe pas sur l'expression des protéines hétérogènes. La figure 4 montre également que cette expression est meilleure que celle réalisée à partir de 4Q7 (pHT-*Blue-vip3Aa16*), ce qui corrobore avec le taux d'activité protéolytique puisque la souche 4Q7 héberge plus de protéases que HD1*cryB*.



**Figure 4.-** Western-blot des extraits protéiques concentrés des surnageants de culture de 1: BUPM95, 2: BUPM95 curée (clone 1), 3: BUPM95 curée (clone 2), 4: 4Q7 (clone 1), 5: 4Q7 (clone 2); M: Marqueur LMW (97; 66; 45; 30; 20,1 kDa). Les flèches montrent la présence de la protéine entière Vip3Aa16 (88 kDa) et sa forme de protéolyse (62 kDa).

Dans ce même contexte, la souche HD1*cryB* a été également utilisée comme cellule hôte pour l'expression de plusieurs gènes de *B. thuringiensis* tels que l'expression du gène codant pour la protéine Cyt1Aa [19], Cry1Ac [20], et la bactériocine F4 [21].

## Conclusion

Dans ce présent travail, nous avons réussi à avoir un taux d'expression très important de la protéine insecticide Vip3Aa16 via son expression chez la souche hôte *B. thuringiensis* sous espèce *kurstaki* HD1*cryB* qui se distingue d'une production limitée en

protéases.

## Remerciements

Ce travail a été supporté financièrement par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, Tunisie.

## Références bibliographiques

- [1].- Rice P. J., Arthur E. L., Barefoot A. C., 2007.- Advances in Pesticide Environmental Fate and Exposure Assessments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 5367-5376.
- [2].- Ongena M., Jacques P., 2008.- *Bacillus lipopeptides*: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.*, 16: 115-125.
- [3].- Schnepf E., Crickmore N., Van Rie J., Lereclus D., Baum J., Feitelson J., Zeigler D. R., Dan D. H., 1998.- *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*., 62: 775-806.
- [4].- Estruch J. J., Warren G. W., Mullins M. A., Nye G. J., Craig J. A., Koziel M. G., 1996.- Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93: 5389-5394.
- [5].- Doss V. A., Kumar K. A., Jayakumar R., Sekar V., 2002.- Cloning and expression of the vegetative insecticidal protein (*vip3V*) gene of *Bacillus thuringiensis* in *Escherichia coli*. *Protein Expression and purification*, 26: 82-88.
- [6].- Gohar M., Gilois N., Graveline R., Garreau C., Sanchis V., Lereclus D., 2005.- A comparative study of *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus anthracis* extracellular proteomes. *Proteomics* ., 5: 3696-3711.
- [7].- Reddy S. T., Kumar N. S., Venkateswerlu G., 1998.- Comparative analysis of intracellular proteases in sporulated *Bacillus thuringiensis* strains. *Biotechnology Letters*, 20: 279-281.
- [8].- Reddy Y. C., Venkateswerlu G., 2002.- Intracellular proteases of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and a protease-deficient mutant Btk-q. *Current Microbiology*, 45: 405-409.
- [9].- Sellami S., Jamoussi K., Dabbeche E., Jaoua S., 2011.- Increase of the *Bacillus thuringiensis* secreted toxicity against lepidopteron larvae by homologous expression of the *vip3LB* gene during sporulation stage. *Current Microbiology*, 63: 289-294.
- [10].- Sellami S., Zghal T., Cherif M., Zalila-Kolsi I., Jaoua S., Jamoussi K., 2013.- Screening and identification of a *Bacillus thuringiensis* strain S1/4 with large and efficient insecticidal activities. *Journal of Basic Microbiology*, 52:1-10.

- [11].- Diaz-Mendoza M., Bideshi D. K., Ortego F., Farinós G. P., Federici B. A., 2011.- The 20-kDa chaperone-like protein of *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* enhances yield, crystal size and solubility of Cry3A. *Letters in Applied Microbiology*, 54: 88-95.
- [12].- Sambrook J., Frisch E.F., Maniatis T., 1989.- *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Ed.), Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor: 1-34.
- [13].- Mesrati A.L., 2005.- Etude moléculaire de VIP « Vegetative Insecticidal Protein»: le bioinsecticide de deuxième génération de *Bacillus thuringiensis*. Thèse de Doctorat (ENIS), Tunisie, 145 p.
- [14].- Kembhavi A. A., Kulharni A., Pant A. A., 1993.- Salt tolerant and thermostable alkaline protease from *Bacillus subtilis* NCIM N°64. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 38: 83-92.
- [15].- Laemmli U. K., 1970.- Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- [16].- Oppert B., 1999. - Protease Interactions with *Bacillus thuringiensis* Insecticidal Toxins. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 42:1-12.
- [17].- Chakroun M., Banyuls N., Bel Y., Escriche B., Ferré J., 2016.- Bacterial Vegetative Insecticidal Proteins (Vip) from Entomopathogenic Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80: 329-350.
- [18].- Driss F., Tounsi S., Jaoua S., 2011.- Elationship between plasmid loss and gene expression in *Bacillus thuringiensis*. *Current Microbiology*, 62: 1287-1293.
- [19].- Elleuch J., Zghal R. Z., Jemaà M., Azzouz H., Tounsi S., Jaoua S., 2014.- New *Bacillus thuringiensis* toxin combinations for biological control of lepidopteran larvae. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65:148-154.
- [20].- Saadaoui I., Miled N., Jaoua S., 2010.- Evidence of the Involvement of E358, A498 and C571 of a New Cry1Ac  $\delta$ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in its high insecticidal activity against *Ephestia kuehniella*. *Molecular Biotechnology*, 45: 65-70.
- [21].- Ben Fguira I., Fourati Z., Kamoun F., Tounsi S., Jaoua S., 2014.- Isolation of the *Bacillus thuringiensis* plasmid carrying Bacthuristicin F4 coding genes and evidence of its conjugative transfer. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 8: 727-732.

## ETUDE DE LA GESTION RAISONNEE DE LA FERTILISATION ET DES POURRITURES RACINAIRES SUR LE RENDEMENT D'UNE COLLECTION MAROCAINE DU BLE

SALAMA Youssef<sup>1\*</sup>, CHENNAOUI Mohammed<sup>2</sup>, EI AMRAOUI Mohammed<sup>3</sup>

<sup>(1)</sup>Département de Biologie, Faculté Polydisciplinaire de Khouribga  
Université Hassan 1er, Maroc.

<sup>(2)</sup>Centres régionaux des métiers de l'éducation et de la formation (CRMEF)  
Laboratoire des Sciences de la Vie et de la Terre (SVT), 24000 El Jadida, Maroc.

<sup>(3)</sup>Laboratoire Contrôle Qualité en Bio-industrie et Molécules Bioactives  
Faculté des Sciences, Université Chouaib Doukkali, El Jadida, 24000 Maroc.

E-mail: [salama.youssef@gmail.com](mailto:salama.youssef@gmail.com)

**Résumé.-** L'agriculture au Maroc est considérée comme un secteur stratégique important pour l'avancement de l'économie nationale. Cependant au cours de ces dernières années, le développement des cultures de blé tendre et blé dur a connu une faiblesse de rentabilité. Cette faiblesse est due au problème de stress biotiques tels que la pourriture racinaire induite par *Fusarium culmorum*. Les expériences réalisées sur vingt types de blé et avec 3 types de fertilisation azotée : 21% (ammonitrate); 46% (urée); 33% (sulfate d'ammoniaque), ont montré que la fertilisation azotée sous forme d'urée a stimulé le développement de la maladie de pourriture racinaire. Par contre la fertilisation complète (N, P et K) a réduit le développement de la maladie. Donc il parait bien que la gestion de la fertilisation azotée est la solution idéale pour le contrôle de cette maladie. Néanmoins, il vaut mieux suivre les recherches et les expériences afin de développer des solutions efficaces pour la lutte finale contre cette maladie.

**Mots clés:** Pourritures racinaires, fertilisation raisonnée, blé dur, blé tendre, *Fusarium culmorum*.

### STUDY OF RATIONAL FERTILIZATION MANAGEMENT AND ROOT ROT DISEASE ON THE PERFORMANCE OF A MOROCCAN COLLECTION OF WHEAT

**Abstract.-** The Agriculture in Morocco is considered an important strategic sector for the advancement of the national economy. However, in recent years, the development of soft wheat and durum has experienced weak profitability. This weakness is due to biotic stress problem such as root rot caused by *Fusarium culmorum*. Experiments conducted on twenty types of wheat and 3 types of nitrogen fertilization: 21% (ammonium nitrate); 46% (Urea); 33% (ammonium sulfate), showed that nitrogen fertilization as urea has stimulated the development of root rot disease. By against the complete fertilization (N, P and K) reduced the development of disease. So it seems that the management of nitrogen fertilization is the ideal solution for controlling this disease. Nevertheless, it is better to follow the research and experience to develop effective solutions for the final fight against this disease.

**Key words:** Root rots, fertilization, durum wheat, soft wheat, *Fusarium culmorum*.

### Introduction

La céréaliculture occupe une place primordiale dans l'agriculture marocaine, occupant une superficie annuelle de 5 millions d'hectare dont 1,1 million ha sont réservés au blé dur. L'amélioration de la production de cette culture est assujettie en premier lieu au contrôle

des contraintes biotiques, notamment les pourritures racinaires. Ces maladies s'attaquent à toutes les céréales d'automne [1] y compris l'orge, et sont plus confinées aux zones arides et semi-arides [2-4].

La fusariose de l'épi provoque chez le blé des pertes de rendement qui peuvent être très importantes en cas d'attaque grave, mais aussi une contamination du grain par des mycotoxines qui peuvent déprécier la qualité de la récolte. Il n'existe pas pour l'instant de possibilité de lutte chimique efficace contre cette maladie fongique qui se développe lorsqu'une période humide se produit au moment de la floraison. Des différences de comportement entre génotypes de blé tendre ont été signalées dès 1942 par DICKSON, mais aucun niveau de résistance très élevé n'a été trouvé [5].

Au Maroc, les pertes de rendement dues aux pourritures racinaires ne sont pas négligeables et peuvent être très importantes lors des épisodes de croissance [6]. Ces pertes oscillent entre 20 à 51% [7], et sont au même niveau que celles estimées à l'échelle internationale [2]. Les symptômes les plus apparents des pourritures racinaires sont la fonte de semis et le symptôme d'épi blanc [8], et le dessèchement des jeunes plants [9]. Quand les semences de blé sont fortement infestées, on a toujours des problèmes en pré ou post-émergence entraînant une mort précoce des plantules [3, 8].

En vue d'atteindre un niveau stable de la production des blés dans les zones arides et semi-arides, il sera nécessaire de résoudre le problème des pourritures racinaires, et d'identifier de nouvelles ressources génétiques de résistance.

Le présent travail propose d'abord une première étude de cet aspect relatif aux pathogènes du blé tout en faisant un point de situation à l'échelle régionale (Chaouia-Ouardigha) pour étudier et évaluer une collection des blés disponibles au Maroc et étudier leur niveau de résistance ou sensibilité vis-à-vis de l'agent pathogène *Fusarium culmorum* afin de sélectionner les meilleurs génotypes résistants. Une deuxième étude a pour objective d'identifier et d'adopter une méthode de raisonnement de la fertilisation du blé, qui permet de réduire les apports d'engrais minéraux et de minimiser les risques pour l'environnement.

## 1.- Matériel et méthodes

### 1.1.- Matériel végétal

Dans ce travail, il est étudié une collection de lignées de blé dur et blé tendre qui représente les ressources génétiques nationales de blé dur et tendre de la Banque de Gènes sise au Centre Régional de la Recherche Agronomique de Settât (Maroc).

**Tableau I.- Variétés de blé dur et tendre étudiées**

Variétés de Blé tendre	Variétés de Blé dur
<i>Achtar</i>	<i>Belbachir</i>
<i>Agilal</i>	<i>Chawi</i>
<i>Faiza</i>	<i>Cocorit</i>
<i>Marchouch</i>	<i>Karim</i>
<i>Massira</i>	<i>Marzak</i>
<i>Poutan</i>	<i>Om rabi</i>
<i>Radia</i>	<i>Ourgh</i>

<i>Rihane</i>	<i>Sarif</i>
<i>Saada</i>	<i>Sebou</i>
<i>Tilila</i>	<i>Yassmin</i>

## 1.2.- Matériel fongique

### 1.2.1.- Séparation et isolement des champignons

La séparation et l'isolement des champignons contenus dans les racines de la plante ont pour but de les déterminer et de les quantifier. Les racines ou sous-collets des plantes présentant des symptômes des pourritures racinaires ont subi 5 lavages successifs pendant 15 mn dans une solution savonnée contenant de l'eau de javel à 10%, puis 3 rinçages avec de l'eau distillée stérile. Ensuite, les racines sont séchées sur papier-filtre stérile, découpées en petits fragments et déposées immédiatement sur le milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar). Après 4 à 5 jours d'incubation à une température de 20°C et à une photopériode de 12 h, les colonies développées de champignons sont incubées sur milieu PDA, pour purification et multiplication, dans les mêmes conditions de laboratoire, pour la production d'inoculum. La méthode adoptée est celle de l'ensemencement par stries, à la surface du milieu PDA solidifié dans une boîte de Pétri. Les milieux ensemencés sont ensuite placés dans une étuve à une température de 28°C pendant cinq jours [10]; après les observations macroscopiques et microscopiques des cultures seront réalisées.

Les souches de champignons laissées croître en milieu de culture donnent des colonies observables à l'œil nu permettant ainsi une description macroscopique. Elles sont passées sous lames et lamelles pour l'identification microscopique. L'identification des champignons se fait en comparant les formes observées avec celles de bibliographies. Le comptage se fait au fur et à mesure de la description microscopique des souches.

### 1.2.2.- Purification de cultures de champignon

Une culture pure de champignon est une colonie d'une espèce donnée provenant de la croissance d'un seul germe de mycélium. Celle-ci doit donc être tout à fait homogène et constituée d'une seule espèce.

Son obtention se concrétise par l'isolement d'un germe pur provenant d'une culture encore hétérogène avec différents types de mycélium. La méthode utilisée ici est à peu près similaire à celle de l'ensemencement précédemment décrit. Mais le repiquage se fait en stries serrées ou en piqûres sur milieux PDA contenus dans des tubes à essais inclinés. Le repiquage consiste alors à prélever à l'aide d'une anse (outil dont l'extrémité est un fil de platine en forme de boucle), le mycélium d'une colonie bien isolée et à l'ensemencer à la surface des milieux préparés. Les milieux ensemencés avec une souche unique sont mis à incuber à l'étuve à 28°C pendant 5 jours. Si les caractères morphologiques du mycélium de la colonie obtenue restent hétérogènes, on continue le repiquage jusqu'à ce qu'il soit certain qu'il n'y a qu'un seul germe [11].

## 1.3.- Préparation d'inoculum

### 1.3.1.- Préparation du milieu de culture PDA

Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) a été choisi pour assurer la culture de champignons. Il s'agit d'un milieu de routine à base de pomme de terre. Cette dernière

constitue un milieu complexe qui sert à l'isolement, l'entretien et la culture des champignons du sol.

Pour préparer 1 litre de PDA, nous avons utilisé 2 kg de pommes de terre, 20 g de sucre glucose et 20 d'Agar en paillette et de l'eau. Les pommes de terre épluchées et découpées en petits cubes sont macérées pendant environ une demi-heure dans 500 ml d'eau, puis cuites pendant 30 minutes. La bouillie obtenue est filtrée avec du coton. Les paillettes d'Agar sont ajoutées et la bouillie complétée à 1 litre. Le tout est remis à ébullition pendant 30 minutes. La gélose fond à une température supérieure à 45°C. Le liquide obtenu est filtré à chaud sur coton. Le glucose est ajouté et le volume ramené à 1 litre.

Le mélange est versé dans des éprouvettes bouchées par du coton et le tout est mis en autoclave. L'autoclave est maintenu à une température de 120°C (pression de 1 bar) pendant 30 minutes à 40 minutes, après quoi les soupapes sont ouvertes pour laisser refroidir [10]. Une fois les éprouvettes sorties de l'autoclave, le coulage se fait en versant le liquide préparé dans des boîtes de pétri. Le milieu de culture une fois refroidi et solidifié est prêt à recevoir les cultures de champignons.

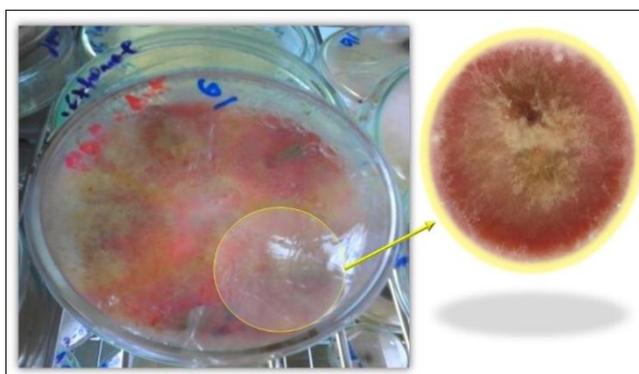
### 1.3.2.- Dénombrement de *Fusarium culmorum*

Après avoir identifié le champignon comme étant le *F. culmorum* [11-13], les colonies développées sur le milieu PDA ont été immergées avec l'eau distillée et grattées avec un pinceau. La solution obtenue est filtrée à l'aide d'un tissu à mailles très fines. La concentration des conidies de la solution mère a été déterminée par un comptage des conidies à l'aide d'un hémacytomètre.

### 1.3.3.- Caractéristiques de *Fusarium culmorum*

Le *Fusarium* étudié est un champignon supérieur du royaume des Fungi, de la division des Eumycota, du phylum des Deutéromycètes ou Champignons imparfaits, du groupe des Hyphomycètes et de l'ordre des Moniliales [11, 14].

Après incubation, le milieu de culture PDA, présente des colonies dont le mycélium est blanc étendue et cotonneux, avec une teinte rose, pourpre ou jaune. Au microscope, les filaments sont hyalins. Les conidiophores sont variables incolores, fins et simples ou plus épais, courts, irrégulièrement ramifiés ou bien naissant en un ensemble de phialides simples ou groupés en sporodochia.



**Figure 1.-** Colonies de *Fusarium culmorum* sur le milieu PDA

## 1.4.- Inoculation du sol et installation de l'essai

### 1.4.1.- Inoculation du sol

Le sol utilisé est un sol argileux-limoneux prélevé du domaine expérimental de Sidi El Aidi de l'INRA. Après avoir séché le sol, ce dernier est tamisé et stocké dans des pots pour des utilisations ultérieures. Pour inoculer le sol, il est utilisé une solution de 100 ml de l'agent pathogène, différents, pour 4 kg de sol afin d'avoir un inoculum potentiel de  $36 \times 10^6$  UFC/g de sol de *F. culmorum*.

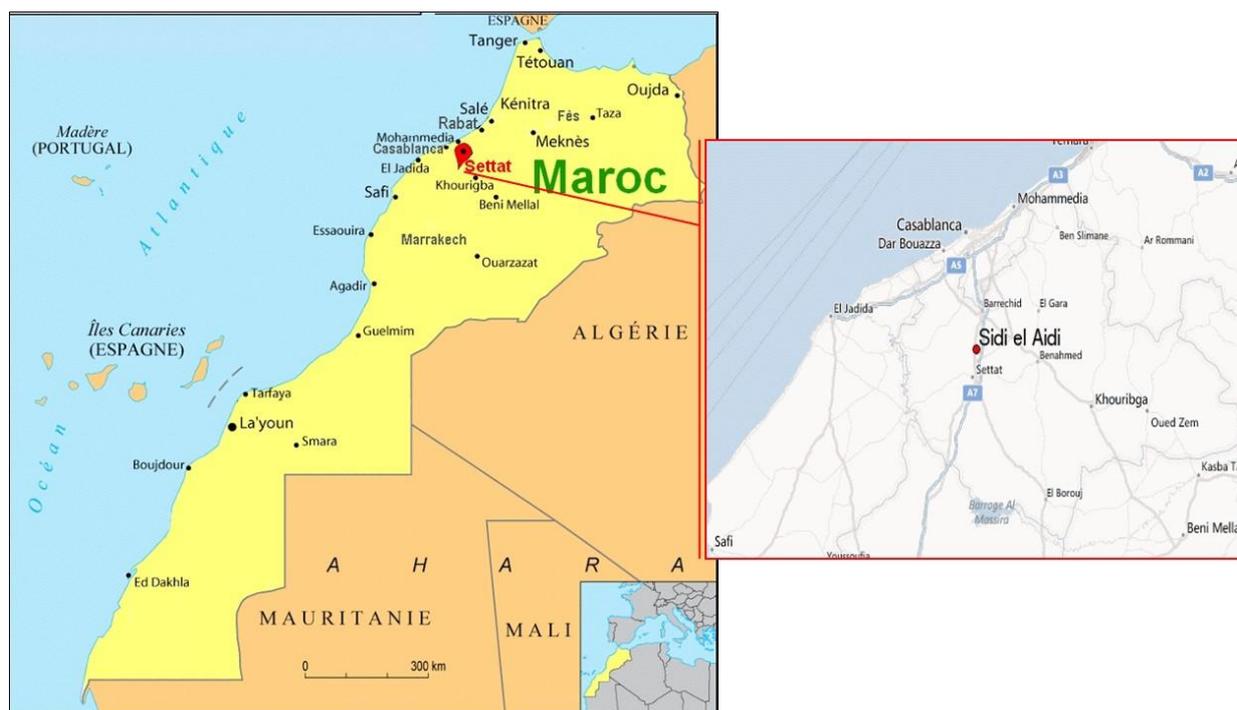


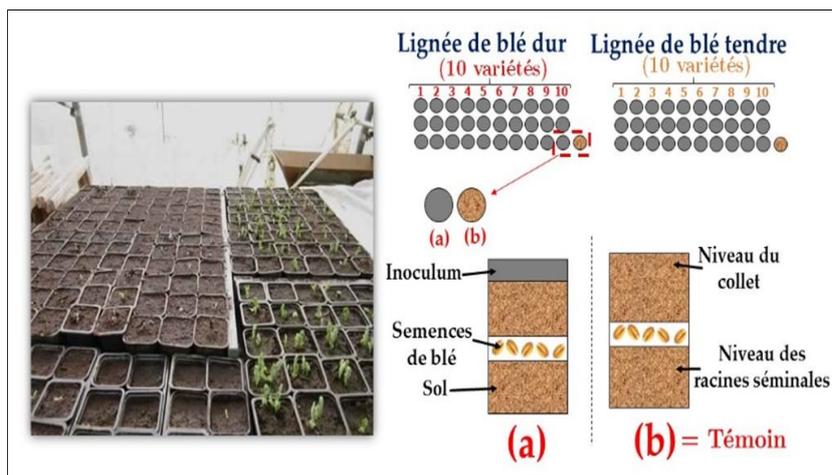
Figure 2.- Zone du prélèvement du sol étudié

Le sol inoculé le 18 décembre 2014 a été repartit dans des bacs de plastique de  $11 \times 7$  trous ayant des dimensions de  $4 \times 4 \times 4$  cm pour chaque trou. Chaque 3 trous renfermaient 5 grains chacune et représentaient une variété de blé. De la même façon, nous avons semé dans chaque bac une variété témoin (sans fertilisation ni inoculum) et sur une autre nous avons réalisé une fertilisation complète par les 3 éléments nutritifs (N, P et K).

### 1.4.2.- Dispositif expérimental

Après l'incubation des semences d'orge, elles sont séchées à l'air libre dans une serre pendant 10 jours, puis les graines sont broyées pour obtenir une poudre fine. Pour l'inoculation de l'agent pathogène *Fusarium culmorum*, il est utilisé en totalité 77 pots, formés de 7 lignes : chaque ligne est constituée de 11 pots et dont chaque pot on semis 5 grains de blé. L'inoculation se fait au niveau du collet.

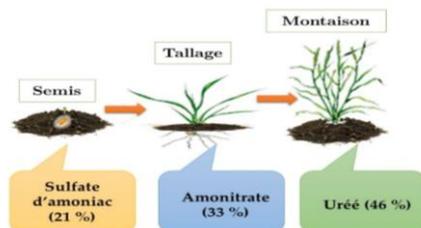
Les bacs semés le 08 décembre 2014 sont placés dans une serre vitrée et arrosés régulièrement pour permettre le développement des plantes. L'irrigation et la fertilisation sont apportées selon les besoins de la croissance végétative des lignées.



**Figure 2.-** Schéma représentatif du dispositif expérimental

### 1.4.3.- Forme et doses d'engrais azoté à base d'urée

Pour chaque échantillon il est ajouté les formes de fertilisant azoté, suivantes (sauf pour le témoin):



### 1.5.- Evaluation de la sévérité de la maladie chez les blés infectés

Après l'épiaison, il est dénombré le nombre de plantes germées dans chaque pot de l'expérience. Au niveau de serre et après quelques jours de récolte, nous avons commencé par l'estimation des nombres d'épillets infectés ainsi que nombre d'épillets sains (vert).



**Figure 3.-** Epi sain (a) et épi fusarié (b)

L'évaluation débutera par dénombrement du nombre de plantes germées par pot pour l'ensemble de l'essai après l'épiaison et afin d'évaluer la sévérité d'infection à l'issue des différents traitements, les plantes a été arrachées de chaque pot avec leur système racinaire. Au niveau de la serre et après quelques jours de récolte, nous avons commencé par l'estimation du nombre d'épillets infectés ainsi que le nombre d'épillets sains (vert). Pour le second cas d'évaluation; l'estimation des sévérités de fusariose sur la description de l'attaque au niveau du collet, du sous-collet et des racines séminales de chaque plante [15, 16].

**Tableau II.-** Echelle d'estimation de la sévérité chez les blés infectés par le *Fusarium culmorum*

Classe de Sévérité	Degré d'infection de la plante
<b>Mort</b>	Plante avec feuilles mortes.
<b>Moyennement sensible</b>	Plante sans épis.
<b>Moyennement résistante</b>	Plante avec épis blanc et avec feuilles mortes.
<b>Résistante</b>	Plante verte avec épis verts.

L'indice de sévérité de la maladie est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Indice de sévérité (\%)} = (\sum (N_i \times S_i) / (N_t \times 5)) \times 100$$

N<sub>i</sub> : Nombre de plantes dans la classe de sévérité i, i allant de 1 à 5,

S<sub>i</sub> : Numéro de la classe sévérité,

N<sub>t</sub> : Nombre total de plantes observées par lignée.

**Tableau III.** Échelle d'évaluation de la pourriture racinaire des céréales [17]

Classe de Sévérité	Degré d'infection de la plante
<b>0</b>	Pas de symptômes
<b>1</b>	Petites lésions nécrotiques dispersées au niveau du collet, du sous-collet et des racines séminales
<b>2</b>	Lésions nécrotiques distinctes et claires au niveau du système racinaire
<b>3</b>	Grandes lésions nécrotiques sur le collet, le sous-collet et les racines séminales
<b>4</b>	Pourriture sévère du système racinaire et chlorose de la plante
<b>5</b>	Plante morte

## 2.- Résultats et Discussion

Les données collectées à partir de l'expérimentation ont été traitées statistiquement. Une analyse de la variance (ANOVA) avec l'option Waller pour la comparaison des moyennes a été adoptée pour traiter les indices de sévérité des lignées testées selon le dispositif expérimental en blocs aléatoires complets à 3 répétitions. Les lignées ayant montré moins de sévérité ont été jugées comme résistantes à cette maladie.

### 2.1.- Comparaison des facteurs effecteurs sur l'indice de sévérité chez le blé tendre

Le tableau IV de l'analyse de la variance montre que l'effet de la fertilisation est très hautement significatif ( $p = 0,0001$ ). Par contre, l'effet de l'espèce et leur interaction avec la fertilisation ne sont pas significatifs.

**Tableau IV.-** Analyse de la variance de l'effet de la fertilisation, espèce, et de leur interaction

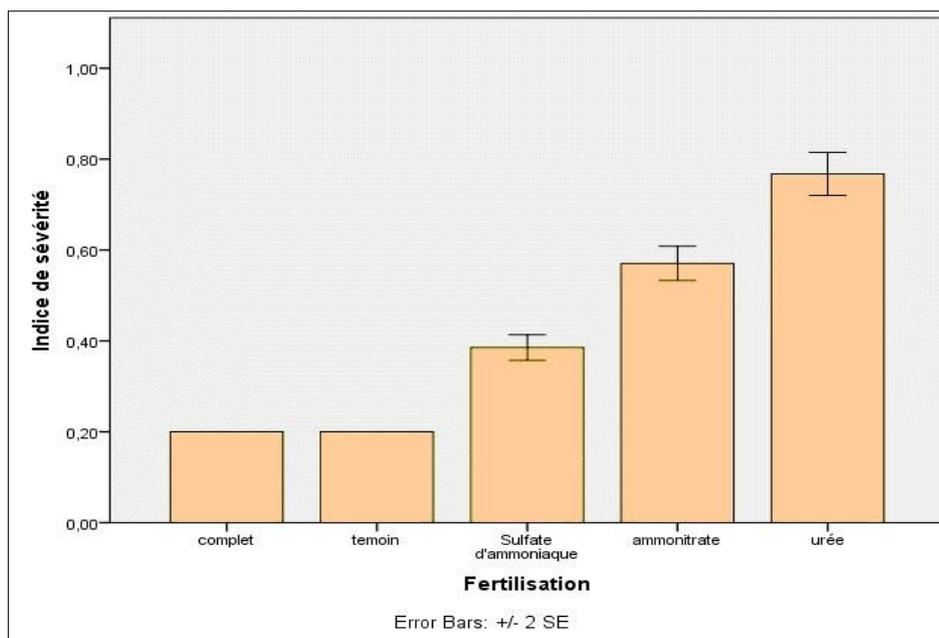
Source	Degré de liberté du numérateur	Degré de liberté du dénominateur	F <sub>observée</sub>	Probabilité
Fertilisation	4	572,00	280,57	0,0001
Espèce (blé tendre)	1	18	2,53	0,12
Fertilisation* espèce	4	572,00	0,97	0,42

Le tableau V présente, l'effet moyen des formes de fertilisation sur les sévérités de la maladie par comparaison au témoin. Il apparaît que l'addition de l'azote seul est responsable de l'augmentation de cette maladie, et la plus grande augmentation a été enregistrée par l'ajout de l'urée (77%). En comparaison au témoin, l'urée a presque triplé les niveaux de sévérité par rapport au témoin non fertilisé.

**Tableau V.-** Effet des types de fertilisation (complète, Ammonitrate, sulfate d'ammoniaque, et urée) sur la l'indice sévérité de la maladie et sa comparaison au témoin (\*: différence significative)

Fertilisation	Moyenne	Pourcentage
Ammonitrate (33%)	0,57*	186
Sulfate d'ammoniaque (21%)	0,38*	93
Urée (46%)	0,77*	284
Fertilisation complète (N, P, K)	0,20	0
Témoin	0,20	-

La figure 4 suivante illustre bien ces différences d'influence de la fertilisation sur l'indice de sévérité en conséquent sur le développement de la maladie.



**Figure 4.-** Effet des formes de la fertilisation sur l'indice de sévérité des 20 variétés de blé

Lors de la comparaison de chacune des fertilisations azotées avec le témoin on peut dire que l'Ammonitrate, le sulfate d'ammoniaque, et l'urée ont augmenté la sévérité de maladie presque deux fois. Par contre, la fertilisation complète (N, P, K) n'a pas affecté la sévérité de maladie.

## 2.2.- Comparaison des facteurs effecteurs sur l'indice de sévérité chez le blé dur

Le Tableau VI montre que l'effet de la fertilisation, des variétés et de leur interaction sur l'indice de sévérité ont été tous significatifs.

**Tableau VI.** - Analyse de la variance de l'effet de la fertilisation, des variétés de blé dur

Source	Degré de liberté du numérateur	Degré de liberté du dénominateur	F <sub>observée</sub>	Probabilité
Fertilisation	4	250,00	179,99	0,0001
Espèce (blé dur)	9	250,00	2,23	0,021
Fertilisation* espèce	36	250,00	1,47	0,050

Le tableau VII amène la comparaison de l'effet de la fertilisation sur l'indice de sévérité chez les variétés de blé dur et tendre.

D'après le tableau 7, nous remarquons que la fertilisation avec l'azote sous forme d'ammoniac et d'urée qui a augmenté le plus la sévérité de la maladie de 170 à 300% par rapport au témoin non fertilisé et cela pour le blé tendre et le blé dur.

**Tableau VII.-** Estimations de moyenne et comparaison de l'effet de la fertilisation sur l'indice de sévérité chez le blé dur et tendre

Fertilisation	Indice de sévérité BD	Indice de sévérité BT	Augmentation BD %	Augmentation BT %
Ammonitrate	0,60	0,54	200	170
Complète	0,20	0,20	0	0
Sulfate d'ammoniac	0,37	0,37	0,85	0,85
Urée	0,80	0,74	300	270
Témoin	0,20	0,20	-	-

La figure 5 montre très bien l'évolution de la maladie selon les types de fertilisation selon les variétés étudiées. Il est constaté que toutes les variétés ont vu leur sévérité augmentée d'une façon vertigineuse lorsqu'elles sont fertilisées avec l'urée.

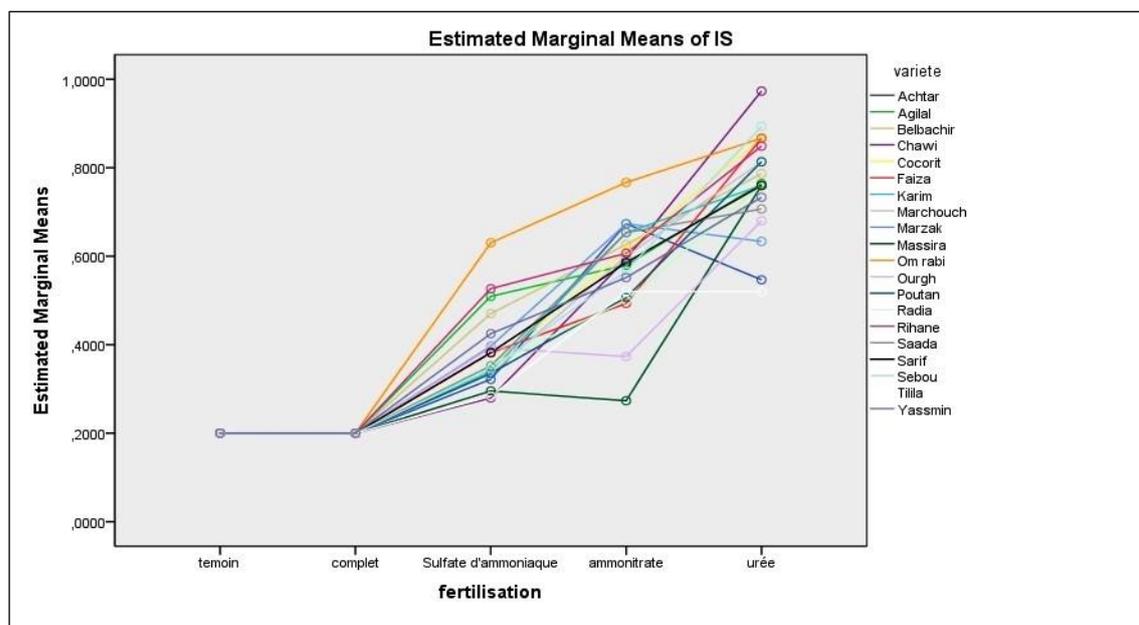
Cette augmentation de la sévérité de la maladie pourrait aussi avoir un lien avec la concentration d'azote existante dans les fertilisants utilisés, étant donné que la sévérité de la maladie augmente avec la composition des fertilisants. De ce fait, il est constaté que plus la concentration azotée est élevée, et plus l'indice de sévérité est fort. Par contre la fertilisation complète n'a pas influencé le développement de la maladie malgré l'existence des agents causaux au niveau des collets des plantes infectées.

## Conclusion

La pourriture racinaire du Blé, due à un complexe fongique, présente une menace pour la production céréalière marocaine. L'accent doit être mis sur la surveillance des régions céréalières afin de mettre en place des stratégies de lutte efficaces.

A partir des résultats d'analyse sur la fertilisation azotée par les différentes doses : ammonitrate (33%), sulfate d'ammoniac (21%), l'urée (46%) et complète (N, K et P), sur vingt variétés de blé selon leur résistance et sensibilité spécifique vis-à-vis l'agent pathogène. Nous concluons que:

- La nature de la fertilisation azotée est importante pour résoudre le problème des pourritures racinaires de blé.
- La fertilisation complète (N, P et K) est la meilleure pour le contrôle de la maladie.



**Figure 5.-** Effet de la forme de la fertilisation sur l'indice de sévérité des 20 variétés de blé

En présence des pourritures racinaires induites par le *Fusarium culmorum*, il faut éviter l'utilisation d'azote sous forme d'urée seule. C'est-à-dire composé simple. Il vaudrait mieux utiliser une fertilisation composée (N, P et K) afin de contrecarrer les effets de cette maladie, et cela plus particulièrement sous les conditions des régions arides et semis aride du Maroc.

De ce fait et à l'issue de cette étude, il est recommandé de reconduire les essais au niveau de la serre et du champ afin de mettre encore plus en valeur l'effet de de la fertilisation sur le développement de la maladie sous diverses conditions environnementales.

### Références bibliographiques

- [1].- Bockus W. W., Bowden R. L., Hunger R. M., Morill W. L., Murray T. D., 2010.- Smiley R.W., Compendium of wheat diseases and pests: Third Edition. American Phytopathological Society, 170: 26-39.
- [2].- Smiley R. W., Gourlie J. A., Easley S. A., Patterson L-M., 2005.- Pathogenicity of fungi associated with the wheat crown rot complex in Oregon and Washington. Plant disease, 89: 949-57.
- [3].- Duthie J., Hall R., 1987.- Transmission of *Fusarium graminearum* from seed to stems of winter wheat. Plant pathology, 36: 33-7.
- [4].- Parry D., Pettitt T., Jenkinson P., Lees A., 1994.- The cereal *Fusarium* complex. Ecology of plant pathogens, 301-20.
- [5].- Zahri S., Farih A., Douira A., 2014.- Statut des principales maladies cryptogamiques foliaires du blé au Maroc en 2013. Journal of Applied Biosciences, 77: 6543-9.

- [6].- Zillinsky F. J., 1983.- Common diseases of small grain cereals. A guide to identification. Mexico, DF (Mexico): International maize and wheat improvement center (CIMMYT), 141 p.
- [7].- Mergoum M., 1991.- Effects of infection by *Fusarium acuminatum*, *Fusarium culmorum*, or *Cochliobolus sativus* on wheat. Dissertation Colorado State University, Thèse de doctorat, 146 p.
- [8].- Nyvall R. F., 2013.- Field Crop Diseases Handbook. Springer Science & Business Media, 817 p.
- [9].- Tinline R., 1994.- Etiology of prematurity blight of hard red spring wheat and durum wheat in Saskatchewan. Canadian Journal of Plant Pathology, 16: 87-92.
- [10].- Girard H., Rougieux R., 1967.- Techniques de microbiologie agricole: à l'usage des étudiants en agriculture et des techniciens des industries agricoles. Dunod, 216 p.
- [11].- Nelson P. E., Toussoun T. A., 1983.- *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*. Pennsylvania State Univ Pr, 226 p.
- [12].- Leslie J. F., Summerell B. A., 2008.- *The Fusarium laboratory manual*: John Wiley & Sons, 388 p.
- [13].- Leslie J. F., Zeller K. A., 2001.- Summerell B.A., Icebergs and species in populations of *Fusarium*. Physiological and Molecular Plant Pathology, 59: 107-17.
- [14].- Bouchet P., 2005.- *Les champignons: mycologie fondamentale et appliquée*. Elsevier Masson, 77 p.
- [15].- Saur L., Benacef N., Morlais J., 1993.- Relation entre les symptômes de fusariose de l'épi et la perte de rendement chez le blé tendre. Agronomie, 13: 829-33.
- [16].- El Jarroudi M., 2005.- Evaluation des paramètres épidémiologiques des principales maladies cryptogamiques affectant les feuilles du blé d'hiver au Grand-Duché de Luxembourg: calibration et validation d'un modèle de prévision, Thèse de doctorat, Université de Liège, Arlon, Belgique, 230 p.
- [17].- Greaney F., Machacek J., Johnston C., 1938.- Varietal resistance of wheat and oats to root rot caused by *Fusarium culmorum* and *Helminthosporium sativum*. Sci Agr., 18: 500-23.

## SITUATION SANITAIRE MAMMAIRE ET PERTES LAITIÈRES ENGENDRÉES EN ÉLEVAGE BOVIN HORS SOL DANS LE CENTRE-EST DE SOUSSE (TUNISIE)

M'SADAK Youssef<sup>\*</sup>, MAKHLOUF Marwa, SBOUI Houyem  
Université de Sousse, Institut Supérieur Agronomique de Chott Mariem, Tunisie  
E-mail: [msadak.youssef@yahoo.fr](mailto:msadak.youssef@yahoo.fr)

**Résumé.-** *L'objectif de ce travail consiste à évaluer la situation sanitaire des mamelles des vaches, en vue d'apprécier le niveau d'infection mammaire, et par conséquent, l'estimation des pertes quantitatives en lait liées aux taux cellulaires élevés. L'étude a été réalisée sur 20 élevages bovins laitiers totalisant 197 vaches présentes (VP) et 162 vaches en lactation (VL) dans la région de Sousse, répartis sur deux zones du Centre-Est, à savoir: 15 troupeaux dans la Zone 1 (Kalâa Kebira) et 5 troupeaux dans la Zone 2 (Chott Mariem, Sidi Bou Ali et Akouda), durant une période de 3 mois, étalée de mi-février jusqu'à mi-mai 2012. Le suivi cellulaire a été effectué par le Californian Mastitis Test (CMT) sur un échantillon de 162 vaches en lactation (VL) lors du premier passage, mais, ce nombre a été réduit à 158 VL lors du deuxième passage et il a diminué encore au cours du troisième passage (pour des raisons de tarissement ou de vente) pour atteindre 147 VL contrôlées. Il ressort de cette étude qu'environ 56% des quartiers fonctionnels (616) étaient infectés. Il convient aussi de noter une évolution des résultats CMT selon chaque passage. Une telle situation mérite une intervention efficace pour maîtriser les facteurs de risque. Les pertes quantitatives évaluées à partir des deux estimations adaptées, sont relativement élevées : Les pertes annuelles totales en lait sont évaluées à 45496 l, ce qui correspond à 2275 l par troupeau en appliquant l'estimation de Radostits et Blood. L'estimation par Sérieys, a permis de détecter des pertes annuelles totales en lait à 91532 l, ce qui correspond à 4577 l/troupeau.*

**Mots clés :** *Élevage bovin laitier, système hors sol, scores CMT, état sanitaire mammaire, pertes quantitatives en lait*

## BREAST HEALTH SITUATION AND LOSSES CAUSED IN CATTLE MILKY ABOVE GROUND IN CENTRAL SOUSSE (TUNISIA)

**Abstract.-** *The objective of this work consist to evaluate mammary health of cows s, in order to assess the level of mammary infection and therefore the quantitative estimation of losses in milk linked to high cellular levels. The study was performed on 20 cattle farms totaling 197 cows present and 162 lactating cows in the Sousse region , spread over two areas of Central East , namely 15 herds in Zone 1 (Kalâa Kebira) and 5 herds in Zone 2 (Chott Mariem , Sidi Bou Ali and Akouda) , for a period of 3 months, spread from mid-February until mid-May 2012. The cells monitoring was performed by the Californian Mastitis Test (CMT) on a sample of 162 lactating cows (VL) during the first passage , but this number was reduced to 158 VL during the second passage and it decreased again during the third passage ( for reasons of drying or sale) to reach 147 VL controlled . It appears from this study that about 56 % of the functional areas (616) are infected. It should also be noted an evolution of the CMT results according to each passage. Such a situation requires an effective intervention to master risk factors. The quantitative losses estimated from both adapted estimates are relatively high: The total losses annual in milk are estimated at 45496 l, which corresponds to 2275 l by herd applying the estimate of Radostits and Blood. The estimate of Serieys, helped to detect the total annual losses in milk to the 91532 l, which corresponds to 4577 l / herd. Such an alarming situation shows bad management (sanitary, technical ...) of animal husbandry cattle controlled.*

**Key words:** *Animal husbandry dairy cattle, aboveground system, CMT scores, mammary health, milk quantitative losses*

## Introduction

Le développement notable de l'élevage bovin laitier hors sol durant les dernières années avec le recours à la traite mécanique, est couramment accompagné d'une accentuation des problèmes sanitaires mammaires. La numération cellulaire du lait est un témoin de l'état inflammatoire de la mamelle [1, 2], et donc, indirectement de la présence d'une infection. Les mammites vont toujours de pair avec une baisse de la production laitière des quartiers touchés de la mamelle. Cette baisse est la plus nette en cas de mammites cliniques. Les infections mammaires cachées (mammites subcliniques) réduisent également la productivité jusqu'à 40% [3]. De plus, les durées de vie des vaches concernées deviennent plus courtes.

En Tunisie, on estime depuis longtemps que 30% des vaches laitières sont réformées à cause des mammites [4]. Par ailleurs, il y a lieu de noter l'augmentation des frais vétérinaires et de médicaments dus aux traitements mammaires occasionnés, ainsi que des pertes au niveau de la quantité du lait livré. Pour toutes ces raisons, la rentabilité de l'exploitation laitière est généralement affectée. C'est pourquoi, des mamelles saines constituent un facteur important pour une production laitière rentable [5].

Les mammites, maladies d'origine multifactorielle, constituent la préoccupation majeure dans les troupeaux laitiers. Leur maîtrise souvent complexe peut devenir déroutante pour les éleveurs [6].

La présente étude se propose d'évaluer tant la santé des mamelles à partir des Tests périodiques Californian Mastitis Test (CMT) que les baisses laitières induites au niveau d'un certain nombre de petites unités laitières menées en hors sol dans la région Centre-Est de Sousse, zone littorale semi-aride de la Tunisie.

## 1.- Matériel et méthodes

### 1.1.- Collecte des données

Le travail s'est intéressé à 20 élevages bovins laitiers totalisant 197 vaches présentes (VP) et 162 vaches en lactation (VL), de même race (Frisonne Holstein), dans la région de Sousse, répartis sur deux zones du Centre-Est, à savoir: 15 troupeaux dans la Zone 1 (Kalâa Kebira) et 5 troupeaux dans la Zone 2 (Chott Mariem, Sidi Bou Ali et Akouda), pendant une durée de 3 mois, étendue de mi-février jusqu'à mi-mai 2012. Il est effectué des tests CMT sur un échantillon de 162 vaches en lactation (VL) lors du premier passage, mais ce nombre a été limité à 158 VL lors du deuxième passage et il a diminué également au cours du troisième passage (pour des raisons de tarissement ou de vente) pour atteindre 147 VL contrôlés.

Les 20 troupeaux bovins laitiers suivis sont tous soumis à la traite mécanique biquotidienne en pot (système chariot-trayeur), tout en enregistrant une taille variable de 4 à 22 VP. Ils peuvent être classés comme petits et moyens élevages. 55% des VP appartiennent à des troupeaux de taille comprise entre 4 et 9, alors que 75% des VL sont de la même catégorie, ce qui reflète la dominance des troupeaux de petite taille. Ces troupeaux sont menés en système d'élevage hors sol, caractérisé par des ressources fourragères limitées, à cause des ressources en eau insuffisantes et généralement de mauvaise qualité. Le niveau moyen de production par vache laitière est estimé à 5775 kg de lait par lactation dans la région de Sousse, valeur jugée trop importante et ne reflétant pas la situation réelle pour l'échantillon suivi, en grande partie, non adhérent au contrôle

laitier.

Les données de l'étude ont été récupérées à partir d'un diagnostic épidémiologique des mammites bovines sur lait de quartier, fondé sur l'évaluation cellulaire indirecte du lait par le CMT (selon trois passages) et l'estimation des pertes quantitatives en lait par vache, en se basant sur les travaux de RADOSTITS et BLOOD (1985) [7] et SÉRIEYS (1995) [8].

Il y a lieu de signaler que les conditions d'élevage et de traite des vaches, tant techniques qu'hygiéniques, s'éloignent des bonnes pratiques chez la plupart des élevages suivis.

## **1.2.- Réalisation du CMT et diagnostic sanitaire mammaire**

L'évaluation sanitaire mammaire a été basée sur un diagnostic épidémiologique sur lait de quartier faisant appel à l'appréciation cellulaire indirecte du lait par le CMT (selon divers scores), développé par SCHALM et NOORLANDER (1957) [9], selon trois passages mensuels successifs. Il s'agit d'un test rapide, simple et économique pour le dépistage des mammites au niveau de chaque quartier.

Le CMT, encore appelé Test au Teepol, sert à évaluer indirectement le niveau d'inflammation de la mamelle (nombre de cellules par ml de lait). Basé sur une appréciation visuelle du résultat, il est beaucoup moins précis que les dénombrements cellulaires électroniques, réalisés, par exemple, par l'intermédiaire du contrôle laitier. Néanmoins, avec une certaine expérience et un usage régulier, on peut obtenir une appréciation du niveau d'inflammation de la mamelle, information qui va guider dans les décisions concernant, notamment, la politique de traitement antibiotique au tarissement et la politique de réforme. Ce test consiste à mélanger, dans des quantités identiques, du lait et un réactif, le teepol. Ainsi, c'est l'appréciation visuelle de la viscosité du précipité obtenu qui permettra d'apprécier le niveau d'inflammation de la mamelle. Pour ce faire, de préférence avant la traite, il convient de tirer du lait d'une demi-mamelle directement dans une coupelle du plateau de contrôle prévu à cet effet, rajouter une quantité de teepol identique à celle du lait (environ 2 ml), agiter le plateau à l'aide de petits mouvements circulaires pendant quelques secondes, noter l'intensité du précipité obtenu pour chaque demi-mamelle et à l'issue de la notation, vider le précipité obtenu dans un seau et rincer le plateau à l'eau chaude pour éliminer les résidus de lait et de détergent [10].

## **1.3.- Estimation des pertes laitières à partir du CMT**

Pour évaluer les pertes en production laitière, il existe deux grands types de modèles; les modèles individuels, permettant d'estimer les pertes en lait en fonction de la numération cellulaire du lait individuel de chaque vache. Ces types de modèles sont doués d'une grande précision, puisqu'ils permettent de corriger les pertes en fonction des paramètres individuels de variation [11, 12]. Les autres modèles utilisent la numération cellulaire du lait collectif et ils sont plus simples et plus globaux, mais malheureusement moins précis [13]. Dans cette investigation, on va apprécier les pertes en lait (tab. I).

Cette appréciation sera opérée à partir des résultats ou scores CMT selon deux méthodes: Estimation de RADOSTITS et BLOOD (1985) [7] rapportée par HANZEN (2009) [14] montrant la relation entre le taux cellulaire et les pertes quantitatives en lait et estimation de SÉRIEYS (1995) [8], adoptée par M'SADAK *et al.* (2014a) [15] donnant les

pertes laitières annuelles moyennes en relation avec le score CMT (tab. II).

**Tableau I.-** Relation entre taux cellulaire et pertes quantitatives en lait

<b>Degré d'inflammation du quartier</b>		<b>Diminution relative de la production laitière (%)</b>
<b>Score CMT</b>	<b>Nombre de cellules (x1000 cellules /ml)</b>	
<b>0</b>	< 200	0
<b>1</b>	200-400	6
<b>2</b>	400-1000	10
<b>3</b>	1000-2000	16
<b>4</b>	> 2000	25

**Tableau II.-** Relation entre score CMT, nombre de cellules et pertes quantitatives en lait

<b>Degré d'inflammation du quartier</b>		<b>Diminution relative de la production laitière (%)</b>
<b>Score CMT</b>	<b>Nombre de cellules (x1000 cellules /ml)</b>	
<b>0</b>	< 100	0
<b>1</b>	100-300	9
<b>2</b>	300-900	20
<b>3</b>	900-2700	32
<b>4</b>	2700-8100	43

## 2.- Résultats et discussion

### 2.1.- Appréciation de l'état sanitaire mammaire par le CMT

#### 2.1.1.- Selon le passage

Sur les 623 quartiers contrôlés des vaches durant les trois passages accomplis, on a 268 quartiers sains (test négatif), 348 quartiers infectés et 7 quartiers non fonctionnels (NF). Il est remarqué qu'environ 56% des quartiers fonctionnels (616) sont infectés. Ce niveau d'infection est proche de celui trouvé dans la région de Monastir par M'SADAK *et al.* (2014a) [15] où l'on a trouvé un taux d'infection atteignant 60%, mais considéré comme grave par rapport à celui relevé dans toute la région de Sousse par M'SADAK *et al.* (2014b) ne dépassant pas 40% [16]. Signalons que cette comparaison concerne des élevages bovins du Sahel Tunisien conduits dans des conditions similaires.

Il convient aussi de noter une évolution des résultats CMT selon chaque passage (tab. III).

**Tableau III.-** Répartition des scores CMT entre les passages

	<b>% Infections mammaires selon les Scores CMT</b>				
	<b>Score 0</b>	<b>Score 1</b>	<b>Score 2</b>	<b>Score 3</b>	<b>Score 4</b>
<b>Passage 1</b>	44	25	16	8	7
<b>Passage 2</b>	46	21	19	8	7
<b>Passage 3</b>	35	16	27	14	8

En effet, le taux d'infection a augmenté entre les trois passages réalisés pour tous les types des mammites (scores de 1 à 4), ce qui pourrait être expliqué par le fait de l'élévation de la température ambiante qui a favorisé la diminution relative du nombre des vaches saines et le taux d'infection latente (score 1), l'élévation remarquable surtout du taux d'infection subclinique bénigne (score 2) et l'infection subclinique grave (score 3).

### 2.1.2.- Selon le quartier

Les quartiers postérieurs sont plus exposés aux infections mammaires subcliniques latentes. Ces infections sont aussi nombreuses pour le score 1 (52%), que pour le score 3 relatif aux mammites subcliniques graves (55%). Il en est de même pour les infections mammaires cliniques relatives au score 4 (62%). PORCHER (1932) [17] a révélé que les quartiers postérieurs sont plus souvent infectés que les quartiers antérieurs, ceci est expliqué par le fait que les quartiers postérieurs stagnent plus que les quartiers antérieurs dans les excréments, et aussi à ce que, au repos, ils se trouvent comprimés davantage que les quartiers antérieurs entre les cuisses de la vache. Par contre, KEMP *et al.* (2008) [18] ont annoncé que le risque d'infection des quartiers est le même pour les positions postérieures et antérieures, ce qui infirme les résultats CMT trouvés dans le contexte considéré.

Pour les positions droites et gauches, il est constaté que les infections mammaires subcliniques graves (55%) et subcliniques latentes (51%) sont observées au niveau de la position gauche des quartiers. PORCHER (1932) [17] a affirmé que la situation mammaire serait due à ce que la plupart des bovins choisissent plutôt le côté gauche que le côté droit pour se reposer. L'animal évite de se coucher sur le côté droit, afin de ne pas comprimer le reste des organes digestifs avec la panse, dont la masse est considérable. Cette considération n'est pas tout à fait vérifiée pour les autres scores.

### 2.1.3.- Selon la localisation des quartiers et la zone d'étude

Une répartition non équilibrée a été détectée entre les deux zones d'étude (tab. IV), où la première zone Kalâa Kebira enregistre les taux des quartiers sains et les taux d'infections subcliniques latentes (score 1) les plus importants, alors que les taux d'infections mammaires subcliniques bénignes (score 2), subcliniques graves (score 3) et infections cliniques (score 4) sont élevés dans la deuxième zone. Ceci peut être lié, entre autres, à la mauvaise gestion hygiénique des troupeaux.

**Tableau IV.-** Variation des scores CMT selon la localisation des quartiers et la zone d'étude (PG : Postérieurs Gauches, PD : Postérieurs Droits, AG : Antérieurs Gauches, AD : Antérieurs Droits)

Scores CMT	Zone 1				Zone 2			
	% Quartiers				% Quartiers			
	PG	PD	AG	AD	PG	PD	AG	AD
0	41	48	43	44	33	33	43	44
1	21	26	26	24	21	21	21	25
2	20	12	16	16	23	25	21	18
3	9	9	9	9	10	12	8	7
4	9	6	6	7	12	10	7	6
Total	100	100	100	100	100	100	100	100

## 2.1.4.- Selon la taille des troupeaux

Il convient de noter que le taux d'infection était plus élevé dans les petits troupeaux (< 14 VL) avec un pourcentage des vaches présentant les scores CMT de 1 à 4 de 39,2% (5 à 9 VL) et 45,7% (10 à 14 VL), contre 32% dans les autres élevages (> 14 VL) (tab. V)

**Tableau V.-** Variation de l'état sanitaire mammaire des vaches selon la taille des troupeaux

Quartiers	% infections mammaires selon la taille des troupeaux		
	De 5 à 9 VL	De 10 à 14 VL	> 14 VL
Non fonctionnels	0,5	4,2	2,0
Infectés	39,2	45,7	32,0
Sains	60,3	50,1	66,0

Les résultats trouvés pourraient être expliqués par la bonne gestion des troupeaux de taille supérieure à 14 VL et la facilité de transmission des infections mammaires dans les petits troupeaux techniquement moins assistés.

## 2.2.- Estimation des pertes quantitatives en lait

L'effet des mammites sur la production laitière dépend aussi fortement de la qualité de sa détection et de celle des thérapies utilisées, ainsi que de la politique de tarissement et de réforme de l'éleveur [19]. Ces pratiques peuvent expliquer la fréquence élevée de mammites ayant eu un faible effet sur la production, et la fréquence faible des mammites suivies de tarissement ou de réformes comparativement aux observations réalistes sur le terrain [20]. Elles ont par ailleurs pu concourir à réduire les pertes quantitatives en lait produit.

La variabilité non expliquée des pertes laitières liées aux mammites reste encore très importante. Elle est vraisemblablement due en partie à l'agent infectieux responsable. Par ailleurs, certaines caractéristiques individuelles des animaux (origine génétique, morphologie de la mamelle et du trayon) dont POUTREL (1983) [21] a montré leur influence sur la fréquence d'occurrence des mammites, de même que des facteurs alimentaires [22] ou liés au passé sanitaire de l'animal [23].

Les études les plus pertinentes, sous l'angle économique, concernent les effets sur la production cumulée des quatre quartiers. En effet, en cas d'atteinte d'un quartier, une compensation partielle est réaliste par les quartiers sains. Les pertes de production laitière associées aux cas cliniques varient en intensité et en durée à l'échelle de la lactation : quasi-nulles avec un effet très fugace jusqu'à 900 kg répartis sur toute la lactation [24]. Les variations sont liées à la gravité médicale (signes généraux, nombre de quartiers atteints), à la nature du pathogène responsable (persistance de l'infection), et au stade de lactation lors de la survenue et à l'animal [25]. Deux méthodes d'évaluation des baisses laitières quantitatives occasionnées par l'élévation cellulaire dans le lait sont appliquées dans ce qui suit.

### 2.2.1.- Selon l'estimation de RADOSTITS et BLOOD (1985)

La baisse totale de production laitière la plus importante (14071 l) est engendrée par l'infection mammaire subclinique bénigne (score 2) alors que pour l'infection mammaire

subclinique latente des quartiers (score 1) qui est la plus fréquente (36%), la perte totale est de 8511 l. Les pertes annuelles totales en lait sont évaluées à 45496 l, ce qui correspond à 2275 l par troupeau (tab. VI). Parmi les quartiers atteints, il y a 7 quartiers non fonctionnels (NF) causant une baisse totale de production laitière de 8008 l et 400 l par troupeau. Cette situation est alarmante pour les éleveurs, vu le coût de production élevé et le prix du litre de lait faible, ce qui nécessite la surveillance des vaches et l'intervention en temps opportun, en cas de détection des cas des mammites. Certains éleveurs utilisent un type d'antibiotique plus efficace, mais plus cher, ce qui présente une contrainte de son usage fréquent par les exploitants. Vu que la destruction des cellules sécrétoires du lait ne sera jamais complète et en cas de retard, on enregistre des cas de stérilité de certains quartiers convenus jusqu'aux deux quartiers par vache et donc une perte permanente de lait avec un faible pourcentage de réforme des vaches.

**Tableau VI.-** Relation entre le taux cellulaire et les pertes quantitatives en lait  
[Estimation basée sur une production de 15 l/jour/vache présente,  
soit une production de 4775 l/an (1144 l/an/quartier) : 10 vaches par troupeau]

Scores CMT	Baisse de production laitière selon Radostits et Blood (%)	Nombre moyen Quartiers	Baisse de production laitière calculée (l)	
			Totale	Par troupeau
0	0	268	0	0
1	6	124	8511	426
2	10	123	14071	704
3	16	58	10616	531
4	25	43	12298	615
NF	100	7	8008	400

### 2.2.2.- Selon l'estimation de SÉRIEYS (1995)

En comparaison avec RADOSTITS et BLOOD (1985) [7], on a trouvé la même constatation où les infections de mammites subcliniques latentes (score 1) sont les plus répandues, avec des pertes totales maximales de 28371 l et 1419 l par troupeau enregistrées pour les cas d'infections subcliniques bénignes (score 2) mais quantitativement, la baisse a atteint le double en une dizaine d'années : SÉRIEYS a remarqué une perte de 71 l par vache pour une baisse de 20% par lactation contre 35 l par vache (10%) pour RADOSTITIS et BLOOD (1985) [7], ce qui montre une exigence d'estimation par BOUDRY (2005) [26]. Les pertes annuelles totales en lait sont estimées à 91532 l, ce qui correspond à 4577 l/troupeau (tab. VII).

Une telle situation est alarmante pour les 20 élevages bovins laitiers hors sol étudiés, où le nombre des quartiers atteints (348 quartiers infectés, 7 quartiers non fonctionnels) dépasse de loin le nombre des quartiers sains (268), ce qui dévoile une mauvaise gestion d'élevage (hygiénique, technique, technologique, ...).

### Conclusion

Cette étude, réalisée sur un échantillon d'une vingtaine des petits et moyens troupeaux bovins laitiers dans la région de Centre-Est de Sousse, a montré une absence d'un suivi rigoureux de l'état sanitaire des vaches, et d'une stratégie de prophylaxie et témoigne des carences enregistrées au niveau de la structure (conditions d'habitat) et du fonctionnement des élevages. Les résultats relevés au niveau du diagnostic sanitaire mammaire par le test CMT dévoilent que 56% des quartiers testés sont infectés.

**Tableau VII.-** Estimation des pertes laitières annuelles moyennes en relation avec les scores CMT [Estimation basée sur une production de 15 l/jour/vache présente, soit une production de 4775 l/an (1144 l/an/quartier) : 10 vaches par troupeau]

Scores CMT	Baisse de production laitière selon SÉRIEYS (%)	Nombre moyen Quartiers	Baisse de production laitière calculée (l)	
			Totale	Par troupeau
0	0	268	0	0
1	9	124	12767	638
2	20	123	28371	1419
3	32	58	21233	1062
4	43	43	21153	1058
NF	100	7	8008	400

Dans le travail entrepris, comme dans la plupart des travaux antérieurs, l'effet des mammites est apparu plus important en début de lactation qu'en pleine lactation, à la fois parce que les cas de mammites graves (score 3) ou très graves (score 4) y sont plus fréquents, et que leurs effets s'étendent sur une plus longue durée. A cet égard, on a pu constater que les pertes laitières quantitatives occasionnées par des taux cellulaires élevées, estimées à partir des CMT sont relativement élevés avec une baisse annuelle de 4577 l de lait/troupeau, soit 458 l de lait/vache à partir des résultats CMT (selon l'estimation établie par SÉRIEYS).

Cette étude a permis d'établir un diagnostic des conditions d'élevage dans la région, et de dégager les différentes contraintes rencontrées. Néanmoins, il convient de faire des enquêtes à une échelle plus vaste pour recenser tous les problèmes existants, afin de pouvoir agir sur eux.

Des études de ce genre, nécessitent une association entre vétérinaires praticiens, chercheurs, et éleveurs motivés.

### Références bibliographiques

- [1].- Barnouin J., Geromegnace N., Chassagne M., Dorr N., Sabatier P., 1999.- Facteurs structurels de variation des niveaux de comptage cellulaire du lait et de fréquence des mammites cliniques dans 560 élevages bovins répartis dans 21 départements français. INRA Prod. Anim., 12 (1), 39-48.  
[https://www6.inra.fr/productions-animales/1999-Volume-12/Numero-1-1999/Facteurs\\_structurels-de-variation-des-niveaux-de-comptage-cellulaire-du-lait-et-de-frequence](https://www6.inra.fr/productions-animales/1999-Volume-12/Numero-1-1999/Facteurs_structurels-de-variation-des-niveaux-de-comptage-cellulaire-du-lait-et-de-frequence)
- [2].- Rupp R., Boichard D., Bertrand C., Bazin S., 2000.- Bilan national des numérations cellulaires dans le lait des différentes races bovines laitières françaises. INRA Prod. Anim., 13 (4), 257-267.  
<http://www6.inra.fr/productions-animales/2000-Volume-13/Numero-4-2000/Bilan-national-des-numerations-cellulaires-dans-le-lait>
- [3].- Schaeren W., 2006.- Éviter les mammites chez la vache laitière : Fiche technique destinée à la pratique, ALP actuel, n°21, Agroscope, 4 p.  
[www.agroscope.admin.ch/publikationen/einzelpublikation/index.html?...](http://www.agroscope.admin.ch/publikationen/einzelpublikation/index.html?...)

- [4].- Ben Dhiab H., 2002.- Étude des mammites dans les petits élevages bovins de la région de Monastir, PFE I.N.A. Tunis: 54-75.
- [5].- M'Sadak Y., Mighri L., Kraiem K., 2012.- Étude de la situation sanitaire mammaire et estimation des pertes laitières chez des élevages bovins hors sol dans la région de Mahdia (Tunisie), Revue des BioRessources, vol 2, n°2, 17-28.  
[www.univouargla.dz/pagesweb/PressUniversitaire/doc/.../B020202.pdf](http://www.univouargla.dz/pagesweb/PressUniversitaire/doc/.../B020202.pdf)
- [6].- Thomelin R., 2009.- Mammites-Cellules : Tous les conseils pour lutter efficacement, GIE Élevage des Pays de la Loire, 57 p.  
[www.charte-elevage.fr/.../Mammites Cellules - Tous les conseils pour...](http://www.charte-elevage.fr/.../Mammites_Cellules_-_Tous_les_conseils_pour...)
- [7].- Radostits O. M., Blood D. C., 1985.- Herd Health: A Textbook of Health and Production Management of Agricultural Animals, W B Saunders Co. ISBN-13: 978-0721612379.
- [8].- Sérieys F., 1995.- Le tarissement des vaches laitières, 223 p.  
[http://www.unitheque.com/Livre/editions\\_france\\_agricole/Le\\_tarissement\\_des\\_vaches\\_laitieres-10175.html](http://www.unitheque.com/Livre/editions_france_agricole/Le_tarissement_des_vaches_laitieres-10175.html)
- [9].- Schalm O. W., Noorlander D. O., 1957.- Experiments and Observations Leading to the Development of the California Mastitis Test. J. Am. Vet. Med. Assoc., 130:199-204.
- [10].- David V., De Crémoux R., Roussel P., 2000.- Maîtrise de la teneur en cellules des laits de troupeaux en élevage caprin : Le CMT ou Test au Teepol. Institut de l'élevage, 4 p.  
[78.155.145.72/html/fnec\\_bis/IMG/pdf/F14\\_dCMT.pdf](http://78.155.145.72/html/fnec_bis/IMG/pdf/F14_dCMT.pdf)
- [11].- Bartlett P. C., Miller G. Y., Anderson C. R., Kirk J. H., 1990.- Milk production and somatic cell count in michigan dairy herds. J. Dairy Sci., 73: 2794-2800.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2283411>
- [12].- Fabre J. M., Rousse P., Concordet D., Berthelot X., 1990.- Relation entre comptages cellulaires individuels et production en élevage bovin laitier dans le sud-ouest de la France; analyse critique des méthodes statistiques utilisées. Rev. Méd. Vét., 141, 5, 361-368.  
[www.revmedvet.com/affiche.php?id=1990&vol=5](http://www.revmedvet.com/affiche.php?id=1990&vol=5)
- [13].- Emanuelson U. L. F., Funke H., 1991.- Effect of milk yield on relationship bulk milk somatic cell count and prevalence of mastitis. J. Dairy Sci., 74: 2479-2483.  
<http://www.ajas.info/Editor/manuscript/upload/24-52.pdf>
- [14].- Hanzen Ch., 2009.- La pathologie infectieuse de la glande mammaire: Étiopathogénie et traitements : Approche individuelle et de troupeau. Université de Liège, Belgique, R22, 57 p.  
[http://www.therioruminant.ulg.ac.be/notes/200910/R22\\_Mammites\\_etiopathogenie\\_traitement\\_2010.pdf](http://www.therioruminant.ulg.ac.be/notes/200910/R22_Mammites_etiopathogenie_traitement_2010.pdf)
- [15].- M'Sadak Y., Makhlof M., Ben Omrane H., 2014a.- Étude sanitaire mammaire et pertes laitières consécutives en élevage bovin hors sol dans la région de Monastir (Sahel Tunisien), Rev. Mar. Sci. Agron. Vét., vol. 2, n°1: 37-43

[agrimaroc.org/index.php/Actes\\_IAVH2/article/download/336/287](http://agrimaroc.org/index.php/Actes_IAVH2/article/download/336/287)

- [16].- M'Sadak Y., Makhlouf M., Hamed I., 2014b.- Analyse de la situation sanitaire mammaire sur lait de quartier et estimation des pertes laitières engendrées chez des unités bovines hors sol en Tunisie, Algerian Journal of Arid Environment, vol. 4, n°2: 19-30. [docplayer.fr/19408541-Issn-2170-1318-m-sadak-y-makhlouf-m-et-hamed-i.html](http://docplayer.fr/19408541-Issn-2170-1318-m-sadak-y-makhlouf-m-et-hamed-i.html)
- [17].- Porcher Ch., 1932.- L'infection latente de la mamelle et ses réveils. Les moyens de la dépister, Revue Le Lait, Tome XII, n°114: 257-269.
- [18].- Kemp M. H., Nolan A. M., Cripps P. J., Fitzpatrick J. L., 2008.- Animal based measurements of the severity of mastitis in dairy cows - Veterinary Record, 163: 175-179.  
<http://connection.ebscohost.com/c/articles/34107471/animal-based-measurements-severity-mastitis-dairy-cows>
- [19].- Bartlett P. C., Van Wijk J., Wilson D. J., Green C. D., Miller G. Y., Majewski G. A., Heider L. E., 1991.- Temporal patterns of lost milk production following clinical mastitis in a large Michigan Holstein herd. J. Dairy Sci., 74: 1561-1572.  
<http://www.biomedcentral.com/content/xml/1471-2156-11-99.xml>
- [20].- Coulon J. B., Lescourret F., 1997.- Effet des mammites cliniques sur la production chez la vache laitière. INRA, Actes Renc. Rech. Ruminants 4: 265-268.  
[http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/1997\\_9\\_mammites\\_05\\_coulon.pdf](http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/1997_9_mammites_05_coulon.pdf)
- [21].- Poutrel B., 1983.- La Sensibilité aux Mammites: Revue des Facteurs Liés à La Vache. Ann. Rech. Vétérinaire, 14: 89-104.  
<http://hal.archives-ouvertes.fr/docs/00/90/14/04/PDF/hal-00901404.pdf>
- [22].- Beck H. S., Wise W. S., Dodd F. H., 1992.- Cost benefit analysis of bovine mastitis in the UK. J. Dairy Res, 59: 449-460. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1452830>
- [23].- Fetrow J., Mann D., Butcher K., Mc Daniel B., 1991.- Production losses from mastitis: carry-over from the previous lactation. J. Dairy Sci. 74: 833-839 J.  
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(01\)74525-0/references](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(01)74525-0/references)
- [24].- Lescourret F., Coulon J. B., 1994.- Modeling the Impact of Mastitis on Milk Production by Dairy Cows. J. Dairy Sci., 77: 2289-2301.  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030294771721>
- [25].- Deluyker H. A., Gay J. M., Weaver L. D., Azari A. S., 1991.- Evaluation of effects of metritis management in a complex dairy herd health management program. J. Dairy Sci., 74, 436-445.  
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(13\)00768-6/references](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(13)00768-6/references)
- [26].- Boudry B., 2005.- Traire un lait de qualité : Une attention de tous les jours - Qualité du lait et gestion du troupeau. DGA - Direction du Développement et de la Vulgarisation, 13 p.  
[http://agriculture.wallonie.be/apps/spip\\_wolwin/IMG/pdf/Boudry-henri-chap05.pdf](http://agriculture.wallonie.be/apps/spip_wolwin/IMG/pdf/Boudry-henri-chap05.pdf)

## COMPOSTAGE EN CUVE DES DECHETS MENAGERS ET VALORISATION AGRICOLE DU COMPOST OBTENU

CHENNAOUI Mohammed<sup>\*1,3</sup>, SALAMA Youssef<sup>2</sup>, MAKAN Abdelhadi<sup>2</sup>,  
MOUNTADAR Mohammed<sup>3</sup>

<sup>(1)</sup>Centre régional des métiers de l'éducation et de la formation (CRMEF)  
Laboratoire des Sciences de la Vie et de la Terre (SVT), El Jadida, Maroc

<sup>(2)</sup>ENQUAS Consulting, Environnement, Qualité et Sécurité  
Khouribga, Maroc

<sup>(3)</sup>Laboratoire de l'Eau et Environnement, Faculté des Sciences  
Université Chouaïb Doukkali, El Jadida, Maroc

E-mail: [mbchen66@yahoo.fr](mailto:mbchen66@yahoo.fr)

**Résumé.-** Le présent travail s'inscrit dans le contexte de la gestion et la valorisation des déchets solides urbains. L'évolution des paramètres physicochimiques et microbiologiques au cours du compostage à l'échelle pilote des déchets ménagers a été étudiée. La maturité du process et la valeur agronomique du produit fini ont été examinées. Les résultats obtenus ont montré que la fraction organique des déchets solides pourrait être composté avec succès dans 60 jours et révélant une activité microbienne vigoureuse. Le compost final a été satisfaisant pour son application agricole. Les essais de phytotoxicité menés sur des cultures de blé et de la tomate, montrent que l'incorporation de 25% du compost au support de culture permet un taux de germination allant jusqu'à 85% contre 70% pour le témoin pour la variété de blé. Dans le cas de la tomate, il est enregistré un taux de germination de l'ordre de 67% contre 58% pour le témoin.

**Mots clés:** Déchets, compost, valorisation, test de maturité.

## COMPOST AGRICULTURAL VALORIZATION OBTAINED BY COMPOSTING HOUSEHOLD WASTES IN A BIOREACTOR

**Abstract.-** This work is in the context of the management and recycling of solid urban waste. The evolution of the physicochemical and microbiological parameters during composting pilot scale household waste was studied. The maturity of the processes and the agronomic value of the finished product were examined. The results showed that the organic fraction of solid waste could be composted successfully in 60 days and revealing a vigorous microbial activity. The final compost has been satisfactory for its agricultural application. Phytotoxicity tests conducted on wheat and tomato crops, show that the incorporation of 25% culture support the compost allows a germination rate of up to 85% against 70% for the control for the variety of corn. In the case of tomatoes, we recorded a germination rate of about 67% against 58% for the control.

**Key words:** Waste, compost, recycling, maturity test.

## Introduction

Le développement des activités humaines et industrielles concourt certainement à l'augmentation de la production des déchets qui ont des impacts néfastes sur la santé humaine et sur les ressources en eau. La gestion de ces déchets et leur élimination devient une obligation. Par ailleurs, le recyclage des déchets ménagers, après compostage, est actuellement considéré comme une des composantes du développement durable [1-3].

Au Maroc, la génération totale de déchets solides est de 6,852 millions de tonnes métriques [4]. La génération de déchets urbains est actuellement environ 0,67 kilos par jour par habitant, considérant que la génération de déchets ruraux est d'environ 0,3 kilos par jour. La collecte des déchets solides urbains est régulière et presque quotidienne, elle est estimée à 5,5 millions de tonnes par an. En 2013, la collecte des déchets solides urbains couvre à peu près les 74% des déchets générés dans des superficies urbaines. Or, seulement moins de 1% des déchets générés au total sont compostés et pourtant les ordures ménagères se caractérisent par la prédominance des déchets fermentescibles (déchets végétaux et de cuisine) et par leur humidité élevée [5-7].

L'introduction du compost mûr dans le sol est une solution pour le maintien de la matière organique dans le sol [8]. Le compost est, en effet, un produit riche en matières organiques et en composés minéraux, capable d'améliorer la fertilité du sol.

L'objectif de ce travail consiste à étudier, sous conditions naturelles, les propriétés chimiques, physiques et microbiologiques des déchets ménagers au cours du compostage en cuve et à évaluer la valeur agronomique du produit fini.

## **1.- Matériel et méthodes**

### **1.1.- Origine et caractérisation des déchets**

Sur la base de la consommation marocaine, les déchets organiques ou des déchets verts à composter seront constitués de 37% déchets de légumes, 35% des déchets de fruits, 13% des produits de thé de déchets et 15% des autres déchets.

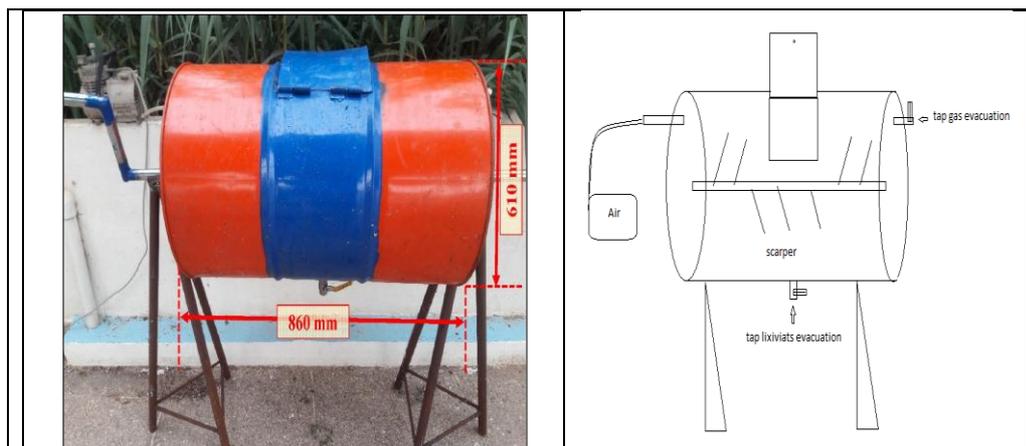
Un échantillon de 20 kg a été pesé et manuellement haché en petits morceaux de 2 à 5 mm de longueur. Les déchets obtenus, homogénéisés avec 1 kg de terreau pour l'apport de la microflore, ont été transférés dans le bioréacteur. L'ajustement de l'humidité a été réalisée soit en ajoutant la quantité requise de l'eau ou par le séchage du mélange, sous les rayons du soleil, s'il y a un excès d'humidité.

### **1.2.- Description du bioréacteur**

La figure 1 montre le bioréacteur en laboratoire qui a été spécialement conçu et utilisé pour le compostage des déchets dans cette étude. Le bioréacteur est un fut métallique vertical d'un volume d'environ 200 litres. L'épaisseur du métal est de 1 mm. Il est conçu avec une ouverture dans la face supérieure pour l'introduction des déchets. Il est munit d'une soupape pour injecter et une pour retirer l'air et un robinet pour le lexiviat. L'étanchéité est assurée par un joint en caoutchouc.

### **1.3.- Conditions de compostage**

Le bioréacteur a été alimenté d'air tous les jours et les gaz formés au cours du processus de la dégradation ont été évacués à la fin de la journée. Ce processus est répété jusqu'à la stabilisation du compost. Le bioréacteur est ensuite retourné de manière périodique afin d'assurer une bonne aération du tas et permettre une fermentation aérobie. Le processus de compostage a pris environ 60 jours jusqu'à la stabilisation. Enfin, les valeurs des indicateurs nécessaires du processus ont été mesurées.



**Figure 1.-** Bioréacteur à l'échelle du laboratoire

#### **1.4.- Préparation des échantillons pour les analyses**

Les échantillons sont prélevés à l'occasion du retournement. Le prélèvement de 100 g de matière dans des sacs stériles, est réalisé 3 fois à différents niveaux du tas de manière à obtenir un échantillon aussi représentatif que possible.

#### **1.5.- Méthodes d'analyses des paramètres physico-chimiques**

##### **1.5.1.- Température**

La température a été mesurée en utilisant un thermomètre numérique Multi-Système (ST-9283B; Indiamart, Delhi, Inde).

##### **1.5.2.- Humidité**

La teneur en humidité a été mesurée après séchage de l'échantillon à 105°C pendant une nuit.

##### **1.5.3.- Matière organique**

La matière organique (MO) a été calculée à partir des cendres après séchage d'un échantillon de 20 g de poids sec à 550°C pendant 6 heures.

##### **1.5.4.- Carbone organique total et azote total Kjeldahl**

Le carbone organique total (COT) et l'azote total Kjeldahl (NTK) ont été mesurés, respectivement par la méthode Walkley-Black et la méthode Kjeldahl. Le rapport C/N est alors calculé en fonction de la concentration en COT et NKT.

##### **1.5.5.- pH et conductivité**

Le pH et la conductivité électrique (CE) ont été mesurés par mélange échantillon-eau (poids : volume = 1: 10). Les valeurs ont été lues respectivement sur le pH-522 WTW mètre (marque Xylem, Weilheim, Allemagne) et sur EC-214 conductimètre (HANNA

Instruments, Agadir, Maroc).

### 1.5.6.- Ammonium et nitrate

L'ammonium  $\text{NH}_4^+$  d'azote a été mesuré par spectrophotométrie d'acide salicylique et de l'hypochlorite de sodium [9]. Nitrate  $\text{NO}_3^-$  a été déterminée en utilisant la chromatographie ionique [10].

Toutes les analyses ont été triplées afin d'assurer la reproductibilité et la représentativité de l'échantillon.

## 1.6.- Méthodes d'analyses des paramètres microbiologiques

Dans un Erlenmeyer de 250 ml contenant 90 ml d'eau distillée stérile sont ajoutés aseptiquement 10 g de compost sec (après séchage à 30°C pendant une nuit). Ce mélange est agité mécaniquement à l'aide de barreaux magnétiques pendant 30 minutes le but de libérer le maximum de la charge microbienne. La suspension obtenue correspond à la dilution  $10^{-1}$ . 10 ml de la dilution  $10^{-1}$  sont prélevés aseptiquement et mis dans 90 ml d'eau distillée stérile donnant ainsi la dilution  $10^{-2}$  qui est agitée pendant deux minutes avant de prélever 10 ml que l'on ajoute à 90 ml d'eau distillée stérile et ainsi de suite jusqu'à la dilution  $10^{-8}$ . 1 ml est prélevé à partir de chaque dilution, en opérant de la dilution  $10^{-8}$  à la dilution  $10^{-1}$ , et ensemencé sur les différents milieux de culture, à l'aide d'un étaloir de verre stérile.

### 1.6.1.- Microflore bactérienne totale

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) et de la flore thermophile (FT) est fait par comptage des colonies sur le milieu Plate Count Agar et incubés respectivement à 35°C et 55°C.

### 1.6.2.- Microflore fongique

L'analyse a été conduite selon la technique des suspensions-dilutions telle qu'elle est décrite par RAPILLY (1968) [11]. La culture est faite sur le milieu solide spécifique PDA additionné d'un antibiotique le chloramphénicol (Sigma) à raison de 5µg/ml. Les boîtes sont incubées à 30°C à l'obscurité pendant 3 jours au bout desquels le comptage des colonies est réalisé, puis les boîtes sont placées sous lumière blanche continue afin de favoriser la pigmentation des colonies tout en notant l'apparition de nouvelles colonies.

### 1.6.3.- Expression des résultats

La détermination de la charge fongique est faite par comptage des colonies et les résultats sont exprimés en UFC (nombre d'Unités Formant Colonies)/ g de compost selon la formule mathématique ci-dessous. Seules les boîtes contenant entre 15 et 30 colonies au niveau de deux dilutions successives sont retenues pour le dénombrement [12].

$$N = \frac{\Sigma \text{colonies}}{V \times (n_1 + 0,1 n_2) \times d_1}$$

N: Nombre d'UFC par gramme de compost;

$\Sigma$  colonies: Somme des colonies des boîtes interprétables;

V: Volume de solution déposée (1ml);

$n_1$ : Nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue;

$n_2$ : Nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue;

$d_1$ : Facteur de la première dilution retenue.

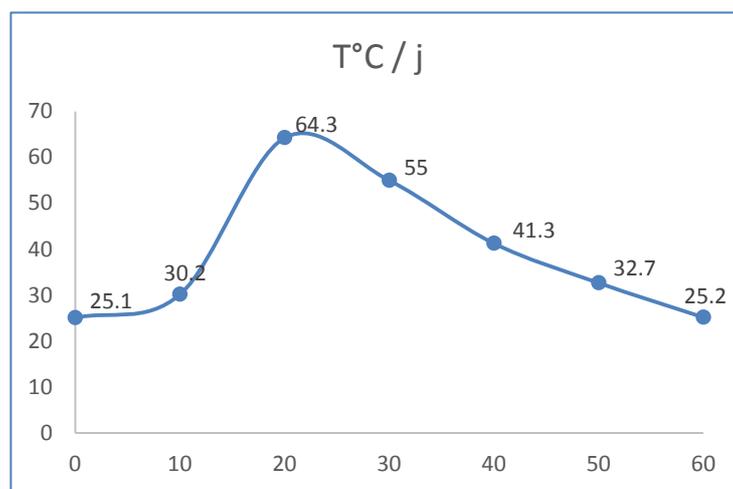
## 1.7.- Test de phytotoxicité

Il est basé sur le pouvoir germinatif des graines de deux cultures (blé et tomate) en présence du compost. Ces tests consistent à semer un même nombre de graines dans des pots contenant du sable seul, compost seul ou sable additionné de 25 à 75% du compost et à raison de 3 pots par catégorie. Après 10 jours d'incubation à 25°C, la maturité du compost a été évaluée suivant le pourcentage de germination par rapport au témoin.

## 2.- Résultats et discussion

### 2.1.- Evolution de la Température

La surveillance de la température permet une mesure indirecte de l'intensité de la dégradation aérobie. À des températures inférieures à 20°C, les micro-organismes psychrotrophes seulement sont actifs. Entre 20 et 40°C, ce sont les mésophiles qui se développent, mais les micro-organismes thermophiles sont actifs seulement à des températures comprises entre 40 et 70°C [13].



**Figure 2.-** Evolution de la température durant la période du compostage

Au début du compostage l'activité biologique s'installe à travers des micro-organismes mésophiles ce qui augmente la température de 25,1°C à 30,2 durant le 10<sup>e</sup> jour (fig. 2). Cette élévation de la température est la conséquence directe de l'oxydation de la matière organique des substrats [14,15]. Cette oxydation permet ainsi la libération de l'énergie contenue dans les liaisons chimiques des molécules constitutives [16].

Avec le compostage, l'intense activité des micro-organismes génère une élévation de la température à 64,3°C qui est atteinte au 20<sup>e</sup> jour et dure environ 6 jours ce qui permet l'installation des microorganismes thermophiles et thermo-tolérants [17-20].

Cependant, durant la phase de maturation qui succède à la phase thermophile, les pertes de chaleur par échange avec le milieu extérieur et la diminution des éléments nutritifs, engendrent une chute de température progressive et se rapproche de l'ambiante 25,2°C après 60 jours de compostage.

## 2.2.- Evolution du pH

Le pH est un facteur important qui influence la plupart des réactions biochimiques catalysées par des enzymes ce qui permet la biodisponibilité des nutriments et la solubilité des éléments minéraux pour les micro-organismes.

Le processus de compostage se caractérise par un pH initial de 7,5. L'évolution du pH en fonction du temps montre trois phases différentes (fig. 3). Le compostage passe par une phase acidogène de 20 jours, où le pH est aux alentours de 5,4. Vers le 40<sup>e</sup> jour, il y a un passage rapide par une phase de neutralité. Au 50<sup>e</sup> jour, il y a passage par une phase d'alcalinisation où le pH atteint 7,8. Cette phase est le résultat d'une part d'une production ammoniacale à partir de la dégradation des amines protéiques lors du processus d'ammonification et d'autre part d'une libération des bases auparavant intégrées à la matière organique [21-23]. Cette stabilité est aussi la conséquence de la présence d'ions  $Ca^{2+}$  qui augmentent au cours du compostage suite à l'humification et qui jouent un rôle de tampon dans le milieu [24, 25]. Le pH final légèrement alcalin 8,1, fait du compost un produit sans risques pour le sol et pour les plantes. La valeur de pH obtenue dans cette expérimentation concorde avec les travaux de HE *et al.* (1992) et de HELLMANN *et al.* (1997) [26, 27].

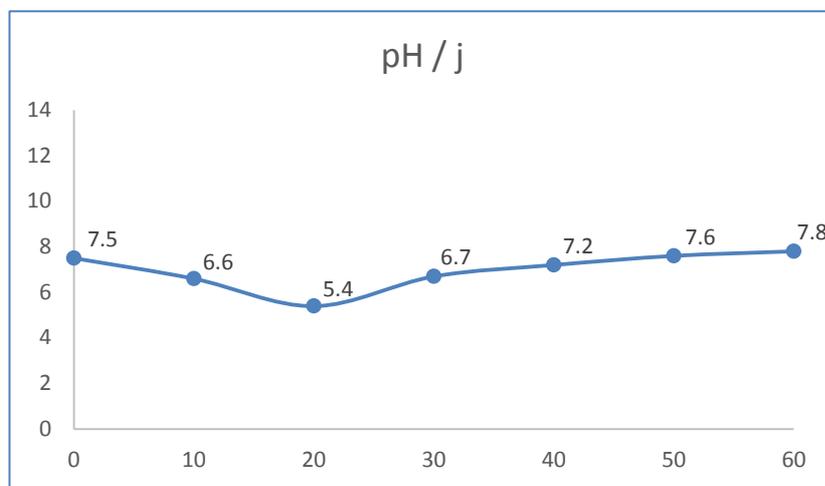
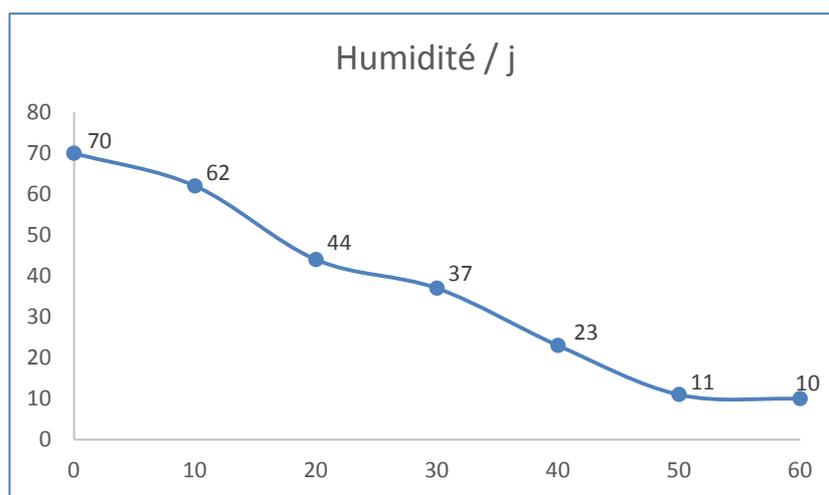


Figure 3.- Evolution du pH durant la période du compostage

## 2.3.- Evolution de l'humidité

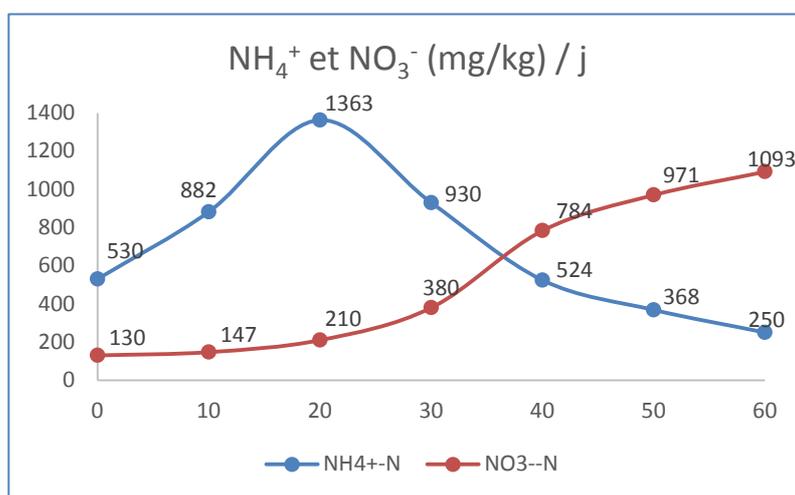
Une bonne humidité est primordiale pour que l'activité des micro-organismes soit plus importante, ce qui accélère le processus de compostage. Le taux d'humidité diminue significativement au cours du temps, environ 70% dans le compost jeune, il n'est plus que de 10% dans le compost mûr (fig. 4). Il est attribué cette perte d'eau à la lixiviation et à l'évaporation due à l'élévation de la température due à l'activité microbienne intense lors du compostage [28].



**Figure 4.-** Evolution de l'humidité durant la période du compostage

#### 2.4.- Evolution de $\text{NH}_4^+$ et $\text{NO}_3^-$

Le contenu  $\text{NH}_4^+$  dans la charge d'abord augmente pendant les 20 premiers jours du compostage pour atteindre une valeur de 1363 mg/kg puis diminue progressivement (fig. 5), ce qui pourrait être expliqué par la décomposition microbienne de la MO contenant de l'azote pour se convertir en ammoniac. La diminution de  $\text{NH}_4^+$  est un indicateur d'un bon processus de la maturation. ZUCCONI BERTOLDI (1987) et DE BERTOLDI *et al.* (1983) ont recommandé une teneur maximale de  $\text{NH}_4^+$  de 400 mg/kg en compost mûr [29,30]. Ainsi, la valeur de  $\text{NH}_4^+$  dans le compost final obtenu répond donc à la demande des applications agricoles.



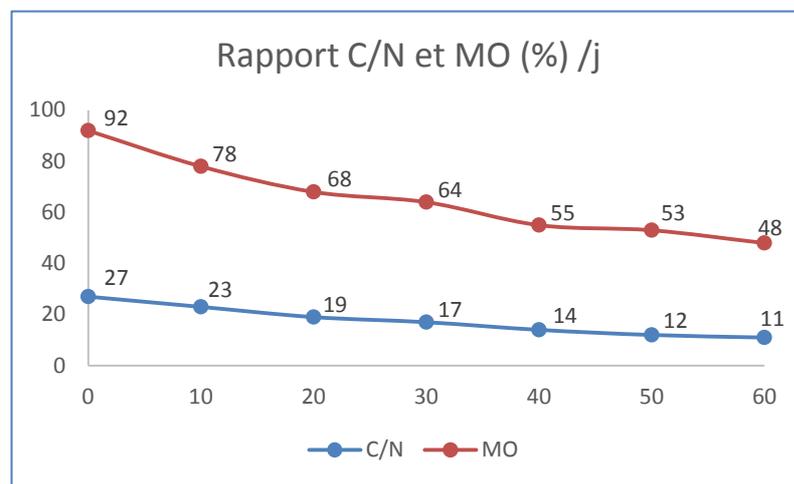
**Figure 5.-** Evolution de la teneur en  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_3^-$  durant la période du compostage

La teneur en  $\text{NO}_3^-$  a gardé une tendance de croissance au cours du processus de compostage (fig. 5). La température élevée (plus de  $40^\circ\text{C}$ ) a inhibé l'activité et la croissance des bactéries nitrifiantes dans la phase thermophile. Il n'y a aucune augmentation significative de la teneur de  $\text{NO}_3^-$  pendant la phase initiale du processus de compostage. Lorsque le processus de durcissement avait commencé après le 20<sup>e</sup> jour, il est observé une augmentation rapide de la teneur en  $\text{NO}_3^-$ . Le processus de durcissement est

terminé le 50<sup>e</sup> jour et la teneur en  $\text{NO}_3^-$  avait tendance à se stabiliser relativement pour atteindre 1093 mg/kg à la fin du compostage.

## 2.5.- Evolution du rapport C/N et de la matière organique (MO)

Selon la figure 6, le rapport C/N présente une déclinaison progressivement à cause de la minéralisation de la matière organique. Le substrat initial a un C/N de 27. Dès que les composés carbonés facilement disponibles ont été épuisés, le taux de réduction C/N diminue. Cette diminution peut être expliquée par le fait que les micro-organismes consomment plus de carbone (composant principal des molécules organiques) que l'azote. Au début du compostage le rapport C/N était d'environ 27 et la fin du processus a été réduite à 11. HIRAI *et al.* (1983) ont proposé un rapport C/N égal ou inférieur à 20 en tant que norme pour le compost mûr [31]. Donc le compost obtenu peut être qualifié comme étant un compost de qualité qui peut être appliqué dans les terres agricoles. La fraction organique a été minéralisée en composés stables par les activités microbiennes, ce qui explique sa diminution au cours du processus de compostage elle est passée d'environ 92% à environ 48% après 60 jours de compostage.

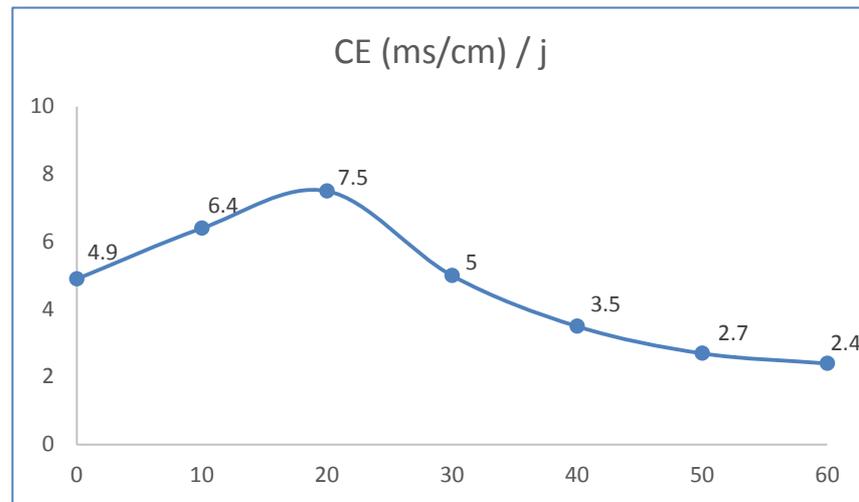


**Figure 6.-** Evolution du rapport C/N et de la teneur en matière organique durant la période du compostage

## 2.6.- Evolution de la CE

La CE reflète le degré de salinité du compost produit et indique ses possibles effets phytotoxiques/inhibiteurs sur la croissance des plantes utilisées comme engrais (par exemple faible taux de germination, flétrissement, etc...) [32]. Le compost avec une CE faible peut être utilisé directement alors que le compost de haute CE doit être bien mélangé avec de la terre ou d'autres matériaux à faible CE avant qu'il puisse être utilisé pour les cultures [33]. Conformément à la figure 7, la courbe de la teneur en CE représente une augmentation par rapport à la valeur initiale de 4,9 ms/cm à un maximum de 7,5 ms/cm au 20<sup>e</sup> jour, suivie d'une diminution progressive jusqu'à la fin du processus de compostage. L'augmentation initiale de la CE pourrait être causée par la libération de sels minéraux tels que les phosphates et les ions ammonium par la décomposition des substances organiques [34]. Pendant la progression du compostage, la volatilisation de l'ammoniac et de la précipitation des sels minéraux peuvent être les raisons possibles de la diminution de la CE jusqu'à la phase finale de compostage [35]. La CE du produit de compostage final ne

dépasse pas la teneur limite de 3 ms/cm, ce qui indique que le compost serait bénéfique à la croissance des plantes [36].

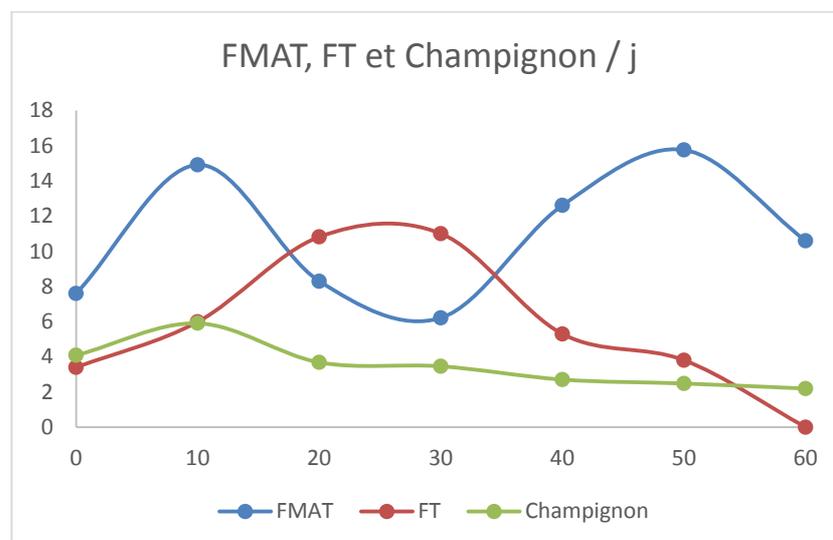


**Figure 7.-** Evolution de la conductivité électrique durant la période du compostage

## 2.7.- Evolution de la flore microbienne

Le compostage est un processus aérobie de dégradation des composés organiques par l'action successive des micro-organismes (bactéries et champignons) dont la concentration peut atteindre des millions par gramme de compost [37-40]. Leur évolution est en fonction des stades de compostage avec un profil défini, en fonction des espèces, de la nature et de la structure des substrats, est aussi liée principalement aux variations des paramètres physico-chimiques [41].

Au cours du processus de compostage réalisé, la flore microbienne varie considérablement (fig. 8). Par ailleurs, la densité bactérienne est toujours plus élevée que la densité fongique quel que soit l'âge du compost.



**Figure 8.-** Evolution de la flore microbienne durant la période du compostage

Le début de la phase mésophile est caractérisé par une dominance de la flore mésophile qui est aux alentours de  $3.10^6$  ufc/g qui colonisent le milieu avec les champignons 370 ufc/g. Selon KILBERTUS, ce sont les champignons qui colonisent en premier les substrats et dégradent préférentiellement la matière organique fraîche mais l'augmentation de la température entraîne leur diminution et leur nombre passe donc de 370 à 40 ufc/g à partir du 20<sup>e</sup> jour jusqu'au 25<sup>e</sup> jour ceci est en accord avec les travaux de GREENBERG *et al.* (1986) et GUENE (2002) qui ont déduit que la baisse du nombre de champignons est due à l'installation de conditions peu favorables à leur prolifération [42-44]. Vers le 20<sup>e</sup> jour, la phase thermophile s'installe, la température est de l'ordre de 64,3 °C, on assiste à un abattement de 2 unités logarithmiques pour les mésophiles. Ces derniers sont partiellement inactivés ou tués, et le nombre des thermophiles augmente sensiblement et atteint alors  $5.10^4$  ufc/g vers le 25<sup>e</sup> jour.

Dans ce contexte, BEFFA *et al.* (1996) trouvent que le genre *Thermus* est parmi le groupe de bactéries thermophiles qui domine dans la dégradation de la matière organique [19]. Au cours de la phase de refroidissement après le 40<sup>e</sup> jour, il y a une réduction importante du nombre des thermophiles, ce qui plaide en faveur du bon déroulement du processus de compostage puisque leur nombre atteint  $2 \cdot 10^2$  ufc/g. A la phase de maturation, il est noté un repeuplement du compost par la flore mésophile puisqu'elle atteint  $3.10^5$  ufc/g. Ces micro-organismes sont les plus attendus pour deux raisons principales: ils accélèrent le processus de décomposition et donnent un compost mure en éliminant les pathogènes transportés par divers composés de déchets. Ces microorganismes continuent de dégrader les substrats comme la cellulose, la lignine, etc., pour obtenir en fin de cycle un compost stable [45-47].

## 2.8.- Test de maturité de compost

Les tests de maturité bactériologiques, mycologiques, du rapport C/N ne permettent pas toujours de se rendre compte de la maturité d'un compost. Ceci nous a conduits à entreprendre des tests biologiques, basés sur des essais de germination sur le compost pur ou mélangé au sol. Les résultats des analyses sont consignés dans le tableau I.

**Tableau I.-** Test de germination de deux variétés de blés et de tomate sur compost pur ou mélangé au sol

	Sable (témoin)	Sable+1/3 de compost	Sable + 2/3 de compost	Compost (100%)
<b>Blé</b>	70	85	57	23
<b>Tomate</b>	58	67	0	0

Au vu des résultats, il apparaît que l'incorporation d'une dose de 25% du compost au sol permet un taux de germination de 85% pour le blé et 67% pour la tomate. En revanche, les cultures sur un substrat contenant 75% à 100% du compost sont plutôt réprimées. De HANN (1981) et ABAD BERJON (1997) signalent que l'effet dépressif du compost n'est pas lié uniquement aux caractéristiques des composts, mais il est aussi fonction des doses appliquées [48, 49].

## Conclusion

L'évolution des déchets ménagers en cours du compostage en cuve conduit à des modifications importantes de leur composition. Les résultats obtenus montrent que ces

déchets peuvent être compostés avec succès en 60 jours. Les indices opérationnels tels que la température, pH et les gaz dégagés ont été très utiles pour évaluer la performance de compostage et révèlent une activité microbienne vigoureuse. Cette évolution conduit à une stabilisation du produit fini que l'on peut valoriser en agriculture. Par ailleurs, les résultats obtenus à travers des essais agronomiques ont montré que le compost des déchets ménagers peut être considéré comme un amendement organique qui permet d'améliorer les propriétés physiques et chimiques des sols et par conséquent les rendements de cultures.

### Références bibliographiques

- [1].- Basalo C., 1974.- Les ordures ménagères en agriculture. T. S. M., l'Eau, 69 : 15-23.
- [2].- Golueke C. G., 1977.- The biological approach to solid waste management. Compost Sci., 18: 4-9.
- [3].- Golueke C. G., 1979.- Composting : a review of rationale, principles and public health. Compost Sci., 17: 11-15.
- [4].- SWEEP NET, 2014.- Le réseau régional d'échange d'informations et d'expertises dans le secteur des déchets solides dans les pays du Maghreb et du Machreq: Rapport sur la gestion des déchets solides au Maroc, 57 p.
- [5].- Djerrari M. F., 1993.- Élimination et valorisation des ordures ménagères par compostage, cas de l'U.T.O.M. de Rabat. Séminaire régional, l'environnement urbain, des approches municipales innovatrices, Marrakech les 25-27 mai, Pp 25-27.
- [6].- El M'Ssari A., 1993.- Elaboration d'une méthodologie de caractérisation des ordures ménagères et du compost de l'usine de Salé. Thèse 3<sup>ème</sup> cycle, Faculté des Sciences Moulay Ismail, Meknès, 200 p.
- [7].- Soudi B. et Jemali B., 1995.- Problématique du compostage des déchets ménagers au Maroc : cas de Rabat-Salé. Programme de la communauté européenne. Séminaire MED-URBS, Kénitra, les 26-27 juin, Pp 26-27.
- [8].- Tiejien C., 1975.- The potential of composting in developing countries. Compost Sci., 16 : 6-7.
- [9].- Lu Y., 2000.- Analytical Methods on Soil Agrochemistry (in Chinese). China Agriculture Technology Press, Pp 305-336.
- [10].- Wei F. S., 2002.- Analytic Method of Water Quality on Water and Wastewater (4th edn). China Environmental Science Press, Beijing, 18: 4-9.
- [11].- Rapilly F., 1968.- Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Annales des Epiphytes, INRA, 19: 102 p.
- [12].- Dutruc-Rosset G., 2003. Techniques analytiques et de contrôle (Codex œnologique). Partie microbiologique. Office International de la Vigne et du Vin, Paris, 23 p.

- [13].- Mustin M., 1987.- Le compost, Gestion de la matière organique. Ed. François DUBUSC, Paris, 954 p.
- [14].- Hassen A. et Belguith K., 2001.- Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresource Technology* 80(3): 217-225.
- [15].- Ahn H. K., Sauer T. J., Richard T. L., Glanville T. D., 2009.- Determination of thermal properties of composting bulking materials. *Bioresource Technology*, 100: 3974-3981.
- [16].- Ryckeboer J., Mergaert J., Vaes K., Klammer S., De Clercq D., Coosemans J., Insam H. et Swings J., 2003.- A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Ann. Microbiol.*, 53 (4): 349-410.
- [17].- Chang Y., 1967.- The fungi of wheat straw compost. *Biochemical and physiological studies. Trans British Mycol Soc*, 50: 667-677.
- [18].- Chang Y., et Hudson, H. J., 1967.- The fungi of wheat straw compost. *Ecological studies. Trans British Mycol. Soc.*, 50: 649-666.
- [19].- Strom P. F., 1985.- Identification of thermophilic bacteria in solid waste composting. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50: 906-913.
- [20].- Beffa T., Blanc M., Lyon P. F., Vogt G., Marchiani M., Fischer J. L. et Aragno M., 1996.- Isolation of thermus strains from hot compost (60-80°C). *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 1723-1727.
- [21].- Kochtizky O. W., Seaman W. K. et Wiley J. S., 1969.- Municipal Compostage research at Johnson City, Tennessee. *Compost Sci.*, 9 : 5-16.
- [22].- Gray K. R., Sherman K. et Diddlestone A. J., 1971.- Un examen de compostage. *Partie 1. Processus Biochem.*, 31: 32-36.
- [23].- Peters S., Schwieger S. K. F. et Tebbe C. C., 2000.- Succession of microbial communities during hot composting as detected by pcr-single-stran-conformation polymorphism-based genetic profiles of small-subunit rna genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 930-936.
- [24].- Juste C., 1980.- Avantages et inconvénients de l'utilisation des composts d'ordures ménagères comme amendement organique des sols ou supports. *INRA Bordereaux, Journées internationales sur le compost, Madrid.*
- [25].- Morel J. L., Guckert A., Nicolardot B., Benistant D., Catroux G. and Germon, J.C. , 1986).- Etude de l'évolution des caractéristiques physico -chimiques et de la stabilité biologique des ordures ménagères au cours du compostage. *Agronomie*, 6 : 693-701.
- [26].- He X.T., Logan T. J., Traina S. J., 1992.- Physical and Chemical Characteristics of Selected U.S Municipal Solid Waste Composts. *J. Environ. Qual.*, 24: 543-552.

- [27].- Hellmann B., Zelles L., Palojarvi A., Bai Q., 1997.- Emission of Climate-Relevant Trace Gases and Succession of Microbial Communities during Open-Windrow Composting. *Appl. Environ. Microbiol.* 63 : 1011-1018.
- [28].- Jemali B., Soudi B., Lhadi E. K., 1996.- Contrôle des paramètres du compostage et appréciation de la qualité du compost des déchets ménagers de la Wilaya de Rabat-Salé. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 16 (2):43-50.
- [29].- Zucconi F. et de Bertoldi M. , 1987.- Compost specifications for the production and characterization of compost from municipal solid waste. *Quality and Use, Elsevier Applied Science*, Pp. 30-50.
- [30].- De Bertoldi M., Vallini G. and Pera A., 1983.- The biology of composting: a review *Waste Management & Research*, 1:157-176.
- [31].- Hirai M., Chanyasak V. et Kubota H. , 1983.- A standard measurement for compost maturity. *Biocycl.*, 24 : 54-56.
- [32].- Lin C., 2008.- A negative-pressure aeration system for composting food wastes. *Biores. Technol.*, 99: 7651–7656.
- [33].- Chen, J., 1999.- Characteristic and applications of domestic animal wastes. In *Animal Waste Products Quality and Treatment Alternatives Manual*, Soil Survey and Testing Center. National Chung Hsing University, Taiwan, Pp. 15-22.
- [34].- Gómez-brandon M., Lazcano C. et Domínguez J., 2008.- The evaluation of stability and maturity during the composting of cattle manure. *Chemosphere*, 70: 436-444.
- [35].- Wong J.W.C., Li S. W. Y. et Wong M. H., 1995.- Coal fly ash as a composting material for sewage sludge : effects on microbial activities. *Environ. Technol.*, 16 : 527-537.
- [36].- Soumaré M., Demeyer A. et Tack F., 2002.- Chemical characteristics of malian and belgian solid waste composts. *Biores. Technol.*, 81: 97-101.
- [37].- Barje F., Amir S., Winterton P., Pinelli E., Merlina G., Cegarra J., Revel J. C., Hafidi M., 2008.- Phospholipid fatty acid analysis to monitor the co-composting process of olive oil mill wastes and organic household refuse. *Journal of Hazardous Materials*, 154: 682-687.
- [38].- Jouraiphy A., 2007.- Compostage des boues activées déchets verts, analyse physicochimiques, microbiologiques, toxicologiques, bilan humique et valorisation agronomique. Thèse de doctorat, Université Caddi Ayyad, Faculté des sciences Semlalia, Marrakech, 148 p.
- [39].- Amir S., 2005.- Contribution à la Valorisation de Boues de Stations d’Epuration par Compostage : Devenir des Micropolluants Métalliques et Organiques et Bilan Humique du Compost. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique, Toulouse, France, 312 p.

- [40].- Amir S., Abouelwafa R., Medich A., Souabi S., Winterton P., Merlina G., Revel J. C., Pinelli E., Hafidi M., 2010.- Pfls of the microbial communities in composting mixtures of agroindustry sludge with different proportions of household waste. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 64: 614-621.
- [41].- Rosenzweig et Statozky, 1980.- Bacteria often possess a competitive advantage. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39: 354-360.
- [42].- Kilbertus G. , 1985.- Compostage des écorces. Rapport Université de Nancy I, 356p.
- [43].- Greenberg A. E., Shastid T. B., Ellgas W. M., 1986.- Quality Controlling Monitoring. *Biocycle*, 7 : 36-38.
- [44].- Guene O., 2002.- Integrated Traditional Composting within Domestic Solid Waste Management. *Proceedings of International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management*, Tunisia, 349-356.
- [45].- Tuomela M., Vikman M., Hatakka A. et Itavaara M., 2000.- Biodegradation of lignin in a compost environment : A review. *Biores. Technol.*, 72: 169-183.
- [46].- Veeken A. H. M., Adani F., Nierop K. G. J., de Jagar P. A. et Hamelers H. V. M., 2001.- Degradation of biomacromolecules during high-rate composting of wheat straw-amended feces. *J Environ Qual*, 30: 1675-1684.
- [47].- Bolta S.V., Mihelic R., Lobnik F., Lestan D. , 2003). *Microbial Community Structure during Composting With and Without Mass Inocula*. *Compost Sci. Util.* 11 : 6-15.
- [48].- De Hann S., 1981.- Results of municipal waste compost research over more than fifty years at the Institute for Soil Fertility at Haren/ Gorninge, the Netherlands. *Neth .J. agric. Sci.*, 29: 49-61.
- [49].- Abad Berjon M. M. D., 1997.- Climent Morato, P. Aragon Revuelta. and A. Camarero Simon . The influence of solid Urban Waste compost and nitrogen - mineral fertilizer on grow the and productivity in potatoes. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 28:1653-1661.

## EFFET DU STRESS SALIN SUR LA VARIATION D'ISOENZYMES D'ESTERASES DE DEUX GENOTYPES CONTRASTES DE MEDICAGO

AMOURI Adel Amar

Département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Université d'Oran I Ahmed Ben Bella, Oran, Algérie

E-mail: [amouri.adel@univ-oran.dz](mailto:amouri.adel@univ-oran.dz), [amouriaa@yahoo.fr](mailto:amouriaa@yahoo.fr)

**Résumé.**- L'activité des estérases qui est liée au stade physiologique et métabolique de la cellule des plantes, peut être affectée par les facteurs environnementaux tels que le stress salin. La présente étude porte sur l'électrophorèse native des isoenzymes d'estérases, chez deux génotypes de deux espèces différentes du genre *Medicago*, l'une tolérante de l'espèce *M. truncatula* Gaertn, et l'autre sensible de l'espèce *M. polymorpha* L. L'étude de la synthèse des isoenzymes d'estérases durant la germination des graines sous différentes concentrations de salinité 0, 68, 102 et 137 mM, a montré des variations quantitatives et qualitatives spécifiques dans la synthèse de ces isoenzymes, entre les deux génotypes contrastés. Ce polymorphisme biochimique d'isoenzymes d'estérases, peut être expliqué par un polymorphisme génétique des gènes impliqués dans la tolérance au stress salin chez *Medicago*.

**Mots clés:** *Medicago*, stress salin, isoenzymes, estérase, Algérie.

### EFFECT OF SALT STRESS ON VARIATION OF ESTERASE ISOENZYMES OF TWO CONTRASTING GENOTYPES OF *MEDICAGO*

**Abstract.**- The activity of the esterases which is related to the physiological and metabolic stage of the plant cell, can be affected by the environmental factors such as the salt stress. Our study was carried on the native electrophoresis of the esterases isoenzymes, on two ecotypes from two different species of *Medicago*, the tolerant from *M. truncatula* Gaertn and the sensitive one from *M. polymorpha* L. The study of the synthesis of esterases isozymes during germination of seeds under different salt concentration of salinity 0, 68, 102 and 137 mM, showed a specific quantitative and qualitative variations of isoenzymes synthesis, between the two contrasting. This biochemical polymorphism of esterases isoenzymes, can be explained by the genetic polymorphism of genes involved in salt stress tolerance in *Medicago*.

**Key words:** *Medicago*, salt stress, germination, isoenzymes, esterase, Algeria

### Introduction

Les espèces annuelles du genre *Medicago* jouent un rôle important dans l'amélioration de la production fourragère. Elles sont souvent utilisées dans les systèmes de rotation, céréales-luzernes, se régénèrent par auto-semis et permettent le maintien de la fertilité du sol grâce à leur capacité fixatrice d'azote atmosphérique. Le stress salin constitue l'un des facteurs limitant de la productivité et la distribution de ces plantes dans les zones arides et semi-arides. Les estérases (E.C.3.1.1.2) appartiennent au groupe des hydrolases; leur activité est liée au stade physiologique et métabolique de la cellule et peut-être affectée par les facteurs environnementaux tels que la température, le stress hydrique, le stress salin et les agents polluants. La salinité qui est causée par le stress hydrique altère l'expression des gènes, diminue la synthèse des protéines et/ou augmente l'hydrolyse des

protéines, ce qui réduit la croissance de la plante [1]. Les profils des isoenzymes d'estérase chez les plantes supérieures diffèrent entre les tissus et les différents stades physiologiques [2].

Le présent travail, a pour but de déterminer comment le stress salin peut influencer sur les changements des profils de synthèse des isoenzymes d'estérase chez deux génotypes appartenant à deux espèces annuelles du genre *Medicago*, l'un jugé tolérant chez *M. truncatula* Gaertn et l'autre sensible chez *M. polymorpha* L. [3].

## 1.- Matériels et Méthodes

### 1.1.- Condition de germination des graines

Un lot de graines de deux écotypes appartenant au genre *Medicago*, Tru 42 et Pol 248, fournis par l'école nationale agronomique d'El Harrach, Alger, sont désinfectées, scarifiées puis mises à germer à l'obscurité durant dix jours en boîte de Pétri fermées, et tapissées avec du papier filtre, imbibées avec le milieu correspondant, dans une étuve à une température de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Les graines sont imbibées avec des solutions de différentes concentrations de NaCl (0, 68, 102 et 137 mM), qui correspondent aux traitements ( $T_0$ ,  $T_1$ ,  $T_2$  et  $T_3$ ), respectivement.

### 1.2.- Préparation des extraits isoenzymatiques d'estérase

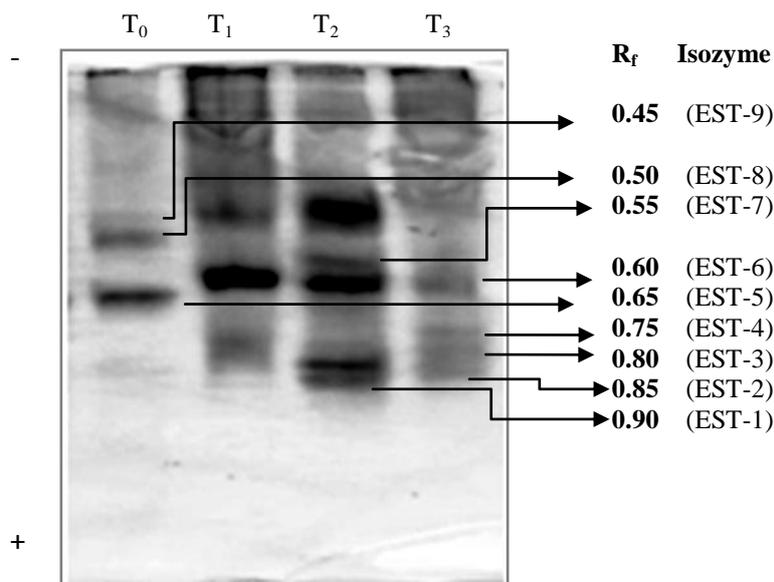
L'extraction des isoenzymes d'estérase à partir des jeunes plants, est menée à froid dans un mortier en présence de sable et de tampon Tris-KCl à pH = 7. Les extraits sont soumis ensuite à une centrifugation à froid à  $4^\circ\text{C}$  pendant 20 mn, à une vitesse de 13000 tours/ mn. La conservation des extraits a lieu dans un cryoconservateur contenant de l'azote liquide [4].

### 1.3.- Électrophorèse native sur gel de polyacrylamide

La migration s'effectue sur un gel continu de polyacrylamide à 8%, dans du tampon Tris Borate EDTA à pH = 8.3. Le tampon cuve est constitué de tampon gel dilué 10 fois. La migration se déroule à  $5^\circ\text{C}$  pendant 6 h sous une intensité constante de 30 mA et une tension de 150 V. La révélation s'effectue dans une solution contenant du phosphate disodique 0.1M à pH = 6.2, après l'ajout d'un substrat  $\alpha$  naphthyl butyrate 1%, mélangé avec de l'acétone et du Fast Blue RR salt. Après révélation les gels sont séchés et conservés [5].

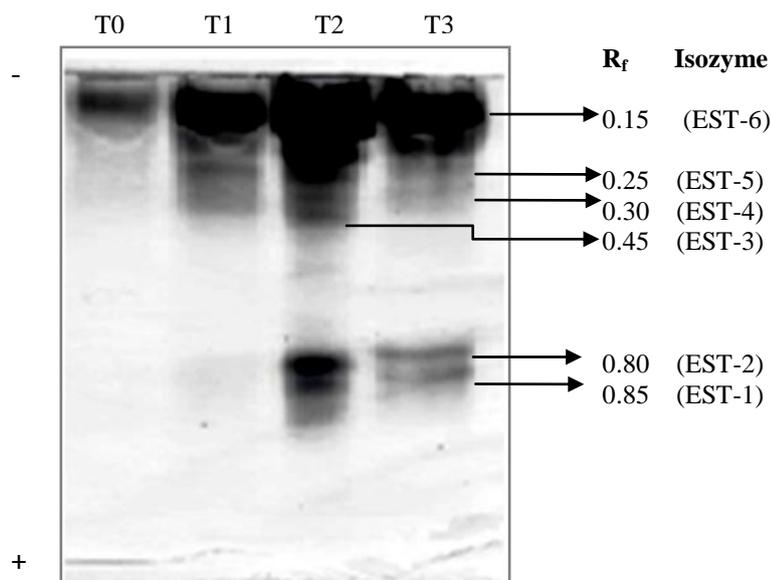
## 2.- Résultats et discussion

Les figures 1 et 2, représentent les profils du système estérase (EST) chez l'écotype jugé tolérant Tru 42 et l'écotype moins tolérant Pol 248 en condition témoin ( $T_0$ ) et sous différentes concentrations de chlorure de sodium  $T_1$ ,  $T_2$  et  $T_3$ . Afin de faciliter l'interprétation des profils, chaque bande représente un isozyyme qui est identifiée par son  $R_f$ , ainsi que son intensité qui représente le niveau d'expression de cet isozyyme.



**Figure 1.-** Profil électrophorétique d'isoenzymes d'estérase chez le génotype tolérant Tru 42 de *M. truncatula* Gaertn

L'analyse du profil isoenzymatique chez le génotype tolérant Tru 42 (fig. 1), montre qu'en conditions témoins, il y a présence de trois isozymes avec des expressions différentes selon l'intensité des bandes, de la moins forte (EST-9), moyennement forte (EST-8) à la plus intense (EST-5). Au traitement T<sub>1</sub>, il existe trois isozymes dont deux sont de faible expression (EST-9 et EST-4) et deux autres avec une forte synthèse (EST-6 et EST-4), nouvellement apparus par rapport au témoin. Au traitement T<sub>2</sub>, six bandes d'isozyme sont identifiés, trois d'entre eux sont de fortes expressions, il s'agit des isozymes (EST-9, EST-6) et un nouvel isozyme (EST-4). Les trois autres nouveaux isozymes de faibles synthèses sont (EST-7, EST-3 et EST-1). Au traitement T<sub>3</sub>, cinq isozymes de très faibles expressions ont été observées (EST-9, EST-6, EST-4, EST-3 et EST-2), avec la disparition de deux isozymes (EST-8 et EST-5) ce qui donne l'apparition de quatre isozymes par rapport au témoin. En général et par rapport au témoin, il y a disparition de deux isozymes (EST-8 et EST-5) et apparition de deux nouveaux isozymes (EST-7 et EST-1) seulement au traitement T<sub>2</sub>. De plus il y a une augmentation de la synthèse de l'isozyme (EST-9) par rapport au traitement T<sub>1</sub>. L'examen du profil du même système enzymatique du génotype le moins tolérant Pol 248 (fig. 2), montre qu'en condition témoins, il existe un seul isozyme (EST-6) avec une expression moyenne. Au traitement T<sub>1</sub>, deux isozymes sont présents, l'une à forte expression (EST-6) et un nouvel isozyme (EST-5) de faible expression. Au traitement T<sub>2</sub>, six bandes d'isozymes sont observés, trois d'entre eux sont de fortes intensités (EST-1, EST-2 et EST-6), un isozyme moyennement exprimé (EST-5) et deux autres isoenzymes de faible expression (EST-3 et EST-4). Donc cinq nouveaux isozymes apparus pour au traitement T<sub>2</sub> par rapport au témoin. Au traitement T<sub>3</sub>, cinq bandes d'isozymes sont notées avec une très faible synthèse (EST-1, EST-2, EST-4, EST-5 et EST-6).



**Figure 2.-**Profil électrophorétique d'isoenzymes d'estérase chez le génotype sensible Pol 248 de *M. polymorpha* L.

En résumé et par rapport au témoin, il y a apparition de cinq nouvelles isoenzymes avec une forte expression au traitement T<sub>2</sub>. La comparaison des deux profils d'isoenzymes d'estérase entre les deux génotypes, montre qu'il y a un changement dans l'expression de ces isoenzymes et ceci par l'apparition ou la disparition des bandes, cependant l'augmentation de leur intensité, représente l'augmentation de l'activité enzymatique qui est influencée par le stress salin [6].

Les profils électrophorétiques des isoenzymes d'estérase ont montré des différences dans le nombre et l'intensité des bandes entre les échantillons témoins et traités chez les deux génotypes étudiés. En conditions témoin, les profils sont caractérisés par l'apparition de trois formes d'isoenzymes d'estérase (EST-5, EST-8 et EST-9) chez le génotype tolérant de *M. truncatula*, et une seule forme d'isozyme (EST-6) chez le génotype moins tolérant de *M. polymorpha*. À une concentration de 68 mM de chlorure de sodium (T<sub>1</sub>), le génotype tolérant exprime un nouvel isozyme (EST-6), tandis que le génotype sensible exprime un nouvel isozyme (EST-5), donc une seule variation qualitative pour les deux génotypes, ces nouveaux isoenzymes jouent un rôle important dans la défense cellulaire contre le stress oxydatif, causé par le stress salin [7]. La concentration de 102 mM (T<sub>2</sub>) a causé une augmentation dans la synthèse de nouveaux isoenzymes d'estérase chez les deux génotypes par rapport au témoin, mais cette augmentation est plus élevée chez le génotype moins tolérant de *M. polymorpha* avec la synthèse de quatre nouveaux isoenzymes (EST-1, EST-2, EST-3 et EST-4), probablement pour mieux tolérer au stress salin, alors que pour le génotype tolérant seulement trois nouveaux isoenzymes (EST-1, EST-2 et EST-7). Cette même analyse a été détectée chez le Maïs en réponse à la salinité [7]. Les isoenzymes nouvellement synthétisés sont probablement des isoenzymes de stress appartenant à une famille d'enzymes permettant un maintien à un niveau normal la physiologie des cellules ainsi que leur métabolisme biochimique [8]. A une concentration élevée en sel qui est de 137 mM (T<sub>3</sub>), les profils montrent clairement des variations quantitatives et qualitatives des isoenzymes d'estérase spécifique pour chaque génotype. Chez le génotype le moins tolérant, il y a surtout des variations quantitatives par la diminution de l'intensité des

bandes d'isozymes et par conséquent, une diminution de l'activité enzymatique, alors que chez le génotype tolérant de *M. truncatula*, les variations qualitatives sont beaucoup plus prononcées et ceci par la disparition et l'apparition de certaines formes isoenzymatiques; ces isoformes d'estérases sont très variables en fonction des espèces et des écotypes et beaucoup plus en fonction des stades de développement [9]. Ainsi le changement dans l'expression de ces isozymes suggère que les gènes impliqués dans la synthèse de certaines formes de ces isoenzymes sont activées et régulées d'une façon différentielle sous les conditions de stress hydrique [10]. L'expression de ces gènes, est influencée par différents facteurs environnementaux tel que les stress salin [11]. D'ailleurs la tolérance au stress chez les plantes, a été considérée comme un trait multigénique qui dépend de l'interaction entre les différents gènes [12].

## Conclusion

L'étude de la synthèse des isoenzymes d'estérases au cours du processus germinatif des graines de *Medicago*, en condition témoin et durant le stress salin, a permis de mettre en évidence des variations quantitatives qui sont beaucoup plus prononcées chez le génotype moins tolérant Pol 248 de l'espèce *M. polymorpha* par rapport au génotype tolérant Tru 42 de l'espèce *M. truncatula*, ce dernier, présente des variations qualitatives importantes. L'expression différentielle des gènes responsables de la synthèse des isoenzymes d'estérases, pourrait bien expliquer ces résultats. En utilisant les marqueurs moléculaires, il est possible de localiser les gènes impliqués dans la tolérance au stress salin chez *Medicago*, afin de sélectionner les génotypes les plus tolérants en vue de leur utilisation agricole. Ceci permettra d'augmenter la productivité fourragère dans les zones arides et semi arides.

## Remerciements

Ma grande gratitude à Professeure Fyad Lamèche F-Z pour l'élaboration de la technique d'électrophorèse au sein de son laboratoire à l'université d'Oran 1. Je remercie Professeur A. Abdelguerfi de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger pour l'apport du matériel végétal nécessaire pour cette étude.

## Références bibliographiques

- [1].- Cherian S. and Reddy M. P., 2003.- Evaluation of NaCl tolerance in the callus cultures of *Suaeda nudiflora* Moq. *Biologia Plantarum*, 46: 139-198.
- [2].- Tanksley S. D. AND Rick C. M., 1980.- Genetics of esterases in species of *lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics*, 26: 209-219.
- [3].- Amouri A. A, Fyad-Lamèche F. Z., 2012.- Comparative analysis of salinity tolerance of the male gametophyte and the sporophyte in *Medicago* at the germination stage. *Acta botanica Malacitana*, 37: 93-102.
- [4].- Iglesias L. H., Lim A. and Simon L. P., 1974.- Isozyme identification of zygotic and nuclear seedlings in citrus. *J. Hered*, 65: 81-84.
- [5].- Posvec, Z. and Griga M., 2000.- Utilization of isozyme polymorphism for cultivar identification of 45 commercial peas (*Pisum sativum* L.). *Euphytica*, 113: 251-258.

- [6].- Hassaein A. M., 1999.- Alteration in protein and esterase pattern of peanut in response to salinity stress. *Biologia plantarum*, 42: 241- 248.
- [7].- Mohamed A. A., 2005.- Two-dimensional electrophoresis of soluble protein and profile of some isozyme isolated from Maize plant in response to NaCl. *Research journal of Agriculture and biological sciences* 1, 1: 38-44.
- [8].- Zhang J.S., Xie C. and Liu F., 1999.- A novel tobacco gene coding for a product similar to bacterial two component regulators. *Chinese Science Bulletin*, 44, 11, 1025 p.
- [9].- Fyad Lameche F. Z., 1999.- Polymorphisme des isoenzymes et des protéines de réserves des graines de population naturelles d'espèces annuelles de *Medicago* en relation avec le système de reproduction. Thèse de doctorat d'état en amélioration des plantes. Université d'Oran Es Senia, Algérie, 194 p.
- [10].- El Tayeb M. A. and Hassaien A. M., 2000.- Germination, seedling growth, some organic solutes and peroxides expression of different *Vicia faba* lines as influenced by water stress. *Acta agronomica hungarica*, 48: 11-20.
- [11].- Foolad M. R., 2004.- Recent advances in genetics of salt tolerance in tomato. *Plant Cell, tissue and organ culture*, 76: 101-119.
- [12].- Hare P. D., Du Plessis S. and Cress W. A., Van Staden J., 1996.- Stress-induced changes in plant gene expression. *South African Journal of Science*, 92: 431-439.

## CHEMICAL COMPOSITION AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF *Myrtus communis* L. ESSENTIAL OIL

TOUAIBIA Meriem

*Laboratoire de biotechnologie, environnement et santé. Université Blida-1*

E-mail: [biomeriem@hotmail.com](mailto:biomeriem@hotmail.com)

**Abstract.-** *The aim of this study is to evaluate the chemical composition and the anti-inflammatory activity of the common myrtle essential oil (Myrtus communis L.). The essential oil composition of Myrtus communis L. extracted by steam distillation, was characterized by a high oxygenated monoterpene fraction (80.9%). The major components were myrtenyl acetate (38.7%), 1,8-cineole (12.7%),  $\alpha$ -pinene (13.7%) and linalool (7.00%). For the anti-inflammatory essay, five different groups were established and the essential oil was administered orally in three different doses. The common myrtle essential oil (100 mg/kg) was able to significantly reduce the paw edema with a comparable effect to that observed with Diclofenac (positive control). This is the first report to demonstrate a significant anti-inflammatory activity of Algerian common myrtle essential oil*

**Key words:** *Myrtus communis L., essential oil, composition, anti-inflammatory activity*

### COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE L'ESPECE *Myrtus communis* L.

**Résumé.-** *L'objectif de cette étude consiste à évaluer la composition chimique et l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de myrte commun (Myrtus communis L.). La composition de l'huile essentielle de Myrtus communis L. extraite par distillation à la vapeur, a été caractérisée par une fraction élevée de monoterpènes oxygénés (80,9%). Les principaux composants sont l'acétate de myrtényle (38,7%), 1,8-cinéole (12,7%),  $\alpha$ -pinène (13,7%) et le linalool (7,00%). Pour le test anti-inflammatoire, cinq groupes différents ont été mis en place et l'huile essentielle a été administrée par voie orale en trois doses différentes. L'huile essentielle de myrte commun (100 mg / kg) a été en mesure de réduire significativement l'œdème de la patte avec un effet comparable à celle observée avec le Diclofénac (contrôle positif). Ce rapport est le premier à démontrer une activité anti-inflammatoire significative d'huile essentielle de myrte commun algérien.*

**Mots clés:** *Myrtus communis L., huile essentielle, la composition, l'activité anti-inflammatoire*

### Introduction

Commercially available anti-inflammatory drugs exert a wide range of side effects and are either too potent or too weak. Consequently, the search for new anti-inflammatory compounds has been a priority for the pharmaceutical industry. Medicinal plants continue to be an important source of new chemical substances with potential therapeutic effects [1].

Many natural products have been tested in various animal models for the development of new anti-inflammatory agents. Plant essential oils (EO) are used as folk medicines against different inflammatory diseases. Some of them have been scientifically shown to possess medicinal properties, including anti-inflammatory activities [2].

In Algeria, the use of medicinal plants as anti-inflammatory drugs is a common practice, although in most cases the active principles of the plants are unknown. Therefore,

the study of plant species should still be seen as a logical research strategy, in search for new anti-inflammatory drugs. The variety of climatic and geographic conditions in Algeria provides a rich source of vegetation, comprising many species of plants. Among these plants, the common myrtle, which belongs to the Myrtaceae family, it is a medicinal plant endemic to the Mediterranean area and it has been used by locals for its culinary and medicinal properties since antiquity [3]. The common myrtle essential oil (CMEO) is extracted from the fresh leaves and stems of this plant by steam distillation. This essence is composed of various chemical constituents such as cineole,  $\alpha$ -pinene and other oxygenated monoterpenes [4, 5].

The common myrtle is one of the most fragrant species and its essential oil is used in the perfumery and cosmetics industry [6, 7]. It is also used as a flavoring agent and as a spice. Further, the essential oil of this plant is non-toxic, non-irritant, generally non-sensitizing, and it is not known to cause any other side effects [8]. The therapeutic properties of this essence include being an antiseptic and wound-healing [9, 10]. It may also be one of the best oils for several dermatological problems such as dry or congested skins, eczema, and dermatitis [11].

Presently, there are no published scientific data to validate the popular claims of the anti-inflammatory effect of this plant. The purpose of the present study was to evaluate the anti-inflammatory activity of the CMEO. In addition, we identify of the various constituents of this essential oil analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

## 1.- Materials and methods

### 1.1.- Plant material and essential oil extraction

Aerial parts of common myrtle were collected in July 2013 during the flowering stage in Zaccar region (table I). The plant was identified as at the botanical laboratory of The National Institute of Agronomy (Algiers). The freshly-cut aerial parts were submitted to a steam distillation, using a *Clevenger* type apparatus during 3 hours. The essential oil obtained was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and stored in dark glass bottles at +4°C.

**Table I.-** Geographical coordinates of the harvesting site

Area	Localisation	Altitude	Latitude	Longitude	Bioclimatic floor
Zaccar	Ain Defla	522 m	36°18' North	2°16' East	Semi-arid

### 1.2.- Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS) analysis

The GC/MS analysis was performed on an HP 5972 mass spectrometer (Agilent technologies, California, USA) with electron impact ionization (70 eV). An HP-5MS capillary column (30 m, 0.25 mm coated with 5% phenyl methyl silicone, 95% dimethylpolysiloxane, 0.25  $\mu$ m film thickness) was used. Oven temperature was programmed to rise from 50 to 240°C at a rate of 5°C/min, transfer line temperature was 250°C. The carrier gas was Helium with a flow rate of 1.2 ml/min and a split ratio of 60:1. Scan time and mass range were 1 s and 40-300 m/z, respectively.

The identification of volatile components was assigned by comparison of their retention indices (RI) with those of literature or with those of authentic compounds available in the authors' laboratory. Further identification was made by matching their recorded mass spectra with those stored in the Wiley/NBS mass spectral library of the GC/MS data system and other published mass spectra [12]. Determination of the percentage composition was based on peak area normalization without using correction factors.

### 1.3.- Experimental animals

Carrageenan-induced paw edema was carried out on male Swiss mice (25-30 g). Male animals were purchased from the laboratory of toxicology of Antibiotic Company (Medea, Algeria) and were housed in groups of six per standard cage, on a 12 h light/dark cycle with free access to food and water. They were acclimatized to laboratory conditions for at least 1 week before testing. The food was withdrawn on the day before the experiment, but free access to water was allowed. A minimum of six animals was used in each group.

### 1.4.- Determination of median lethal dose (LD<sub>50</sub>)

LD<sub>50</sub> of the CMEO was estimated in mice by using the method of HILAN *et al.* (2009) [13]. In a preliminary test, animals in groups of three received 10, 100, or 1000 mg/kg of CMEO suspended in the vehicle (1% v/v Tween 80). Animals were observed for 24 h to register any signs of toxicity and number of deaths. The LD<sub>50</sub> was calculated as the geometric mean of the dose that resulted in 100% mortality and that which caused no deaths.

### 1.5.- Anti-inflammatory assay: Carrageenan-induced paw edema in mice

The anti-inflammatory activity was evaluated by the carrageenan-induced paw edema test [14]. Paw edema was induced by injecting 0.1 ml of the carrageenan 1% suspension in isotonic saline (w/v) into the sub-plantar region of the left hind paw of the mouse.

CMEO doses of 100, 200, or 400 mg/kg and vehicle (0.2% Tween 80 in 0.9% NaCl) were administered (0.5 ml per animal) orally (per os) 30 min before injection of the edematogenic agent to different groups of mice for each treatment ( $n=6$  per group). Diclofenac sodium dissolved in 0.9% NaCl (50 mg/kg, oral) was used as a reference drug. Paw thickness was measured before the application of the inflammatory substance and every 30 min for 4 h after induction of inflammation. The difference in footpad thickness was measured by a gauge calliper (Facom, France).

Mean values of treated groups were compared with those of control group (vehicle) and analyzed statistically. The data obtained for the various groups are reported as means  $\pm$  standard deviation (SD) and expressed in mm. The percentage inhibition of the inflammatory reaction was determined for each animal by comparison to the controls and calculated by the formula:

$$I(\%) = \left[ 1 - \frac{\Delta(PV)_t}{\Delta(PV)_c} \right] \times 100$$

Where  $I$  (%) = percentage inhibition of edema,  $(\Delta PV)_t$  = the change in paw volume in the treated mice, and  $(\Delta PV)_c$  = the change in paw volume in the control mice.

## 1.6.- Statistical analysis

Results of the paw edema of the mice are reported as mean  $\pm$  SD. Comparison between groups was made by one-way analysis of variance (ANOVA). Differences with  $P < 0.05$  were considered statistically significant. Statistical data analysis was determined using XLStats 2013 statistical software (Addinsoft, France).

## 2.- Results and discussion

### 2.1.- Chemical composition of the common myrtle essential oil

The EO was obtained by steam distillation from fresh aerial part of the common myrtle. The CMEO obtained is a yellowish-green liquid. It has a strong camphred odor.

The EO was obtained with a yield of 0.195% (v/w). It seems to be less than that reported by AYDIN and OZCAN (2007) [15]. It didn't vary significantly with seasons as reported by JAMOSSI *et al.* (2005) [16].

Essential oils are odorous and volatile compounds found only in 10% of the plant kingdom [17]. Essential oils and their components can be very promising biological agents, because of their relative safety, wide acceptance by consumers and exploitation for potential multipurpose use [18]. They are stored in plants in special brittle secretory structures, such as glands, secretory hairs, secretory ducts, secretory cavities or resin ducts [19-25].

The total essential oil content of plants is generally very low and rarely exceeds 1% by mass [26]. For example, the essential oil yields in leaf, stem and flower of *M. communis* were respectively 0.61%, 0.08% and 0.30% (w/w) [27]. Essential oils are hydrophobic and thus only slightly soluble in water. They are soluble in alcohol, non-polar or weakly polar solvents, waxes and oils. Most essential oils are colorless or pale yellow, liquid and have lower density than water [28, 29]. Essential oils are complex mixtures comprising many various compounds.

The data presented in table 2 demonstrated that CMEO is characterized by a high monoterpen percentage (80.9%) as the most important components. However, our results diverge from those published by other studies [30]. The main compounds identified in this essential oil were myrtenyl acetate (38.7%), 1,8-cineole (12.7%),  $\alpha$ -pinene (13.7%), and linalool (7.00%).

The chemical profile of this sample has to be classified in the chemotype group of Myrtenyl acetate/ $\alpha$ -pinene proposed by BRADESI *et al.* (1997) [5]. However, the chemical composition of the CMEO differs from those reported in previous studies [31, 32, 33, 27, 34], it could be due to a number of factors, including the geo-climatic locations and growing conditions, including concentration of nutrients, temperature, humidity, soil type, day length, climate, altitude and the amount of available water. The chemical composition also depends on season or vegetative period of plant, i.e. before or after flowering [35-37].

**Table II.-** Chemical profile of the CMEO extracted by steam distillation  
 [RI\* (retention indices) were calculated on the HP-5 MS  
 column relative to C7-C28 n-alkanes.]

	Compounds	R*	Content %
1	Isobutyl isobutyrate	898	3.00
2	$\alpha$ -thujene	936	0.30
3	$\alpha$ -Pinene	941	13.7
4	<i>B-pinene</i>	975	0.10
5	$\delta$ -3-carene	988	0.10
6	Myrcene	990	0.30
7	$\delta$ -terpinene	1050	0.10
8	Sabinene	970	0.50
9	Limonene	1025	Tr
10	E-ocimene	1038	0.10
11	A-terpinolene	1083	0.20
12	1,8-cineole	1027	12.7
13	Linalool	1098	7.00
14	Tras-pinocarveol	1131	0.20
15	Terpinen-4-ol	1171	0.20
16	A-terpineole	1186	1.80
17	Myrtenol	1191	3.50
18	Linalyl acetate	1258	2.50
19	Trans-pinocarveyl acetate	1297	0.70
20	Myrtenyl acetate	1322	38.7
21	P-menth-1-en-8-ol acetate	1347	0.39
22	Neryl acetate	1366	2.00
23	Geranyl acetate	1384	0.40
24	Trans-cryophyllene	1412	0.20
25	A-humulene	1447	0.31
26	Caryophyllene oxide	1576	0.50
27	Humulene epoxide	1588	1.30
<i>Monoterpene</i>			
Oxygenated monoterpene			70.1%
Monoterpene hydrocarbons			10.8%
<i>Sesquiterpene</i>			
Oxygenated sesquiterpene			4.49%
Sesquiterpene hydrocarbons			5.41%
<i>Total identified</i>			90.8%
<i>Oil yield</i>			0.195%

According to these factors, plant biosynthetic pathways can change the relative proportion of the primary oil components. These variations in chemical composition led to the notion of chemotypes, which are generally defined as a distinct population within the same species that produces different chemical profiles for a particular class of secondary metabolites [17].

There are different essential oil chemotypes which can distinguish myrtle oil of different origins, as well as seasonal variations throughout the vegetative cycle of plants [5, 38, 39, 30]. Thus, the same species of plant can produce a similar essential oil, but with different composition and therapeutic activities. Essential oil composition also depends on

the plant parts used for oil preparation.

## 2.2.- Determination of median lethal dose (LD<sub>50</sub>)

The CMEO did not cause any mortality in the mice in doses up to 1000 mg/kg. Therefore, we suggest that oral LD<sub>50</sub> of the tested volatile oil is higher than 1000 mg/kg. Thus, this oil can be considered as highly safe. Myrtle oils were granted GRAS status (Generally Recognized As Safe) and approved by the US Food and Drug Administration (FDA) for food use [40].

## 2.3. Anti-inflammatory activity of the common myrtle essential oil

The anti-inflammatory effect of EO was evaluated in carrageenan-induced paw edema test in mice, an animal model widely employed to assess the anti-edematogenic effect of natural products. Carrageenan is commonly used as a phlogistic (inflammation-inducing) agent. The resulting signs and symptoms of inflammation can be measured as an increase in paw thickness due to the edema.

The anti-inflammatory effect of the CMEO was evaluated in the paw edema model ( $n=6$  per group). As shown in Table 3, the oral administration of EO at doses of 100, 200 and 400 mg/kg resulted in approximately 30.71, 38.44 and 72.90% reduction in paw edema respectively. Furthermore, the inhibition of paw edema resulting from a 100 mg/kg EO dose was not significantly different from that of positive control (50 mg/kg) (72.90% vs 80.70% respectively). This is the first demonstration that oral administration of common myrtle essential oil produces significant anti-inflammatory effects.

**Table III.-** Effect of the CMEO on carrageenan-induced paw edema test in mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Thickness of the left hind paw (mm), mean±SD	Inhibition of paw edema (%)
Negative control	20	3.3±0.21	–
Common myrtle essential oil	400	3.0±0.17	30.71
	200	2.88±0.14	38.44
	100	2.81±0.12	72.90
Positive control (Diclofenac)	50	2.76±0.10	80.70

Groups of mice were pre-treated with vehicle (control group, 20 mg/kg,  $n = 6$ ), Diclofenac (50 mg/kg) or common myrtle essential oil at doses of 100, 200 and 400 mg/kg  $n = 6$ /group, 30 min before carrageenan-induced paw edema.

Attempts have been made to identify the component(s) responsible for such bioactivities [41]. Some plant constituents, particularly alcohol terpenoids, have been reported to be useful in the management of inflammatory processes [41, 42]. Our results are in agreement with those reported in the literature for other EOs rich in monoterpenic alcohol and showing a very strong anti-inflammatory effect. Further, the major constituents of the oil, namely  $\alpha$  pinene, myrtenyl acetate and 1,8 cineole, were previously shown to possess anti-inflammatory activities [43, 44].

## Conclusion

The common myrtle essential oil is used as an antimicrobial agent in folk medicine as well as a food preservative. The results of our present study give strong impulsion to consider the CMEO as a potentially useful anti-inflammatory substance to prevent inflammatory skin diseases. In addition, the study of the chemical constituents of CMEO might accelerate the development of new and safe anti-inflammatory drugs.

**Acknowledgement:** I wish to express our gratitude to all people having shared with us their knowledge, for their encouragement and support.

## References

- [1].- Mahdi E. J., 2013.- Aspirin and its related non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Libyan J of Medecine*, 8: 21569.
- [2].- Suntar I., Tumen I., Ustun O., Keles H. and Akkol E. K., 2012.- Appraisal on the wound healing and anti-inflammatory activities of the essential oils obtained from the cones and needles of *Pinus* species by *in vivo* and *in vitro* experimental models. *Journal of Ethnopharmacol*, 139: 533-540.
- [3].- Atzei A. D., 2003.- La piante nella tradizione popolare della Sardegna. Carlo Delfino Editore. Sassari, Italy: 319-323.
- [4].- Porter N., 2001.- Essential oils and their production. *Crop and food res.*, 39: 32-38.
- [5].- Bradesi J., Casanova J., Costa J. and Bernardini A. F., 1997.- Chemical composition of myrtle leaf oil from Corsica. *J Essential oil research*, 9: 283-288.
- [6].- Karamanoglu K., 1972.- Pharmaceutic botanic. Ankara Univ. Ecz. Fac. Yay. In: Aydin C. and Ozcan M.M. Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *Journal of Food engineering*, 79:453-458.
- [7].- Dogan A. *Myrtus communis* L. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yay. 1978 In : Aydin C. and Ozcan. M.M. Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *J food engineering*, 79:453-458. 2007
- [8].- Goetz P. and Ghedira K., 2012.- *Phytotherapie anti-infectieuse*. Edition Springer Science and Business, 318 p.
- [9].- Kashman Y., Rotstein A. and Lifshitz A., 1974.- The structure determination of two new acylpholoroglucinols from *Myrtus communis*. *Tetrahedron let*, 30: 991-997.
- [10].- Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M. and Trotin F., 1980.- *Plantes médicinales des régions tempérées*“.Edition Maloine. Paris. 413 p.
- [11].- Touaibia M., 2011.- Contribution à l'étude de deux plantes medicinales: *Myrtus communis* L. et *Myrtus nivellei* Batt et Trab. obtenues In Situ et In Vitro. Thèse de Magister en sciences biologiques. Université SAAD DAHLEB de BLIDA, 221 p.

- [12].- Adams P. P., 2004.- Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy. Illinois: Allured Publishing Corporation.
- [13].- Hilan C., Bouaoun D., Aoun J., Sfeir R. and Garabeth F., 2009.- Antimicrobial properties and toxicity by LD50 determination of an essential oil of *Prangosa sperula* Boissier. *Phytothérapie*, 7: 8-14.
- [14].- Winter C. A., Risley E. A. and Nuss G. W., 1962.- Carrageenin induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1:544-547.
- [15].- Aydin C. and Ozcan M. M., 2007.- Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *Journal of food engineering*, 79:453-458.
- [16].- Jamoussi B., Romthane M., Abderraba A., Hassine B. and Gardi A., 2005.- Effect of harvest time on the yeild and composition of Tunisien Myrtle oils. *Flavour and fragrance Journal*, 20: 274-277.
- [17].- Djilani A. and Dicko A., 2012.- Nutrition, well being and health, chapter7: The Therapeutic Benefits of Essential Oils. Edition Torsten Bohn, 224 p.
- [18].- Ormancey X., Sisalli S. and Coutiere P., 2001.- Formulation of essential oils in functional perfumery. *Parfums, Cosmétiques, Actualites*, 157:30-40.
- [19].- Ahmadi L., Mirza M. and Shahmir F., 2002.- The volatile constituents of *Artemisia marschaliana* Sprengel and its secretory elements. *Flavour Fragrance J*, 17:141-143.
- [20].- Bezić N., Šamanić I., Dunkić V., Besendorfer V. and Puizina J., 2009.- Essential Oil Composition and Internal Transcribed Spacer (ITS) Sequence Variability of Four South-Croatian *Satureja* Species (Lamiaceae). *Molecules*, 14: 925-938.
- [21].- Ciccarelli D., Garbari F. and Pagni A. M., 2008.- The flower of *Myrtus communis* (Myrtaceae): Secretory structures, unicellular papillae, and their ecological role. *Flora*, 203: 85-93.
- [22].- Gershenzon J., 1994.- Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. *J Chemical Ecology*, 20: 1281-1328.
- [23].- Liolios C.C., Graikou K., Skaltsa E. and Chinou I., 2010.- Dittany of Crete: A botanical and ethnopharmacological. *Journal of Ethnopharmacol*, 131: 229-241.
- [24].- Morone-Fortunato I., Montemurro C., Ruta C., Perrini R., Sabetta W., Blanco A., Lorusso E. and Avato P., 2010.- Essential oils, genetic relationships and in vitro establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) ssp. *italicum* from wild Mediterranean germplasm. *Industrial Crops and Products*, 32: 639-649.
- [25].- Sangwan N. S., Farooqi A. H. A., Shabih F. and Sangwan R. S., 2001.- Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, 34:3-21.

- [26].- Bowles E. J., 2003.- The Chemistry of Aromatherapeutic Oils. 3<sup>rd</sup> Edition Griffin Press, 234 p.
- [27].- Aidi Wannes W., Mhamdi B., Sriti J., Ben Jemia M., Ouchikh O., Hamdaoui G., Kchouk M.E. and Marzouk B., 2010.- Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* L.) leaf, stem and flower. Food and Chemical Toxicology, 48: 1362-1370.
- [28].- Gupta V., Mittal P., Bansal P., Khokra S. L. and Kaushik D., 2010.- Pharmacological Potential of *Matricaria recutita*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 2: 12-16.
- [29].- Martín A., Varona S., Navarrete A. and Cocero M. J., 2010.- Encapsulation and Co-Precipitation Processes with Supercritical Fluids: Applications with Essential Oils. The Open Chemical Engineering Journal, 4: 31-41.
- [30].- Gardeli C., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T. and Komaltis M., 2008.- Essential oil of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. Food chemistry, 107:1120-1130.
- [31].- Koukos P.K., Papadopoulou K. I., Papagiannopoulos A. D. and Patiaka D. T. H., 2001.- Chemicals from Greek forestry biomass : constituents of the leaf oil of *Myrtus communis* grown in Greece. J Essential oil research, 13:245-246.
- [32].- Yadegarinia D., Gachkar L., Rezaei M. B., Taghizadeh M., Astaneh S. A. and Rasooli I., 2006.- Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L, essential oils. Phytochemistry, 67: 1249-1255.
- [33].- Özek T., Demirci B. and Baser K. H. C., 2000.- Chemical Composition of Turkish Myrtle Oil. J Essential Oil Research, 12: 541-544.
- [34].- Messaoud C., Chograni H. and Boussaid M., 2012.- Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula* L. species. J Natural Product Research, 26: 1976-1984.
- [35].- Andrade E. H. A., Alves C. N., Guimarães E. F., Carreira L. M. M. and Maia J. G. S., 2011.- Variability in essential oil composition of *Piper dilatatum* L.C. Rich. Biochem. Syst. Ecol, 39: 669-675.
- [36].- Deans S. G., Svoboda K. P., Gundidza M. and Brechany E. Y., 1992.- Essential oil profiles of several temperate and tropical aromatic plants: their antimicrobial and antioxidant activities. Acta Hort, 306: 229-232.
- [37].- Sangwan N. S., Farooqi A. H. A., Shabih F., Sangwan R. S., 2001.- Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regul, 34:3-21.
- [38].- Chalchat J. C., Garry R. P. and Michet A., 1998.- Essential oil of myrtle (*Myrtus communis* L.) of the mediterranean littoral. J Essential oil research, 10:613-617.

- [39].- Flamini G., Luigi Cloni P., Morelli I., Maccioni S. and Baldini R., 2004.- Phytochemical typologies in some populations of *Myrtus communis* L. on Caprione promontory (East Liguria, Italy). *Food chemistry*, 85:599-604.
- [40].- Lis-Balchin M., 2002.- *Geranium and Pelargonium: the genera Geranium and Pelargonium*. CRC Press, Taylor and Francis, London, 298 p.
- [41].- Su Y. W., Chao S. H., Lee M. H., Ou T. Y. and Tsai Y. C., 2010.- Inhibitory effects of citronellol and geraniol on nitric oxide and prostaglandin E<sub>2</sub> production in macrophages. *Plant Med*, 76:1666-1671.
- [42].- Pérez G. S., Zavala S. M., Arias G. L. and Ramos L. M., 2011.- Anti-inflammatory activity of some essential oils. *J Essent Oil Res*, 23:38-44.
- [43].- Abe S., Maruyama N., Hayama K., Inouye S., Oshima H., Yamaguchi H., 2004.- Suppression of neutrophil recruitment in mice by geranium essential oil. *Mediat Inflamm*, 13:21-24.
- [44].- Chen W. and Viljoen A. M., 2010.- Geraniol: a review of a commercially important fragrance material. *South Afric J Bot*, 76:643-51.

## **EFFET DE QUELQUES TRAITEMENTS PHYSIQUES SUR LA GERMINATION DES GLANDS ET LA CROISSANCE ULTERIEURE DES PLANTS DE CHENE VERT (*Quercus rotundifolia* LAM.)**

KOUMICHE Fatiha et BENMAHIOUL Benamar\*

*Département des Ressources Forestières, Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers (SNV-STU), Université Abou Bekr Belkaïd  
Tlemcen, Algérie*

\* E-mail: [b\\_benmahioul@mail.univ-tlemcen.dz](mailto:b_benmahioul@mail.univ-tlemcen.dz)

**Résumé.-** Ce présent travail avait pour objectif principal, l'analyse de l'influence de certains traitements physiques sur la germination des glands et le développement des jeunes plantules du chêne vert. Les résultats obtenus ont montré que l'ablation des enveloppes séminales, suivie d'un trempage de 72h dans l'eau ordinaire stimule fortement la vitesse de germination des glands. Ce traitement est sans aucune influence sur la croissance et le développement ultérieur des jeunes semis. Toutefois, une forte mortalité (59,6%) de jeunes plantules a été enregistrée après repiquage. Celle-ci est due probablement aux agents pathogènes responsables de fonte de semis.

**Mots-clés:** *Quercus rotundifolia*, glands, germination, traitement, fonte de semis.

## **EFFECT OF SOME PHYSICAL TREATMENTS ON GERMINATION OF ACORNS AND THE FURTHER GROWTH OF HOLM OAK SEEDLINGS (*Quercus rotundifolia* LAM.)**

**Abstract.-** In the present study, the influence of certain physical treatments on the germination of acorns and development of the young seedlings of Holm oak were analyzed. The results obtained showed that a removal of the teguments, followed by a soaking for 72h in ordinary water strongly stimulates the germination speed of acorns. This treatment does not influence the further growth and development of the young sowings. However, a heavy mortality (59.6%) of young seedlings was recorded after transplantation. This mortality is probably due to the fungal pathogens responsible of the damping-off disease.

**Key words:** *Quercus rotundifolia*, acorns, germination, treatment, damping-off.

### **Introduction**

Les forêts méditerranéennes couvrent environ 81 millions d'hectares, soit 9,4% de la superficie forestière mondiale. Elles sont constituées d'une mosaïque d'essences forestières, particulièrement des feuillus qui représentent environ 60% [1].

*Quercus rotundifolia* Lam. est un chêne caducifolié qui constitue l'une des biocénoses les plus représentées dans le bassin méditerranéen. En Algérie, le chêne vert ou chêne d'yeuse figure parmi les essences prépondérantes du patrimoine forestier. Il est surtout abondant dans le nord-ouest du pays et qui en étage semi-aride joue avec le thuya et le genévrier un rôle de protection.

Par sa relative frugalité, ses bonnes capacités de régénération après incendies, sa résistance aux coupes, le chêne vert constitue une espèce qui doit être retenue dans

l'optique de la réalisation d'un équilibre écologique, assurant ainsi un obstacle à la désertification et à la dégradation des sols. Cependant, ces dernières décennies, la surface du chêne vert est en nette régression. Elle est passée de 679 000 ha [2] à seulement 108000 ha [3].

Dans les écosystèmes naturels, la germination peut être limitée par certains facteurs comme la prédation ou l'infestation des graines. De plus, le maintien ou la régénération des espèces forestières par l'intermédiaire de leurs graines pose d'abord le problème de la germination.

Face à cette situation, la nécessité d'assister la régénération naturelle s'impose. Bien que certaines méthodes de multiplication végétative du chêne vert semblent utilisables, telles que le bouturage, le principal mode de propagation de l'espèce est le semis.

Les graines forestières et en particulier celles des espèces feuillues présentent souvent des phénomènes de dormance qui s'opposent à leur germination et nécessitent certains traitements. La méconnaissance de cette dormance et/ou l'application de traitements insuffisants pour l'éliminer, se sont longtemps traduites par des rendements en pépinières médiocres, un gaspillage énorme de semences et sans doute des pertes de génotypes.

Il est donc indispensable, pour une bonne diffusion du chêne vert, de maîtriser les techniques et les conditions d'élevage des plants et, en particulier, celles de la germination des glands. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail qui a pour objectif principal d'étudier le comportement germinatif de *Quercus rotundifolia* soumis à différents traitements. Outre l'optimisation et l'homogénéisation de sa germination, la connaissance de la stratégie germinative adoptée par le chêne vert permet de mieux comprendre sa dynamique naturelle.

## **1.- Matériel et méthodes**

### **1.1.- Origine et préparation des glands**

Le matériel végétal utilisé dans ce travail appartient à l'espèce *Quercus rotundifolia* Lam (Chêne vert). Il s'agit des glands qui ont été fournis par le Parc National de Tlemcen. Les glands ont été récoltés à maturité en mois de septembre 2015 de la forêt de Hafir située au sud ouest de la ville de Tlemcen. Ils ont été nettoyés et triés par un test de densimétrie à l'eau ordinaire. Les surnageants, considérés non viables sont éliminés.

### **1.2.- Effet du traitement sur la germination**

Dans un premier temps, il est évalué la capacité germinative de lots de 45 glands ayant subi, avant leur mise en germination, l'un des traitements suivants:

T48: Immersion de 48h dans l'eau courante,

T72 : Immersion de 72h dans l'eau courante,

AT : Ablation des téguments,

T48-AT : Immersion de 48h dans l'eau courante suivi de l'ablation des téguments,

T72-AT : Immersion de 72h dans l'eau courante suivi de l'ablation des téguments,

AT-T48 : Ablation des téguments suivie d'une immersion de 48h dans l'eau courante,

AT-T72 : Ablation des téguments suivie d'une immersion de 72h dans l'eau courante,  
T : Témoin (glands intacts).

Quinze (15) glands sont disposés par boîte en plastique (dimension, L x l x H : 14 x 14 x 5 cm). Les glands de chaque lot expérimental ont été stérilisés pendant environ 10 mn dans une solution de chlorure de sodium (8%) puis rincés avec l'eau distillée et semés dans des boîtes tapissées d'une double couche de papier-filtre humidifié jusqu'à saturation.

La germination des glands frais a été effectuée dans une étuve obscure réglée à une température de 25°C. Elle a été poursuivie pendant 28 jours avec relevé du nombre de glands germés dans chaque lot tous les 2 jours. Un gland est considéré comme germé lorsque la radicule perce les enveloppes et manifeste son géotropisme positif.

Le pourcentage de germination (%G), le temps moyen de germination (TMG) et la durée de vie latente (DVL) ont été déterminés. Ces derniers sont calculés selon les formules suivantes :

- Le pourcentage de germination pour un lot expérimental donné correspondant au rapport suivant : (Nombre de glands germés/Nombre total des glands mis à germer) x 100
- La vitesse de germination est appréciée par le temps moyen de germination (TMG) calculé par la formule:  $TMG = \frac{N_1T_1 + N_2T_2 + \dots + N_iT_i}{N_1 + N_2 + \dots + N_i}$   
Où  $N_1$  représente le nombre de glands germés en temps  $T_1$  et  $N_2$  le nombre de glands ayant germés entre le temps  $T_1$  et  $T_2$  [4].
- La durée de vie latente (DVL) ou le temps de latence qui correspond au temps compris entre le début du test de germination et le moment où le premier gland a germé.

Les glands pré germés ont fait l'objet de mesures de la longueur de l'épicotyle et du pivot racinaire.

### 1.3.- Biométrie sur semis

Afin de vérifier l'influence possible, des divers traitements appliqués aux glands avant leur mise en germination, sur la croissance et le développement ultérieur des jeunes semis, nous avons repiqué les glands pré germés de chaque lot expérimental, dans des sachets polyéthylènes contenant de la terre végétale. L'arrosage est effectué deux fois par semaine. A partir du 15<sup>ème</sup> jour de culture, il a été les paramètres de croissance suivants : La croissance de l'appareil photosynthétique, notamment l'accroissement de la tige, l'évolution du diamètre au collet ainsi que le nombre moyen de feuille par plant. Ces paramètres ont été relevés une fois par semaine. Les taux de développement des plants après ensemencement ainsi que ceux de mortalités ont été calculés.

### 1.4.- Analyse statistique des données

Les résultats obtenus ont été traités par analyse de la variance grâce au logiciel Statgraphics-plus et les moyennes significativement différentes ont été séparées par le test de DUNCAN au seuil de probabilité de 5%. Sur les figures, chaque moyenne est affectée d'une lettre et les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

## 2.- Résultats

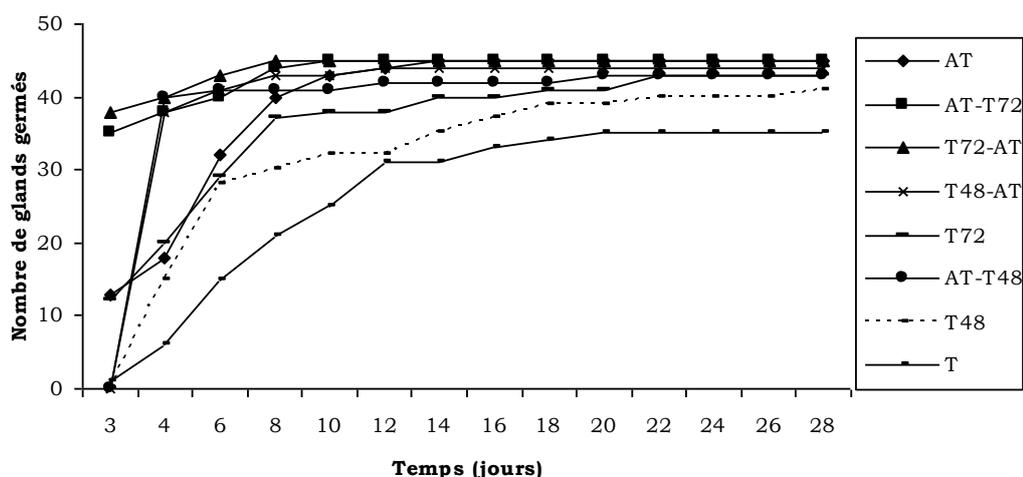
### 2.1.- Effet du traitement sur la germination

Les résultats du tableau I, montre que la germination chez le chêne vert est améliorée par les différents traitements testés. En effet, l'ablation des téguments (AT ; AT-T72 ; T72-AT ; T48-AT ; AT-T48) donne les taux de germination les plus élevés (95,6 – 100%). Les glands non traités ont affiché un taux de germination de 77,8%.

**Tableau I.-** Effet du traitement appliqué sur le taux de germination (% G.), le temps moyen de germination (TMG) et la durée de vie latente (DVL) des glands de chêne vert.

Traitements	(% G.)	TMG (jours)	DVL (jours)
AT	100 <sup>a</sup>	5,8	3
AT-T72	100 <sup>a</sup>	3,8	3
T72-AT	100 <sup>a</sup>	3,5	3
T48-AT	97,8 <sup>a,b</sup>	4,4	4
T72	95,6 <sup>a,b</sup>	6,3	3
AT-T48	95,6 <sup>a,b</sup>	4,4	4
T48	91,1 <sup>b,c</sup>	7,8	4
T	77,8 <sup>c</sup>	6,8	3,7

Les glands mis à germer après ablation des téguments et trempés pendant 72h dans l'eau courante, germent beaucoup plus rapidement que les autres lots expérimentaux (tab. I et fig. 1). En effet, les traitements AT-T72 et T72-AT, ont donné au bout de 3 jours seulement de la mis en culture, 35 et 38 glands germés respectivement. Pour ces deux traitements, la germination est chevée après 08 jours environ. Pour le lot témoin (T), il est enregistré 35 glands germés à la fin de l'essai (fig. 1). Le temps moyen de germination de ces glands non traités est d'environ une semaine. En ce qui concerne le temps de latence, ce paramètre de germination varie entre 3 et 4 jours pour tous les lots expérimentaux (tab. I).

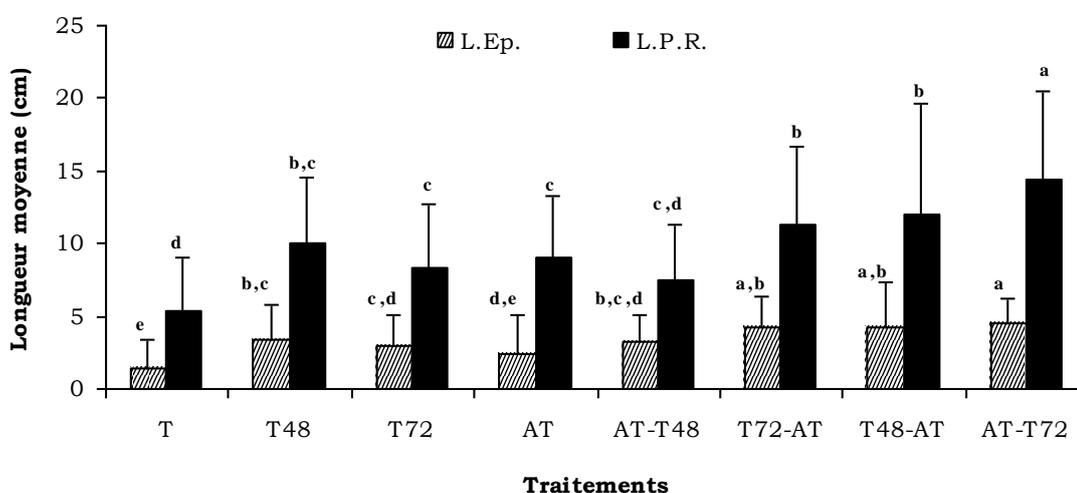


**Figure 1.-** Courbes de germination en fonction du temps de l'ensemble des glands mis à germer à la suite de l'un ou l'autre des traitements testés. (T: aucun traitement ; AT: ablation des téguments et mise en germination sans immersion préalable dans l'eau; T48: immersion de 48h dans l'eau courante; AT-T48: ablation des téguments suivie d'une immersion de 48h dans l'eau courante;

T48-AT: trempage de 48h dans l'eau suivie de l'ablation des téguments; T72: immersion de 72h dans l'eau courante; AT-T72: ablation des téguments suivie d'une immersion de 72h dans l'eau; T72-AT: trempage dans l'eau durant 72h suivie de l'ablation des téguments).

## 2.2.- Effet du traitement sur la longueur de l'épicotyle et du pivot racinaire

L'analyse de la figure 2 montre l'effet du traitement testé sur la croissance enregistrée juste après germination, surtout la croissance racinaire. Les divers traitements appliqués aux glands, avant leur mise en germe, ont une influence significative sur l'élongation racinaire. En effet, la longueur moyenne du pivot passe de  $5,3 \pm 3,67$  cm enregistré chez les glands pré germés témoins (T), à  $14,3 \pm 6,15$  cm chez ceux du traitement (AT-T72). Ce dernier traitement affiche l'élongation de l'épicotyle la plus importante ( $4,46 \pm 1,73$  cm).



**Figure 2.-** Longueur moyenne de l'épicotyle (L.Ep.) et du pivot racinaire (L.P.R.) en fonction du traitement appliqué aux glands avant leur mise en germe. Les mêmes lettres sur les histogrammes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

## 2.3.- Effet du traitement sur la croissance et le développement des jeunes semis

### 2.3.1.- Effet sur les taux de développement et de mortalité

Les taux de développement des semis les plus importants (46,7%) ont été enregistrés avec les traitements AT-T48 et AT-T72. Les glands pré germés du lot témoin ont donné un taux de développement de 37,1% (tab. II).

**Tableau II.-** Pourcentages de développement et de mortalité des plants en fonction du traitement appliqué. Les valeurs de la même colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes entre elles au seuil de 5%.

Traitements	Développement (%)	Mortalité (%)
AT	37,8 <sup>a</sup>	62,2 <sup>a</sup>
AT-T72	46,7 <sup>a</sup>	53,3 <sup>a</sup>
T72-AT	40 <sup>a</sup>	60 <sup>a</sup>
T48-AT	45,5 <sup>a</sup>	54,5 <sup>a</sup>
T72	32,6 <sup>a</sup>	67,4 <sup>a</sup>

AT-T48	46,7 <sup>a</sup>	53,3 <sup>a</sup>
T48	36,6 <sup>a</sup>	63,4 <sup>a</sup>
T	37,1 <sup>a</sup>	62,9 <sup>a</sup>

L'analyse du tableau II montre également que les pourcentages de mortalité ont été élevés. Ils varient entre 53,3% et 67,4%. Les glands prétraités dans l'eau pendant 72h (T72), affichent le taux de mortalité le plus élevé. La croissance des plants dépéris s'est arrêtée à une hauteur faible ne dépassant les 1,5cm.

### 2.3.2.- Effet sur les paramètres de croissance

Les données de la figure 3.A illustrent l'effet du traitement appliqué aux glands sur la croissance de la partie aérienne de jeunes semis. L'examen de cette figure montre que la hauteur moyenne des tiges a été influencée significativement par le traitement testé, où elle varie entre  $4,1 \pm 0,57$ cm et  $6,4 \pm 1,69$ cm. Les plants issus de glands prétraités dans l'eau pendant 72h (T72) et de glands non traités (T), ont la hauteur moyenne la plus élevée (6,4cm).

La croissance en diamètre, mesurée au collet, est faible pour l'ensemble des plants et ce pour tous les prétraitements testés. Elle varie entre  $1,47 \pm 0,21$ mm (T72-AT) et  $2,1 \pm 0,38$ mm (T48) (fig. 3.B). Les plants témoins ont une croissance radiale moyenne de  $1,97 \pm 0,56$ mm.

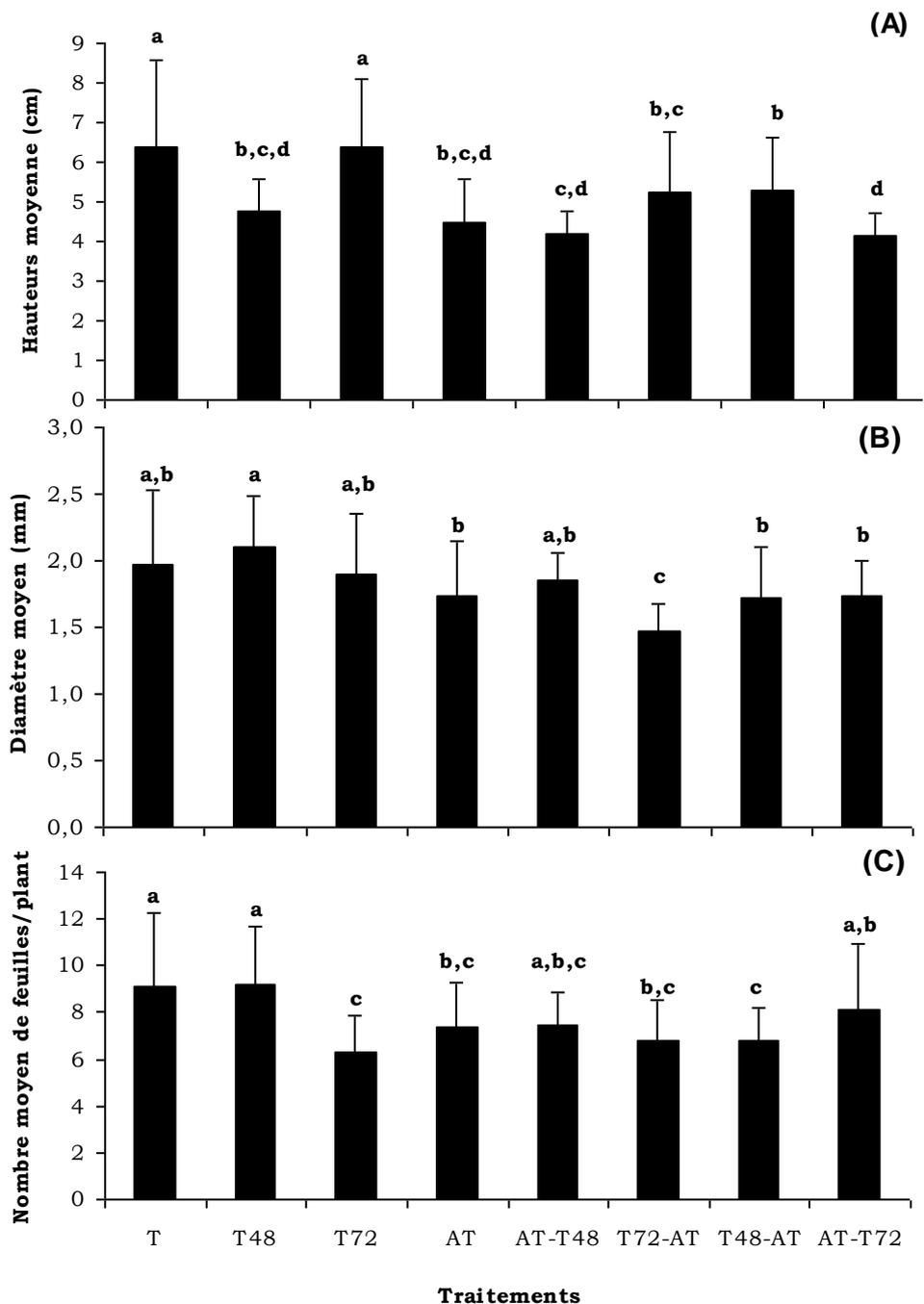
L'évolution du nombre de feuilles par plant et par prétraitement testé a été suivie. Il est constaté à travers la figure 3.C que le nombre maximal de feuille produit a été enregistré chez les plants issus du prétraitement T48 ( $9,2 \pm 2,46$  feuilles/plant) et ceux du lot témoin ( $9,08 \pm 3,17$ ). Les jeunes semis issus du traitement T72 ont produit le nombre de feuilles le plus faible ( $6,29 \pm 1,54$ ).

### 3.- Discussion

Les résultats obtenus au cours de ces essais laissent apparaître que les téguments constituent un obstacle non négligeable à la germination homogène et rapide des glands de chêne vert. En effet, il est montré l'action bénéfique de l'ablation des enveloppes séminales sur la cinétique de germination. Les traitements AT-T72 et T72-AT ont donné au bout de 3 jours seulement de la mis en culture, les taux de germination les plus élevés (77,8% et 84,4% respectivement). LAMOND (1978) [5] a déjà signalé l'influence de l'ablation des téguments sur l'amélioration du pouvoir germinatif des glands du chêne pédonculé. BENMAHIOUL *et al.* (2010) [6] signalent eux aussi l'effet des téguments sur la germination des graines de *Pistacia vera* L. Les meilleurs taux de germination ont été enregistrés avec le lot de graines sans téguments.

L'effet dépressif des téguments sur la germination a été signalé chez plusieurs plantes ligneuses: *Pistacia atlantica* [7], *Olea laperrini* [8], *Argania spinosa* [9] et *Balanites aegyptiaca* [10].

LEVERT (1977) a noté que l'embryon dénudé s'imbibe beaucoup mieux et beaucoup plus rapidement que le gland entier de chêne pédonculé. Le même auteur signale que la mauvaise germination du gland entier pourrait s'expliquer du moins en partie, par une réhydratation inadéquate des embryons [11].



**Figure 3(A, B, C).**- Effet des prétraitements appliqués sur les paramètres de croissance (A: croissance en hauteur; B: croissance diamétrique, C: le nombre moyen de feuilles par plant). (T: Aucun traitement; T48: Immersion de 48h dans l'eau courante; T72: Immersion de 72h dans l'eau courante; AT : Ablation des téguments et mise en germination sans immersion préalable dans l'eau; AT-T48 : Ablation des téguments suivie d'une immersion de 48h dans l'eau courante; T72-AT : Trempage dans l'eau durant 72h suivie de l'ablation des téguments ; T48-AT : Trempage de 48h dans l'eau suivie de l'ablation des téguments; AT-T72 : Ablation des téguments suivie d'une immersion de 72h dans l'eau courante).

Il existe d'autres procédés jugés efficaces, qui permettent de ramollir les téguments, ce qui augmente la perméabilité des enveloppes à l'eau et à l'oxygène, deux facteurs essentiels à la germination des semences. La scarification chimique à l'acide sulfurique est une de ces techniques qui permettait d'avoir une germination élevée et plus rapide chez

plusieurs plantes [6, 12-14]. Toutefois, l'acide sulfurique peut endommager l'endosperme séminal. La concentration et la durée de trempage varient en fonction de la nature des téguments.

La germination est un phénomène complexe mettant en jeu plusieurs facteurs tels que des régulateurs de croissance et des enzymes hydrolytiques qui interagissent pour déclencher le processus et la croissance ultérieure [4, 15]. Nos expériences ont montré l'effet des divers prétraitements appliqués sur la croissance de l'épicotyle et de la racicule juste après la germination des glands. En effet, les meilleurs résultats ont été enregistrés chez les jeunes semis issus de glands sans téguments et trempés dans l'eau pendant 72 heures (AT-T72). Pour l'ensemble des lots expérimentaux, les jeunes germinations montrent une croissance rapide de la racine comparativement à celle de l'épicotyle. La longueur la plus importante ( $14,3 \pm 6,15$  cm) a été enregistrée avec le lot (AT-T72). WILSON et BRISKE (1979) [16] montrent que la germination et la croissance de la racicule de *Bouteloua gracilis* exigent une période de 2 à 5 jours de bonne humidité du sol et une température au dessus de 15°C.

Après deux mois de repiquage des jeunes germinations dans des sachets polyéthylènes contenant de la terre végétale, il est enregistré un taux moyen de mortalité de 59,6%. Cela est dû probablement à la fonte de semis (fonte de post-émergence). Cette maladie fongique est responsable de la disparition rapide des jeunes plantules en pépinières et même en forêt. La majorité des agents pathogènes responsables de la fonte vivent en saprophyte dans le sol et pénètrent dans les tissus des jeunes plants. Ces champignons possèdent des formes de repos (sclérotés ou chlamydozoospores) qui leur permettent de résister assez longtemps à des conditions difficiles.

OUKABLI *et al.* (2001) ont signalé un taux de mortalité après la levée de 28 % chez les plants de *Prunus dulcis*. Selon les mêmes auteurs, la disparition de ces jeunes plants aux premiers stades de croissance pourrait être liée à une sensibilité accrue à des cryptogames [17].

L'appréciation de la qualité des plants traditionnellement et exclusivement fondée sur la base de critères morphologiques tels que la hauteur des plants et leur diamètre au collet. Les mesures biométriques effectués sur les jeunes semis survivants (40,4%) ont montré que les différents prétraitements appliqués n'ont aucune influence sur le développement ultérieur des jeunes semis. Les plants témoins ont une croissance légèrement supérieure comparativement aux autres traitements. Des résultats similaires ont été enregistrés chez le chêne pédonculé [5]. En effet, le traitement qui a donné le meilleur résultat de germination (ablation des enveloppes, suivi d'une immersion dans l'eau) n'a aucune influence sur la croissance et le développement ultérieur des semis de chêne pédonculé. Il semble que le prétraitement AT-T72 (élimination des téguments suivie d'un trempage de 72h dans l'eau), ne fait que permettre à l'ensemble des embryons de germer en quelques jours seulement (3 jours) et de débiter leur croissance sensiblement au même moment: une croissance homogène et regroupée.

## Conclusion

Les glands de chêne vert ne présentent pas de problème de dormance vraie. Ils sont affectés d'une inhibition tégumentaire qui pourrait être éliminée par ablation des enveloppes séminales ce qui facilite par la suite, l'accès de l'oxygène à l'embryon. Ce

prétraitement, suivi d'un trempage de 72h dans l'eau ordinaire, constitue un moyen simple et efficace pour améliorer le pouvoir germinatif chez le chêne vert (*Quercus rotundifolia*). Il donne de façon rapide de jeunes semis homogènes et vigoureux. Toutefois, ces jeunes plantules subissent une forte mortalité précoce. Celle-ci est due probablement aux agents pathogènes, notamment les champignons responsables de fonte de semis. Ces parasites possèdent des formes de repos qui leur permettent de persister dans le sol et d'assurer par la suite de nouvelles infections. Afin d'empêcher l'installation des champignons phytopathogènes et de réduire les pertes dues aux fontes de semis, nous préconisons aux pépiniéristes les recommandations suivantes :

- Effectuer des semis sur des substrats à tendance acide par incorporation de tourbe par exemple;
- Eviter les arrosages excessifs: excès d'humidité favorise l'installation des agents causals de fonte de semis;
- Eclaircir les semis trop denses ;

Le caractère indispensable des mycorhizes, pour le bon développement des plantes, dans les conditions naturelles, n'est maintenant plus à démontrer. Pour cela, il serait judicieux d'intégrer la mycorhization dans le processus de production de plants. En effet, cette technique présente plusieurs intérêts à savoir la production de plants davantage performants, c'est-à-dire capables de mieux survivre et de se développer aussi bien en pépinière qu'après transplantation dans les sites de reboisement.

### Références bibliographiques

- [1].- Mugnossa G., Scarascia, Oswald H., Piussi P. et Radaglou K., 2000.- Forests of the Mediterranean region: Gaps in knowledge and research needs. For. Ecol. Manag.,132: 97-109.
- [2].- Boudy P., 1955.- Economie Forestière Nord Africaine .Tome4, Description Forestière de l'Algérie et de la Tunisie: Larousse, Paris, 483p.
- [3].- Medjmadj A., 2014.- Biologie des chênes Algériens. Mémoire de magister en Ecologie et Environnement, Université Constantine 1, 137 p.
- [4].- Côme D., 1970.- Les obstacles à la germination (monographie et physiologie végétale). Ed. Masson et Cie (Paris), 162p.
- [5].- Lamond M., 1978.- Péricarpe et cinétique de germination des glands de chêne pédoncule. Ann. Sci. For., 35 (3): 203-212.
- [6].- Benmahioul B., Kaid-Harche M., Daguin F., 2010.- Étude de la germination et de l'effet du substrat sur la croissance de jeunes semis de *Pistacia vera* L. Acta Botanica Malacitana, 35: 87-94.
- [7].- Aït Radi I., 1979.- Multiplication par voie végétative et par semis de *Pistacia atlantica* Desf. et *Ailanthus altissima*. Mémoire d'ingénieur en Agronomie, INA El Harrach - Alger, 40 p.
- [8].- Berrar D. et Bouguedoura N., 2000.- Essais de germination de l'olivier de Laperrine (*Olea laperrini* Batt. et Trab.). Actes du séminaire international, Djanet, Pp 100–105.

- [9].- Derridj A., Boughanem K. et Saadi F., 2000.- Etude de la biométrie et de la germination des graines et des amandes de l'arganier de Tindouf (*Argania spinosa* L.). Actes du séminaire international, Djanet, 120 p.
- [10].- Traoré B., 2002.- Contribution à l'étude de la caractérisation et de la germination de *Balanites aegyptiaca* L. Del. dans la région de Tamanrasset et Ahaggar-Algérie méridionale. Mémoire d'ingénieur d'état en foresterie, université de Tlemcen, 147p.
- [11].- Levert J., 1977.- Etude de l'influence de quelques facteurs physiques sur la germination des glands de chêne pédoncule (*Quercus pedunculata* Ehrl., syn.: *Q. robur* L.). Mémoire de D.E.A., Université de Clermont II, 51p.
- [12].- Rodrigues A. P. D. C., Kohl M. C., Pedrinho D. R., Arias E. R. A., Favero, S. 2008.- Treatments to overcome dormancy of *Acacia Mangium* Seeds. Acta Scientiarum, 30 (2): 279-283.
- [13].- Rostami A., Shahsavari A., 2009.- Effects of Seed Scarification on Seed Germination And Early Growth of olive Seedlings." Journal of Biological Science, 9(8): 825-828.
- [14].- Sebbagh A. et Benmahiou B., 2013.- Etude de la germination des graines du pistachier d'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf). Séminaire national sur les reboisements en zones arides : Choix des espèces et techniques de plantation, Mascara les 08 et 09 octobre 2013.
- [15].- Roberts J.A., Hooley R., 1988.- Plant growth regulators, Blackie and Son Ltd. (Eds), New York, USA, 190p.
- [16].- Wilson A. M. and Briske D. D., 1979.- Seminal and Adventitious Root Growth of Blue Grama Seedlings on the Central Plains. Journal of Range Management 32(3): 209-213
- [17].- Oukabli A., Lansarib A., Loudiyil W. et Abousalim A., 2001.- Effets endogamiques sur la germination et la croissance de semis du cultivar autocompatible Tuono (*Prunus dulcis*). Fruits, (56): 197-205.

## LE PETIT RENARD DES HAUTES PLAINES DE TIARET: UNE ESPECE MECONNUE EN DANGER!

BENCHOHRA Mokhtar\* et AMARA Karim  
*Institut National des Sciences Vétérinaires, Université de Tiaret, Algérie*  
 E-mail: [mok.benchohra@yahoo.fr](mailto:mok.benchohra@yahoo.fr)

**Résumé.-** *Le renard (Vulpes) fait partie des espèces animales sauvages non bien connues d'Algérie; la majorité des études réalisées reposent sur des observations de terrain. Dans les hautes plaines de Tiaret vit un petit renard qui n'est cité dans aucun rapport ou étude publiés. Dans cette étude, sont présentés des cas de renard morts sur les routes et d'autres capturés vivants. Les cas exposés, dans le contexte socio-environnemental de la région, témoignent des graves menaces pesantes sur l'épanouissement et la préservation de cette espèce de renard. Il s'agit des accidents mortels sur les routes, du piégeage par l'homme et, particulièrement, l'abondance de chiens (libres et errants); prédateurs potentiels de l'animal et compétiteurs envers son régime alimentaire. En conséquence, des études devraient être réalisées pour la caractérisation de cette espèce animale, et des efforts de vulgarisation et de protection entrepris par les organismes concernés pour sa reconnaissance et sa sauvegarde.*

**Mots clés:** *Petit renard, haute plaine, Tiaret, espèce menacée, contexte socio-environnemental.*

## THE SMALL FOX OF TIARET HIGHLAND PLANE: AN ENDANGERED SPECIES!

**Abstract.-** *In Algeria, the fox (Vulpes) is still remains a not well known wild species. Moreover, the small leaving in the highland of Tiaret is not mentioned in any report or a published study. This study presents monitored cases of dead fox in the roads and trapped by villagers, in Tiaret's East area. This small fox seem to be native to this area; however, a considerable risk threatens its existence. When the fox dens were closer to human habitation, it increases trapping risk, foxes are frequently strucked by cars in roads, and stray and roaming dog populations may be the most hazard, and serious limiting factors to this endangered fox expansion. Consequently, serious studies must be conducted to recognition this vulpes species and its conservation.*

**Key work:** *Small fox, highland plane, Tiaret, threats, socioeconomic context.*

### Introduction

Le Renard (*Vulpes*) est l'espèce de canidés la plus répandue dans le monde [1]. Cependant, en Algérie le renard reste une espèce animale sauvage non bien connue. Officiellement, les espèces existantes sont le Fennec (*Fennecus zerda*), le renard famélique (*Vulpes rueppelli*) et le renard roux (*Vulpes vulpes*) [2]. Seules les deux premières sont considérées comme espèces protégées par la loi (n° 83-509/1983 et n° 12-235/2012) [3,4].

### 1.- Matériel et méthodes

#### 1.1.- Zone et période de l'étude

La zone de l'étude est située dans les plaines de Tiaret dans le haut plateau occidental algérien, d'une altitude de plus de 1000 m; localisée entre 35°22 N et 1°19'E,

environ 300km au Sud-ouest de la capitale Alger. Il s'agit d'observations de terrain enregistrées durant une période de 11 mois (allant de décembre 2015 à octobre 2016) sur une zone débutant 8km au Nord-est et se terminant 40 km à l'Est du chef-lieu de Tiaret (Algérie).

## 1.2.- Méthodologie

Les observations concernent, des études de cas de renards retrouvés morts sur les routes et d'animaux capturés vivants par des villageois dans les plaines de Tiaret (Algérie). Des photographies ont été réalisées pour soutenir cette étude.

### 1.2.1.- Renards retrouvés morts sur les routes

#### 2.2.1.1.- Cas 1

Le premier renard est découvert mort, le 4 décembre 2015, à coté de la route, environ 20 km à l'Est de chef lieux de la wilaya de Tiaret. L'animal ne présentait aucune blessure apparente (fig. 1).



**Figure 1.-** Renard mort sur la chaussée (04/12/2015)

#### 1. 2.1.2.- Cas 2

Le deuxième sujet est retrouvé totalement écrasé (fig. 2) sur une route à double voie environ 8 km au Nord-est du chef lieu de la wilaya, le 05 mai 2016.



**Figure 2.-** Renard retrouvé écrasé sur la route (05/05/2016)

### 1.2.1.3.- Cas 3

Le dernier cas concerne un renard du même genre, retrouvé mort sur la route non loin du site du cas 1, le 15 juillet 2016. L'animal a succombé à un accident de voiture (fig. 3).



**Figure 3.-** Renard retrouvé écrasé sur la chaussée (15/07/2016)

### 1.2.2.- Renards capturés

#### 1.2.2.1.- Cas 1

Il s'agit de deux renards (fig. 4) capturés par un paysan, à la sortie de leur terrier (fig. 5) situé à 200 m d'un regroupement de maisons rurales (site 1), le 19 avril 2016. Le zone est localisée 24km à l'Est de Tiaret, non loin du lieu du cas 1 retrouvé mort.



**Figure 4 (A, B).-** Renards capturés vivants sur le site 1 (19/04/2016)

**Figure 5.-** Terrier sur site 1

#### 1.2.2.2.- Cas 2

Un renard de sexe femelle (fig. 6) a été capturé par un paysan, le 15/10/2016, environ 15 km du site précédant en direction de l'Est (site 2). Le terrier est localisé dans un ancien cimetière à côté d'une ferme (fig. 7).



**Figure 6.-** Renard capturé vivant sur le site 2 (15/10/2016)



**Figure 7.-** Terrier dans un ancien cimetière (site 2)

## 2.- Résultats et discussion

### 2.1.- Données sur le genre *V. vulpes* en Algérie

Les études algériennes sur l'espèce vulpine reposent, en général, sur des observations de terrain. Ces rapports font état de l'existence de trois races principales: le renard famélique (*V. ruppelli*), le fennec (*Fennecus zerda*) [5] et celle du renard roux (*V. vulpes*) [6]. Toutefois, aucun travail publié ne rapporte la description détaillée de ces espèces; de plus, aucune allusion n'est faite à l'existence d'autres espèces ou sous-espèces. Dans la littérature internationale, on rapporte l'existence de *V. algeriensis* (Loche, 1854); renard des zones boisés et *V. v. atlantica* (Wagner 1841); renard des montagnes d'Atlas; classée sous-espèce du renard roux [1]. Toutefois, aucune description phénotypique de ses espèces n'est rapportée.

### 2.2.- Caractères phénotypiques des sujets observés

L'espèce *V. vulpes* avec ses sous-espèces présente une large variation entre les individus: dans la taille du corps et la longueur de la queue, et dans le poids vif; par ailleurs, les mâles sont de tailles relativement plus importantes que les femelles [1].

Les renards, de cette étude, sont tous de petite taille, à l'exception de ceux capturés sur le site 1; où l'on observe que l'un des deux sujets présente une taille légèrement supérieure (fig. 4A); s'agissant probablement du mâle d'un couple. En ce qui concerne le pelage, il existe des variations dans la couleur. Le dos et les flancs, les membres, la queue, le cou est la tête apparaissent gris mêlés de jaune dans deux cas (fig. 1 et 3). La couleur est plutôt jaune-fauve chez les sujets capturés (fig. 4) et nettement fauve chez le cas 2 (fig. 2). Les parties basses du cou et le ventre sont blanches à grises, en général, chez tous les cas observés. Le museau est marqué de deux taches noires bilatérales et la couleur de la queue paraît grise claire à foncée; parée de poiles noires denses. L'extrémité de la queue est blanche chez tous les sujets observés. Cette nuance dans les couleurs est rapportée chez l'espèce *V. vulpes* [1].

### 2.3.- Ressemblance du petit renard avec l'espèce *V. velox*

Le petit renard de Tiaret présente certaines similitudes, dans le phénotype, l'habitat et le comportement, avec le swift fox (*V. velox*) de l'Amérique du Nord; décrit comme

étant la plus petite espèce de canidés et incluant plusieurs sous-espèces [2, 7]. La taille de la femelle véloce est inférieure à celle du mâle [2]. Le mode alimentaire du renard véloce est de type omnivore; il mange ce qu'il trouve dans les parages, son régime est composé de petits mammifères (ex. des petits rongeurs, d'oiseaux et œufs, de reptiles, d'insectes, de fruits et de charogne [8, 9].

Ce renard est appelé véloce (swift en anglais) en raison de sa rapidité. Les paysans de la région de l'étude affirment que ce renard est très rapide; ce qui lui permet d'échapper à la prédation des chiens. Le swift fox est également nommé prairie fox étant donné qu'il vit habituellement dans les prairies à herbe courte ou dense [2], comme c'est le cas des hautes plaines à herbe courte de la région de Tiaret.

Dans les deux sites où les renards ont été capturés, il s'agit d'endroit non éloignés des maisons rurales (100 à 200m). La tanière se trouve soit sur un terrain accidenté ou rocheux, désaffecté, comme observé sur le site 1, ou dans un terrain abandonné (site 2); s'agissant d'un ancien cimetière. Les terriers observés, sur les deux sites, comportent deux à trois ouvertures, comme rapporté chez ceux du swift fox; ainsi, la découverte des tanières est un moyen utile dans la connaissance de la distribution de ce renard dans un territoire donné [10]. Ces ressemblances entre les deux genres offrent un intérêt particulier dans la compréhension des habitudes de cet animal et dans la mise en place de programmes d'étude et de sauvegarde; étant donné la profusion des études nord-américaines sur le sujet.

#### **2.4.- Dangers menaçants l'existence du petit renard de Tiaret**

Les routes accentuent les risques d'accidents mortels pour ce renard [2]; ce qui limite la croissance des populations enclavées et isolées [9]. De plus, l'absence de passages sécurisés permettant la circulation libre des animaux de part et d'autre de la route à double voies, d'un côté, et la présence de barrières en dure au milieu; trop haute pour être franchie par ce petit renard, de l'autre, amplifient la fréquence de ces accidents mortels. Toutefois, l'observation de sujets périssés sur les routes est un indicateur permettant la localisation de l'habitat de l'animal sur les parages [11].

Par ailleurs, le fait que l'animal creuse son terrier à proximité des agglomérations rurales, en plus de son caractère naïf et curieux, facilite son piégeage par l'homme et met en péril sa survie. En effet, dans les deux situations (cas 1 et 2), la capture des animaux a eu lieu le jour même de la mise en place des pièges. Au fait, la chasse au renard n'a aucun intérêt pécuniaire; cependant, pour certains, l'animal servirait comme remède naturel ! Le renard peut être chassé, également, en raison du danger supposé qu'il constitue pour les petits animaux élevés par les paysans. Parfois la capture de cet animal constitue un loisir pour les plus jeunes, en raison de sa petite taille. Les pièges montés pour la capture de l'animal sont réalisés avec du fil de fer, ce qui met en péril la vie de l'animal piégé.

Toutefois, la proximité de l'habitat de ce petit renard avec l'homme serait peut-être essentielle à la survie de l'espèce. Ainsi, en plus de la disponibilité en charogne, ce voisinage permet à l'animal de se désaltérer au niveau des points d'eau aménagés pour les animaux domestique, particulièrement l'été; période durant laquelle la région souffre de graves pénuries d'eau. De plus, cette disponibilité en aliments et en eau dans les parages, met à l'abri ce petit animal vulnérable contre la plus grande menace sur son existence, celle des chiens (*Canis familiaris*). En effet, la région connaît une recrudescence des chiens libres et errants, perturbateurs potentiels de l'écosystème [12, 13]. Les chiens limitent

l'aire de déplacement de ce petit renard; par peur de prédation [9, 13], ils sont susceptibles de lui transmettre des maladies et présentent de la compétition envers son régime alimentaire [12, 13]. Ainsi, la reproduction et la survie de l'espèce peuvent être gravement compromises par l'abondance de ces prédateurs avérés [12,13].

Enfin, les paysans informés de l'intérêt de cette espèce animale dans l'équilibre écosystémique, notamment dans la lutte contre les petits rongeurs ravageurs de cultures, et dans la préservation de la biodiversité et du patrimoine faunique de la région, montrent une volonté à intégrer les éventuels programmes de conservation.

## Conclusion

Le petit renard décrit dans cette étude est une espèce rare est a priori commune aux hautes plaines de la région de Tiaret. Cet animal joue un rôle important dans l'équilibre écosystémique et fait partie de la biodiversité de la région. L'étude des cas exposés, dans le contexte socio-environnemental de la région, témoigne de graves menaces pesantes sur l'existence de cette espèce de renard; non répertoriée à ce jour.

En conséquence, des études de caractérisations phénotypique et génétique, devraient être réalisées et des efforts de vulgarisation et de protection entrepris, par les organismes concernés, pour la reconnaissance et la sauvegarde de ce petit renard en situation critique. Enfin, tout programme de préservation de l'espèce devrait inéluctablement intégrer le composant humain de la région.

## Références bibliographiques

- [1].- Lariviere S., Pasitschniak-Arts M., 1996.- *Vulpes vulpes*. Mammalian Species, American Society of Mammalogists, 537:1-11. <http://www.jstor.org/stable/3504236>
- [2].- Sillero-Zubiri C., Hoffmann M., Macdonald D. W., 2004.- Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs. Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC Canid Specialist Group: Gland, Switzerland and Cambridge UK, 430 p.
- [3].- Journal Officiel de la République Algérienne, 1983.- Décret exécutif n° 83-509 du 20 août 1983, relatif aux espèces animales non domestiques protégées.
- [4].- Journal Officiel de la République Algérienne; 2012.- Décret exécutif n° 12-235 du 24 mai 2012, fixant la liste des espèces animales non domestiques protégées.
- [5].- Maziz S. B., 2011.- Inventaire de la faune sauvage dans le Grand Erg Occidental. SCF/DGF/ANN -Algérie, Actes du Séminaire International sur la Biodiversité Faunistique en Zones Arides et Semi-arides, Pp. 212-214.
- [6].- Bouzenoune A., 1999.- Direction Générale des Forêts projet relatif a la conservation de la biodiversité et de la gestion durable de ressources naturelles numéro du projet: Alg/00/g35/a/1g/99. "Etude portant projet de classement du site de Oglat. Daira en aire protégée, wilaya de Naama, 100 p.
- [7].- Waters S. S., 2010.- Swift fox *Vulpes velox* reintroductions: a review of release protocols. Int. Zoo. Y. b., 44: 173-182. DOI:10.1111/j.1748-1090.2009.00091.x

- [8].- Ginsberg J. R. and Macdonald D. W., 1990.- Foxes, Wolves, Jackals and Dogs. An Action Plan for the Conservation of Canids. IUCN/SSC Canid Specialist Group, IUCN/SSC Wolf Specialist Group (L.D. Mech, Chair). International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. Published by: IUCN, Gland, Switzerland, 116 p.
- [9].- Dark-Smiley D. N. and Keinath D. A., 2003.- Species assessment for Swift fox (*vulpes velox*) in Wyoming, United States Department of the Interior Bureau of Land Management, Wyoming State Office Cheyenne, Wyoming. 52 p.
- [10].- Mc Gee B. K., Nicholson K. L., Ballard W. B. and Butler M. J., 2006.- Characteristics of swift fox dens in Northwest Texas. *Western North American Naturalist*, 66 (2): 239-245.
- [11].- Luce B., Hunt L. and Prida Y J., 2000.- Swift fox completion report, Wyoming Game and Fish Department. State of Wyoming nongame mammals – Species of Special Concern, 35 p.
- [12].- Holderness-Roddam B., 2011.-The effects of domestic dogs (*Canis familiaris*) as a disturbance agent on the natural environment. Thesis of Master of Environmental Management, School of Geography and Environmental Studies, Dip. Agr., B.Ed., M.Ed. Studies University of Tasmania, Hobart, 97 p.
- [13].- Young J. K., Olson K. A., Reading R. P., Amgalanbaatar S., Berger J., 2011.- Is Wildlife going to the dogs? Impacts of feral and free-roaming dogs on wildlife populations, *BioScience*, 61 (2): 125-132.  
[http://scholarworks.umt.edu/biosci\\_pubs/291](http://scholarworks.umt.edu/biosci_pubs/291)