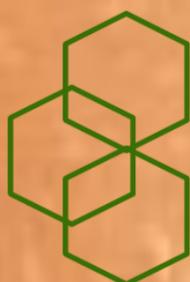

Revue Nature et Technologie

Revue académique à diffusion internationale



Vol. 13 – N° 01
Janvier 2021



**Presentation:**

Nature & Technology Journal is a scientific peer-reviewed journal issued since its establishment in 2009 by the University of Chlef, Algeria. Nature & Technology Journal is with international dissemination and an international reviewing committee.

The journal covers the following areas:

- A:** Fundamentals Sciences and Engineering
- B:** Agronomic and Biological Sciences
- C:** Environmental Sciences

Instructions to authors:

The submission is made exclusively by mail on:
<https://www.asjp.cerist.dz/en/submission/47>

Authors are invited to read the charter of the journal:
<https://www.univ-chlef.dz/revuenatec/Charter.pdf>

The evaluation is entrusted to professors-experts in the field by the double-blind procedure.

Submission and publication are free of any charges.

Articles are published under the terms of the CC-BY license of [Creative Commons Attributions 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Honorary Director:

Pr. CHOKRI

Publication Director:

Pr. HASSANI Hocine

Editor-in-Chief:

Pr. BOULEKBACHE Bensaid

Editorial comitee:

Dr. Azdinia ZIDANE
Chlef University, Algeria

Dr. Mohamed Amine TAHRAOUI
Chlef University, Algeria

Dr. Naima TAHRAOUI-DOUMA
Chlef University, Algeria

Pr. Amar OUKIL
Sultan Qaboos University

Pr. Ameyapoh YAОВI
Lomé University, Togo

Pr. Azeddine BELAKEHAL
Biskra University, Algeria

Pr. El bahri OULD CHIKH
Mascara University, Algeria

Pr. Ewa BEREZOWSKA-AZZAG
EPAU, Algeria

Pr. Farid RAHAL
USTO, Oran, Algeria

Pr. Hocine HACENE
USTHB, Algeria

Pr. Malika BOUKALA IOUALALEN
USTHB, Algeria

Pr. MOHAMMED LACHI
Reims University, France

Pr. Nouredine Zemmouri
Biskra University, Algeria

Pr. Oualida RACHED
ENSB, Constantine, Algeria

Pr. Rabah BAKOUR
USTHB, Algeria

Pr. Taher SRAIRI Mohamed
IAV, Morocco

Pr. Tarik HARTANI
Tipaza University, Algeria

Pr. Youcef M'SADAK
ISA, Tunisia

Pr. Yves-Alain BEKRO
Abobo-Adjamé University, Côte d'Ivoire

Pr. abdelhafid KHELIDJ
*Université de Nantes (IUT de St Nazaire)
France*

Pr. Said GHOUL
*Philadelphia University, Faculty of information
Technology, Jordan*

Pr. Karim Arab
Université de Boumerdès, Algeria

Pr. Ali RIAZI
Université de Mostaganem, Algeria

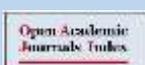
Pr. Mohamed TAKY
Université Ibn Tofail - Kénitra . Maroc

Thomas SILOU
*EST Cataractes, Faculté des Sciences et
Techniques, Brazzaville, Congo*

Pr. Fodil MERAGHNI
*Ecole Nationale Supérieure d'Arts et
Métiers, Paris*

Secretary: MAHMOUD Benaouda; b.mahmoud@univ-chlef.dz

Nature and Technology
is indexed by:



Address: Revue Nature et Technologie, Direction des Publications, Rectorat de l'Université Hassiba BENBOUALI de Chlef, Algérie

Tel.: +213(0)27.72.70.57; **Fax:** +213(0)27.72.70.57

Web sites: <http://www.univ-chlef.dz/revuenatec/> ;

<https://www.asjp.cerist.dz/en/PresentationRevue/47>

Editorial

“ Ose rêver. Ose essayer. Ose te tromper. Ose avoir du succès. Vas-y. Je te lance un défi ! ”

G. Kingsley Ward (Letters of a businessman to his son).

Voilà Monsieur Kingsley, on a rêvé d'une revue ; on a fondé la revue. Nous nous efforçons d'avoir le succès escompté.

Maintenant, 10 ans après, on se lance le défi de la maintenir parmi la multitude de revues qui existent et la prolifération des nouvelles publications, notamment grâce à la possibilité de publier uniquement en format électronique, et à la montée du mouvement du libre accès, chose qui n'est pas facile.

Mais, notre université, les membres de la rédaction de la revue avec la précieuse et immuable collaboration de nos reviewers, tous et toutes bénévol(e)s, avons la volonté nécessaire pour le faire.

Pour faire le bilan :

- 581 articles en tout, dont 113 rejets, soit un taux de 19,44%, ce qui reflète le sérieux et la qualité des évaluations ;
- 30% des Articles provenant à ce jour de 11 pays ;
- 879 référ(e)s de 20 pays, dont 50% sont des étrangers et 90% d'eux est de rang professorale ou de maître de recherche.

Et **Non** M. Kingsley, on **ne** s'est **pas** trompé, la "**Revue Nature et Technologie**" est toujours présente bien que le défi le soit aussi et de tous les jours.

En fin, ont rend hommage au feu Pr. Mohammed QARRO, co-auteur de l'article intitulé "*La mise en culture des terres de parcours : Quantification d'une menace à la durabilité des écosystèmes forestiers du Moyen Atlas Central (cas de la province d'Ifrane, Maroc)* » qui s'est éteint quelques temps avant publication de ce numéro et dont l'auteure correspondante Mme. HAMZAoui Imane nous a fait part.

Vos commentaires nous intéressent. Faites-nous part.

Pr. Bensaid BOULEBACHE.

Éditeur en chef de la revue.



Vol. A: Fundamental and Engineering Sciences

Sciences Fondamentales et Ingénierie

Quantification urban heat island (UHI) using the local climate zone classification (LCZ): A case study in Constantine 01

Dounia KHELLAF and Saliha ABDOU

Laboratory "ABE" (bioclimatic architecture and environment), University of Salah Bounnider, Constantine 3, Algeria.

Vers un système peer-to-peer d'aide à la décision en périodes d'épidémies : COVID-19 comme exemple 17

Badr MERAD^{a,b}, Khaled BELKADI^{a,c}, Abderrahmane MESSOUS^{d,e}

^a Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, Oran, Algérie

^b LABGEM Laboratory, Higher School of Electrical Engineering and Energetic (ESG2E), Oran, Algeria

^c Laboratoire SIMPA (Signal-Image-Parole), Département d'Informatique, Faculté de Mathématiques et Informatique, USTO-MB, Oran, Algérie

^d Université Hassiba Benbouali de Chlef, Chlef, Algérie

^e Laboratoire d'Informatique d'Oran (LIO), Faculté des sciences exactes et appliquées, Université d'Oran 1, Oran, Algérie

Vol. B: Agronomy and Biological Sciences

Agronomie et Sciences Biologiques

Characterization of fluorescent Rhizobacteria isolated from Oleander (*Nerium oleander* L.) and Olivier (*Olea oleaster* L.) with antagonistic effect against *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* 23

Hadj Ahmed BELAOUNI^a, Mohammed El-Amine BENDAHA^{b,c}, Bouziane ABBOUNI^d, Mostefa NAIMI^e, Mohamed LABDI^f

^a Microbial Systems Biology Laboratory (LBSM), École Normale Supérieure de Kouba, Algiers, Algeria.

^b Molecular Biology, Genomics and Bioinformatics Laboratory, Hassiba Ben Bouali University of Chlef, Algeria.

^c Mustapha Stambouli University of Mascara, Algeria

^d Molecular Microbiology, Proteomics and Health Laboratory, Djillali Liabes University of Sidi Bel Abbes, Algeria.

^e Biology Department of the University of Nour Bachir, El-Bayadh, Algeria.

^f Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, Unité de Recherche Ouest, Sidi Bel Abbes, Algeria.

Détermination et caractérisation des sidérophores synthétisés par quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents phyto-bénéfiques 39

Farida BENZINA TIHAR^a, Hakima OULEBSIR-MOHAND KACI^a, Sonia HAMID^{a,b}, Abd-Ennaceur REGHMIT^a, Fatma SAHIR-HALOUNE^a

^a École Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA), Avenue Hassan Badi - 2 Rue des Frères OUDEK El Harrach, Algérie

^b Université M'Hamed Bougara de Boumerdès, Avenue de l'indépendance, Boumerdès 35 000, Algérie

Évaluation de la diversité agro-morphologique des accessions de maïs (*Zea mays* L.) originaires des Oasis Sahariennes 53

Nawel BELALIA^{a,b,*}, Majda KHELIFI-SLAOUI^a, Lakhdar KHELIFI^a

^a Laboratoire de Valorisation et Conservation des Ressources Naturelles, Département de Biologie, Université M'hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.

^b Université Akli Mohand Ouladjd Bouira, Algérie

Évolution de la fraction lipidique et protéique au cours de la maturation de la datte Deglet-Nour 65

Karima YAHIAOUI^a, Bouchenak OUAHIBA^b, Karim ARAB^c, Ahmed BENCHABANE^d

^a Laboratoire Technologie Alimentaire, Faculté de Technologie, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie

^b Laboratoire Bio-informatique, Microbiologie Appliquée et Biomolécules, Faculté des Sciences, Université M'hamed Bouguerra, Boumerdes, Algérie

^c Laboratoire Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques, Faculté des Sciences, Université M'hamed Bouguerra, Boumerdes, Algérie

Inhibition de l'oxydation de l'huile de Tournesol produite en Algérie par les produits de Maillard 72

MEZIANI Samira^{a,*}, MENADI Nouredine^a, HAOUD Khadidja^a, MEHIDDA Hayet^a, BENATTOUCHE Zouaoui^b, BENALI Mohammed^a

^a Laboratoire de Biotoxicologie, faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Djillali-Liabès. Sidi Bel Abbès. Algérie

^b Laboratoire de Biochimie. Université de Mascara

Vol. C : Environmental Sciences

Sciences de l'Environnement

La mise en culture des terres de parcours : Quantification d'une menace à la durabilité des écosystèmes forestiers du Moyen Atlas Central (cas de la province d'Ifrane, Maroc) 81

Imane HAMZAOUÏ^a, Najib GMIRA^a, Mohammed QARRO^b

^a Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences, Laboratoire de Biodiversité et Ressources Naturelles, Kénitra, 14000, Maroc.

^b Ecole Nationale Forestière d'Ingénieurs, Département de Développement Forestier, Salé, Maroc.

Étude de la végétation des jardins privés de la ville de Yamoussoukro (Centre, Côte d'Ivoire) 91

Gnagne Jules Richard NOMEL^{a,*}, Roland Hervé KOUASSI^b, Alain Serge Augustin AMBE^b, Mada DOUMBIA^a, Kouakou Edouard N'GUESSAN^b

^a UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

^b Laboratoire de Biologie Végétale, Département des Sciences et Technologies, École Normale Supérieure d'Abidjan, 08 BP 10 Abidjan 08, Côte d'Ivoire

Submitted on: 09/10/2019

Revised for Accepted on: 10/08/2020

Corresponding author: douniakhellaf43@gmail.com



**Revue
Nature et Technologie**

<http://www.univ-chlef.dz/revuenatec>

ISSN: 1112-9778 – EISSN: 2437-0312

Quantification urban heat island (UHI) using the local climate zone classification (LCZ): A case study in Constantine

Dounia KHELLAF* and Saliha ABDOU

Laboratory "ABE" (bioclimatic architecture and environment), University of Salah Boubnider, Constantine 3, Algeria.

Abstract

The number of issues assigned to the risks of urban warming has highlighted the extremely problematic nature of this phenomenon that affects the local climate characteristics of urban areas. In this context, city planners are strongly solicited to consider climatic information in their process of design. The use of classification schemes, such as Local Climate Zone (LCZ) is adapted for this type of application. This contribution aims, through the use of the newly developed climate scheme -called LCZ -, to give a better understanding and more objective assessment of the atmospheric Urban Heat Island (UHI) phenomenon in Constantine (Algeria). The three-step procedure of LCZ workflow has been followed in the case study area, to classify the landscape into fragments that are homogeneous in terms of urban characteristics and thermal features. Urban form parameters have been calculated so as to build LCZ types in the study Area. Two measurement campaigns were carried out using fixed stations; to investigate screen-height air temperature distribution inside two LCZ (LCZ5 "open mid-rise", LCZ2 "compact mid-rise"). Results showed that air temperature intensity has mainly demonstrated a small daily gap and higher night-time amplitude in urbanized LCZ types.

Keywords: Constantine; Local Climate Zone (LCZ); Urban Climate/Urban Heat Island (UHI)

1. Introduction:

Cities represent the most significant human environment, both in terms of the physical artefacts and socioeconomic activities associated with the processes of urbanization [1]. The physical presence of cities has a direct corollary of local disturbances in all types of exchanges (radiative, thermal, aerodynamic...) between the surface of the ground and the atmosphere, generating a specifically urban climate. Urban areas modify their climate [2]; these modifications include increasing temperature, changing wind speed, cloud cover and solar irradiances [3]. The iconic manifestation of the altered urban climate is the positive thermal anomalies associated with urban air temperature. This feature has received widespread attention in the environmental science, used to reflect microclimatic changes in urban zones, broadly recognized as Urban Heat Island (UHI).

The concept of UHI describes the excess warmth of the urban atmosphere compared to the rural surroundings [4]; it is best visualized as a dome of stagnant warm air over the heavily built-up areas of the city [5].

Conventionally, UHI intensity is interpreted and expressed on the basis of synchronous screen-height air temperature values differences between samples stations representing urban and rural areas.

The physical explanation of the existence of the thermal gap is given by the difference in surface energy budget between urban and rural areas. Four urban surface parameters have been reported in the literature [6,7] as determined in the genesis of UHI: urban morphology, urban coverage, urban materials and urban metabolism. However, the role played by particular factors vary from city to city, with respect to differences in geographical location, overall size, number of inhabitants and more [8].

This anomaly has several practical effects (positive or negative) depends on the city's macroclimate. In relatively cold climates or seasons, heat islands convey many benefits to energy savings in buildings, outdoor thermal comfort of citizens, road maintenance and more. On the other hand, in hot cities or hot season, urban context is a critical scale owing to significant environmental, energetic and sanitary implication such



This is an open access article distributed under the [Creative Commons Attribution License CC-BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

as public health, energy consumption and outdoor air quality. The number of problems allocated to the risks of urban heat island has highlighted the extremely problematic nature of this anomaly that affects the specific climate of cities. That is why it is necessary today, to increase our knowledge about the subject, to provide solutions that will reduce their harmful effects.

In the literature of urban climate, theoretical and experimental studies of UHI are very abundant [9].

Observational data (in-situ ground-based, fixed or mobile) has been widely applied and recognized as an effective data source to investigating this phenomenon [10]. Through time, however, methodologists have raised concerns about the authenticity with which this data (UHI information) have been gathered and reported [11].

The conventional approach that evaluates the UHI by comparing urban with rural observations has been dissected by several researchers [12-14], who have highlighted significant gaps in the existing theoretical aspects. The root of these gaps is argued to urban climatology's longstanding paradigm for space classification, the Urban (U) –Rural (R) dichotomy [13]. The use of these simplistic descriptors (U-R) has given researchers a simple framework to separate the effects of the city and country on local climate [7].

I.D. Stewart in a systematic review and scientific critique of our background research of observational UHI [11], evaluated a sample of 190 studies between 1950 and 2007, based on criteria of experimental design and communication. The study is concluded with discouraging outlook as the majority of the published UHI magnitude are not scientifically defensible. Weaknesses identified include a lack of experimental control, inappropriate choice of sites, definition of UHI magnitude is not given, inadequate exposure of sensors, failure to adequately document the sites. From these problems arose the need for a protocol that makes heat island observation more credible and reliable. For this reason, scientists have developed landscape classification in order to study the relationship between urban fabric and local climate. In the state of art, we count as referent the systems of Auer [15], Ellefsen [16], Davenport [17]. But it is Tim Oke [6] who has advanced towards a universal system; the urban climate zone

(UCZ), which has been adopted by the World Meteorological Organization (WMO). Currently, Stewart and Oke over these systems to create a more detailed and more universal method called "Local Climate Zone (LCZ)" [7].

A Local Climate Zone is defined as an area with a minimum diameter of 400 m which demonstrates both uniform features in terms of urban morphology, land use, urban material and urban metabolism and a characteristic screen-height temperature regime under calm and clear sky [7]. LCZ classification has 17 categories; all are presented in a clear and standardized format "Datasheet", based on quantitative and qualitative descriptions [7]. Each LCZ has a unique climatic behavior [18], from which is derived a standardized definition of the UHI magnitude that is expressed more objectively by comparing inter-zone thermal reactions. The LCZ scheme provides a research base for UHI studies and standardizes worldwide discussions of urban temperature observations.

The LCZ system was initially designed for establishing a common protocol for observational studies of urban temperature, in order to standardize their exchange at the global level. For this, the method is being validated in different cities around the world, Onitsha (Nigeria) [19], Dublin (Ireland) [1], Köchi (India) [20], Nancy (France) [18] and Singapore [21]. The protocol is adapted to other problems. It is an applicable tool in urban spatial mapping [22,23]. It can also support simulation studies [24,25], providing an urban database, for the development and application of numerical models. This scheme provides a foundation for the development and installation of urban meteorological station networks [26,27]. Recently, the local climate zone framework has been proposed in support of the World Urban Database and Access Portal Tools ([WUDAPT](http://www.wudapt.org/))¹ initiative.

Urbanization in Algeria has been rapid since the independence (1962s). According to the latest census, it has been found that urbanization rate reached 63% in 2008 and this number will likely rise to 80% by 2025.

The spectacular urbanization process, often poorly or not at all controlled, have generated complex issues and made urban management extremely difficult. It has significantly changed the morphology and local climate

¹ <http://www.wudapt.org/>

conditions in urban area. A serial of environmental problems, especially the increase in temperature, is seriously affecting on life of urban residents. The average temperature increase in Algeria is of the order of 1°C to 2°C, with a decline of 12% of rainfall between 1990 and 2005 (National Organization of Meteorology - [ONM](#))². Because of this, it is important to understand the urban morphology and its impact on the local thermal environment.

The present study aims to apply the newly developed LCZ classification scheme in Constantine (In the east of Algeria), in order to quantify the intra-urban air temperature variations across test field site, under typical summer weather. This system has been tested all over the world, especially in developed countries. The idea behind this work is to adopt this approach in a developing country, with all its problems of urban planning and environment.

2. Materials and Methods

2.1. Site description

Constantine, with a total area of about 1 297.2 Km², is located in the North-Eastern part of Algeria, between 36°17'N of latitude and 6°37'E of longitude (Figure1). The site is characterized by an exceptionally rugged soil, marked by juxtapositions of high plain and hills, where the elevation ranges from sea level to over 694 meters. Constantine has a semi-arid climate marked by a long period of summer drought, ranges from 5 to 6 months. According to ONM, the relevant annual averages for the climatological period (1980-2014) are as follows: air temperature is 34.5°C in July and 2.7°C in January; relative humidity is 67.17% and precipitation is 517.08 mm.

As one of the fastest growing cities in Algeria, Constantine is a populous city with about 939 000 inhabitants (based on 2008 [national census](#))³. It has undergone rapid urbanization and changes in its physical landscape over the last 50 years, resulting in serious urban environmental problems including the tendency of raising average temperature.

According to meteorological data from ONM, the mean annual air temperature of Constantine has been rising since 1972.

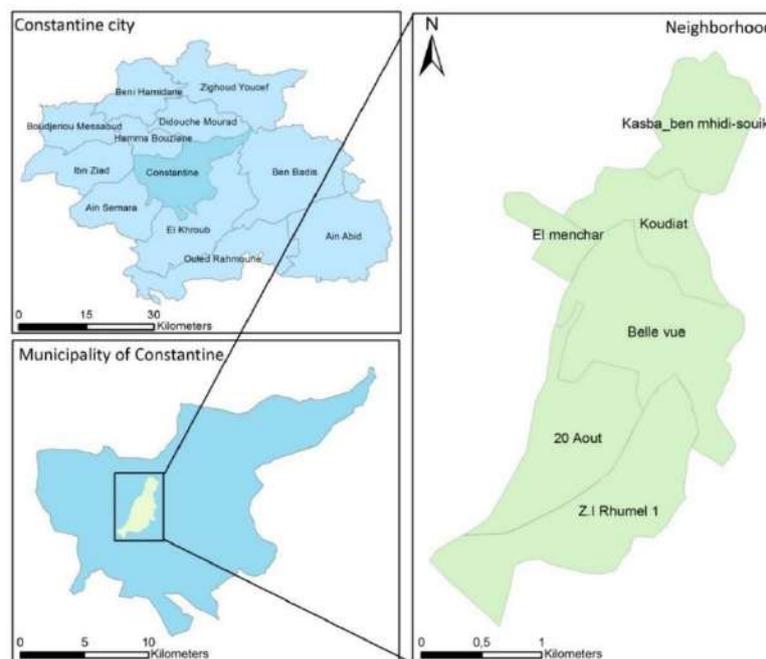


Figure 1. Localization of the area under study.

² <https://www.meteo.dz/>

³ <https://www.ons.dz/spip.php?rubrique43>

2.2. Study design

In this research, the process adopted into LCZ building was developed and tested in the area presented in figure 1. It was based on the guideline developed by Stewart and Oke [7].

- Step 01: Collect site metadata

Metadata refers to the state of the urban context around a particular measurement site. Of the sample of literature reviews [11], three quarters of it failed to provide sufficient metadata to describe site conditions (gives only qualitative description). This makes it difficult to interpret this anomaly reliably. To filling this gap, LCZ inventors provide ten measurable physical parameters that have been reported in the literature as determining in the genesis of UHI (Table 1).

As part of this work, seven out of ten parameters (related to urban form: SVF, AR, BSF, ISF, PSF, H, ZO) are used to construct LCZs. The three parameters related to urban function (Surface albedo, admittance and anthropogenic heat) were not determined due to the lack of input data for urban materials and anthropogenic activities.

Table 1
Zone properties of LCZ system [7]

Type of properties	
Geometric, surface cover	Thermal, radiative, metabolic
Sky view factor (SVF)	Surface admittance
Aspect ratio (AR)	Surface albedo
Building surface fraction (BSF)	Anthropogenic heat flux
Impervious surface fraction (ISF)	
Pervious surface fraction (PSF)	
Height of roughness elements (H)	
Terrain roughness class (ZO)	

Researches have demonstrated the possibility of constructing LCZs using only the seven selected indicators [18,20]. To collect metadata, several methods have been proposed in the literature, including approaches using remote sensing data [28] and GIS methods [29,30].

In response to the lack of sufficiently detailed spatial data and the lack of basic information in the case of this

work, alternative sources were used, including satellite images, topographic maps, published tables of values' properties, field visits.

- Step 02: Define the thermal Source area:

The second step is to choose - for each LCZ - the appropriate site for the installation of weather stations, which are used to determine the thermal effects of surface properties. The source area represents the field of view of the sensor; its dimensions are difficult to specify, but approximately, its diameter does not exceed a few hundred meters for temperature measurements at 2 m height [6].

Researchers used circles with different spatial resolution: 500 m, 250 m, 200 m, 100 m [6,19,21,22]. Oke and Stewart [7] argued that it has 100 m radius for densely built-up areas and 200 m radius for open lands areas. As part of this work, the calculation of the seven quantitative indicators selected in the previous step is carried out in a diameter of 200 m around the installation point of the thermal sensor. Source areas have been built according to the requirements addressed by Lecomte *et al.* [18] and Stewart and Oke [31].

- Step 03: Select the Local Climate Zone:

The final step is to find a correlation between the values of the surface parameters observed in each urban site (previous step) and the metadata of the LCZ types, proposed in the guideline, presented in form of data sheet. Intervals suggested represent, according to F. Leconte [32], the approximate limits within which the values of the collected urban indicators are included.

The purpose of this step is to select the appropriate LCZ category, which best fits the measurement site under study, among the seventeen LCZ proposed in the classification system (Figure 2).

The production of the LCZ map of the field study was based on theoretical segmentation of the area. According to the LCZ framework, type of landscape (building or plant), height of objects and density of objects are the three aspects for logical division [33]. Thus, three information layers were produced, each representing a classified map of the study area in one of the preceding criteria. The LCZs are obtained by the superposition of the three layers.



Figure 2. Local climate zone scheme. Source: [7]

2.3. Protocol measurement to quantify UHI (Fixed Recording Stations):

Meteorological data has traditionally been carried out via in-situ approach, using fixed or mobile weather stations. D. Stewart highlights the importance of time control during UHI measurement, to avoid confusion between urban-induced heat islands and time-induced heat islands [11]. For this reason, we chose the fixed measurement approach that, unlike the mobile methods, allows to measure temperatures synchronously. Our experimental proposes to carry out in-situ monitoring in two local climatic zones: LCZ₂ and LCZ₅, in order to study and compare the climatic characteristics of these environments. The two source areas, as well as the coordinates of the observational points, are shown in figures 3 and 4.

- The First point: LCZ₂ “compact mid-rise”: Lat: 36°21'44.33"N, Long: 6°36'22.44"E
- The second point: LCZ₅ “Open mid-rise”: Lat: 36°20'36.09"N, Long: 6°36'8.99"E

Temperature, relative humidity and wind speed of the two sample locations were measured using manual weather station LM-8000 with an accuracy of ± 0.2°C. Before the measurement, the equipment used (fixed stations) benefited from the same conditions in terms of temperature and relative humidity (put in the same room away from light for days) in order to decrease the margin of errors on the site. The recommendations for the installation of measuring instruments proposed in the protocol of T. Oke [6] were also followed:

- Measurements were taken at a standard height of 1.5 meters above ground;
- We took care to ensure that each station was naturally ventilated and was not excessively sheltered by obstacles;
- Stations are placed away from walls of buildings (>1m) and trees likely to distort the measure (not influenced by drafts and shadows).

Data acquisition took place over a 3-day period in August 2016 (hot and sunny summer days). For reasons

of security, measurement period was from 7 am to 12 pm, realized simultaneously at both sites, set at a recording interval of one hour.



Figure 3. (a) Airborne view of LCZ₂; (b) Street view in LCZ₂



Figure 4. (a) Airborne view of LCZ₅; (b) Street view in LCZ₅

2.4. Measurement conditions

Our measurements have been performed under standardized meteorological conditions described in [6,18,22] as follows: calm and light winds, clear sky in the hours preceding the monitoring, no significant precipitation on the days of measurement and in the previous 24 hours.

The climatic context in which the measures are taken is: an average air temperature of 35.1°C; a relative humidity of 40.8%; wind speed is less than 6 m/s at 10 m high. Also; the topography of Constantine has been taken into account. The difference in altitude between the two monitoring points is in the range of 30 to 40 m. This altitude does not lead to any significant change in air temperature measurements [18,31].

3. Results and discussion

Using the classification procedure described above, we compiled a spatial distribution maps of LCZ sample sites for the selected study area figure 5. The cartography allows to characterizing representative samples of the main urban forms found in the investigated site. Only nine of LCZ (over the seventeen existing classes of LCZ) have been distinguished, seven of which belong to build types, while two LCZ belong to the land-cover types.

The survey of the existing LCZ typologies relevant for the area under study showed that the historical core and its narrow environment form “Compact” areas of medium height. The “Open set” is the most frequent type of development in the rest of the region of interest (low to medium height). Given the chosen site (urbanized), undeveloped areas are minimal. In addition to LCZ_B type characterized by scattered trees, there are still landscapes representing by bare soil (LCZ_F).

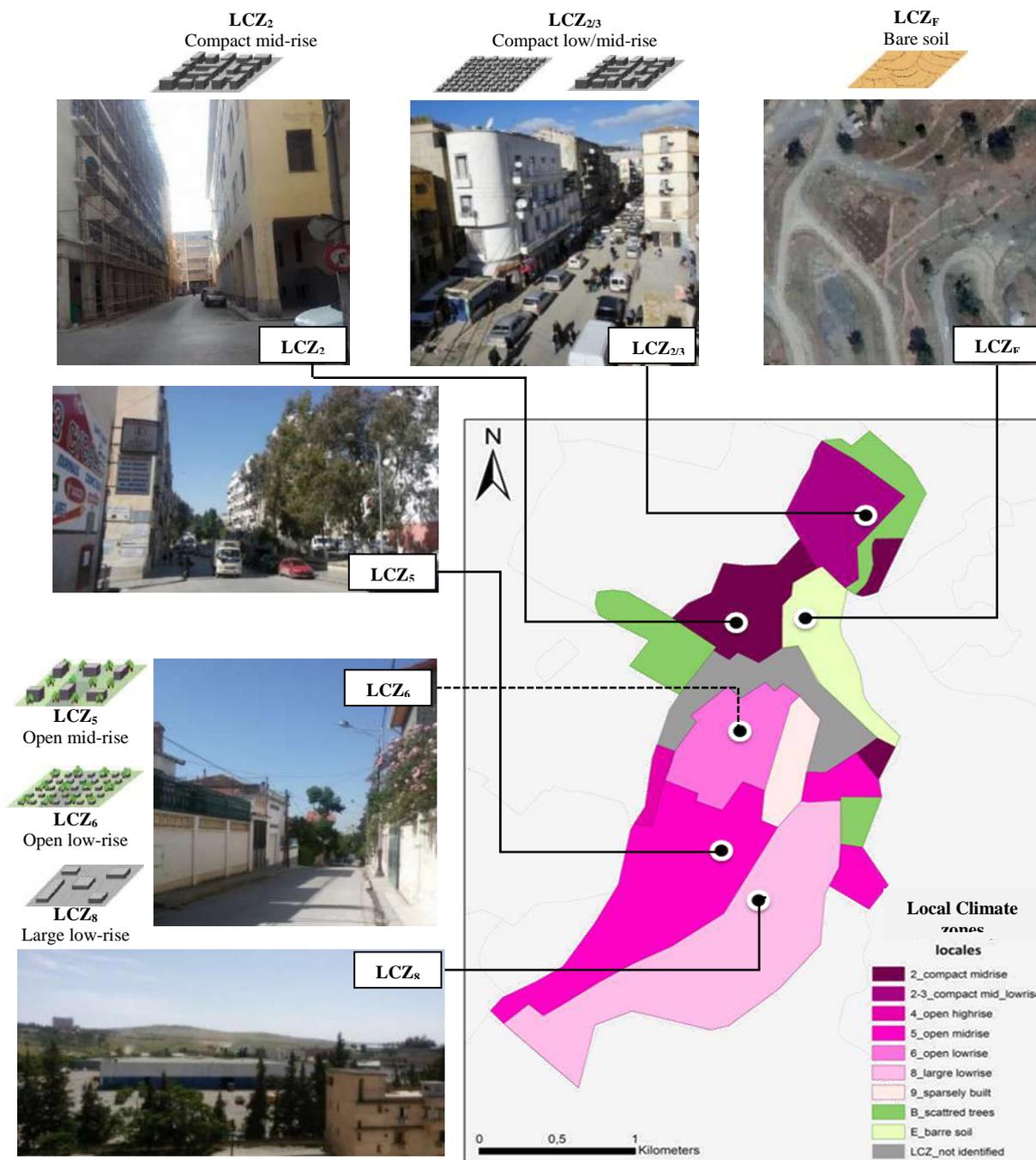
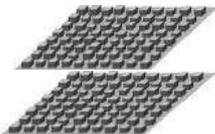


Figure 5- LCZs map of the study area (circles correspond to the LCZs where we have deepened our study).

The urban fragments that do not meet the classification scheme requirements are not retained in our study, either because they represent a mixture of landscapes and local specificities (important heterogeneity), defined as “Not identified”, or because they have a small area. According to Stewart and Oke each LCZ must have a minimum diameter of 400 to 1000 m [7].

Seeking to validate whether the LCZ classes addressed to each urban fragment - the previous phase - are adequately selected, a calculation of the seven urban indicators related to urban morphology and land cover, at the source area of each class, is operated. Table 2 summarizes metadata for urban LCZ retained in our study.

Table 2
Metadata descriptions of the five LCZs retained in this study.

LCZ	Description	Aerial View (Google Earth)	Physical indicators
LCZ ₂ Compact mid-rise			SVF: 0.22 AR: > 3 H: 22.8m R class: 7 BSF: 48.87% ISF: 48.52% PSF: 2.61%
LCZ _{2/3} Compact mid/low-rise			SVF: 0.18 AR: > 2 H: 12.58m R class: 7 BSF: 67.31% ISF: 29.94% PSF: 02.75%
LCZ ₅ Open Mid-rise			SVF: 0.59 AR: 0.54 H: 15.35m R class: 7 BSF: 19.45% ISF: 49.28% PSF: 31.26%
LCZ ₆ Open low-rise			SVF: 0.74 AR: 0.68 H: 7.5m R class: 5 BSF: 31.36% ISF: 20.65% PSF: 47.99%
LCZ ₈ Large low-rise			SVF: 0.63 AR: 0.34 H: 7.58m R class: 6 BSF: 31.73% ISF: 52.15% PSF: 16.11%

These values are compared with intervals suggested in the framework. Urban indicators values of three LCZ are presented in figure 6 to 8.

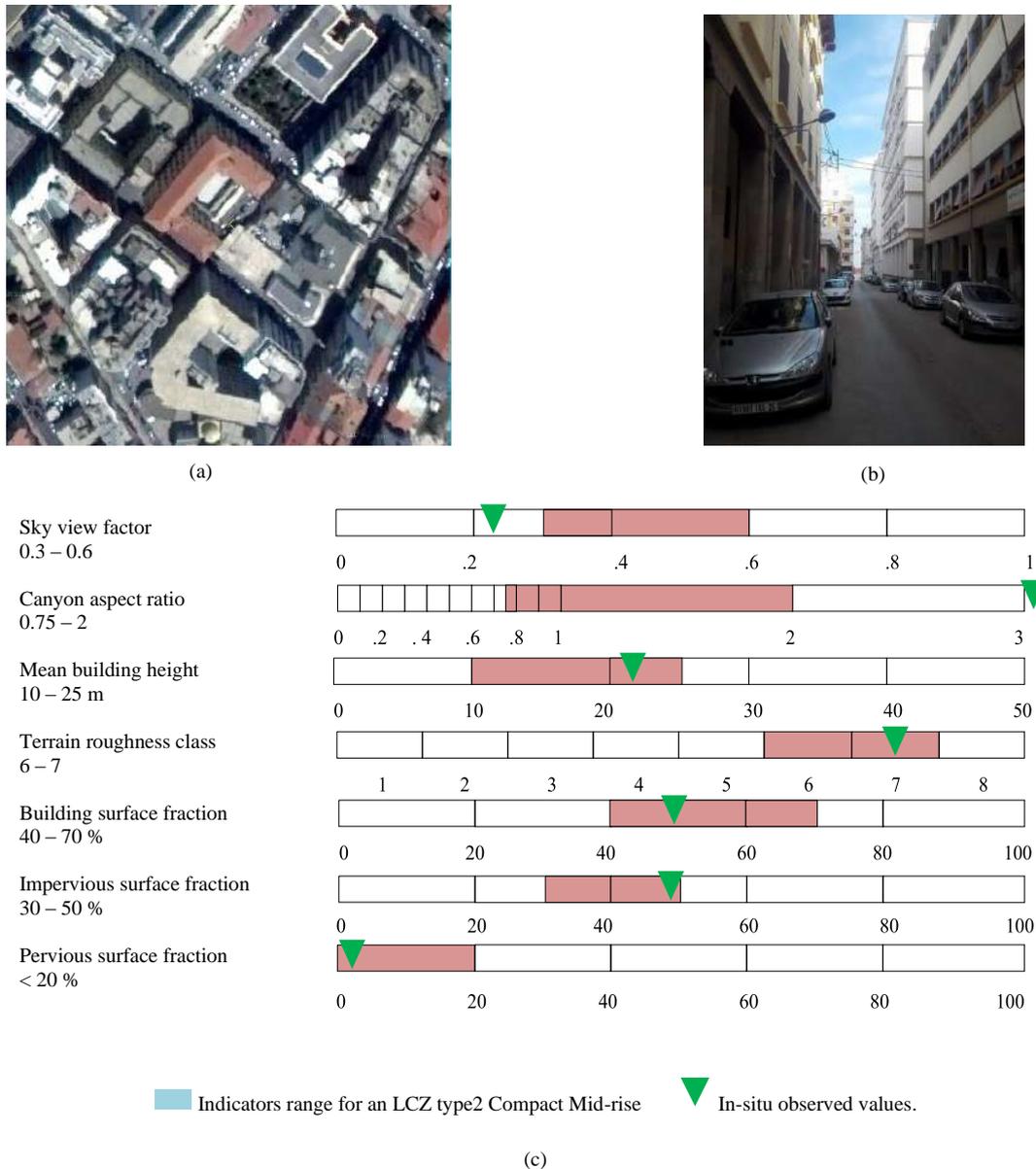
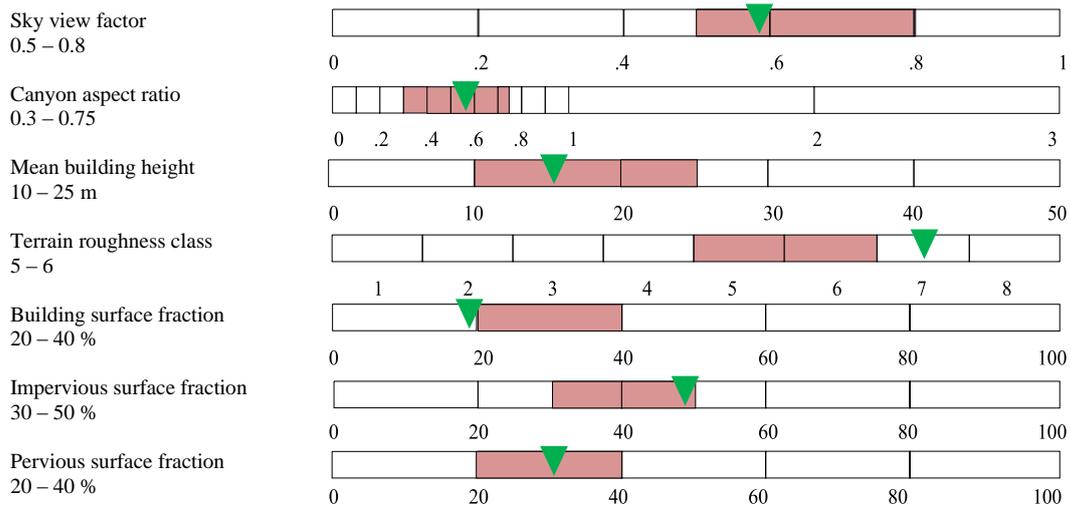


Figure 6. (a). Airborne view of LCZ₂ ; (b) Street view in LCZ₂ ; (c) Indicators values for the LCZ₂



(a)

(b)



■ Indicators range for an LCZ type5 Open Mid-rise ▼ In-situ observed values.

(c)

Figure 7. (a). Airborne view of LCZ₅ (b) Street view in LCZ₅ (c) Indicators values for the LCZ₅



Fig-8. (a). Airborne view of LCZ₆ (b) Street view in LCZ₆ (c) Indicators values for the LCZ₆

The class LCZ2 “Compact Mid-rise” represents the dense urban environment found in the old town center (Coudiat, Saint-Jean). Quantitative values of urban land cover are within the original recommended boundaries. In terms of urban morphology, two (height, roughness class) of the four parameters agree with the proposed values, while intervals suggested in the guideline for the aspect ratio were too reductive for this LCZ. Moreover,

the spatial entity of dense urban fabric that covers “Medina of Constantine” is on the edge between two types (hybrid buildings of low to medium height). The calculation of physical indicators does not allow to determinate an LCZ type. In terms of land cover, the observed properties correspond to a compact low-rise LCZ3, while the morphology values are of the “Mid-rise

LCZ2” type. For this purpose, this sample is considered as LCZ2/3.

In the previous cases, Sky View Factor (SVF) and aspect ratio (AR) values are outside the suggested intervals. Both indicators (SVF, AR) are strongly depending on urban configuration and urban composition.

It should be noted that the rang of different parameters values proposed by Stewart and Oke [7], were based on results of their work in three representative cities of Europe, North America and Asia. It may not be adequate to describe the land features of cities in Algeria (a developing country) which represent a heterogeneous profile with different urban structures and forms. This statement is found in Nigeria [19], China [34] and Barranquilla⁴ [35]. Thus, the calculation of indicators corresponds to the average over the whole area, including the hearts of islands, square and more [18]. In this study, given the lack of data, the work was done at the level of canyons only (patios are not taken into consideration).

The LCZ5 class “Open mid-rise” is characterized by open arrangement of mid-rise residential buildings (3-9 stories). The LCZ6 category “Open low-rise” is dominated by residential neighborhoods of single-story houses with 1 to 3 levels. The Large Low-rise class (LCZ8) has been selected at the industrial zone. In line with its activities (tertiary, light industry), it has large low buildings with a considerable footprint (warehouse, factories). The only sample of land cover type selected in this study represents natural landscape “bare land” (LCZF).

In these last four classes, the observed data (definitions, illustrations and physical properties) match perfectly with the metadata of the corresponding types

suggested in the classification scheme. In general, the results found in the study area show an acceptable correspondence between the theoretical reference values proposed in the framework and those found in reality.

3.1. Field observations

Stewart *et al.* [36] have argued that one of the advantages of the LCZ scheme is that each class has a unique thermal behaviour that would establish in advance the possibility of an UHI, between urban and rural areas, as well as thermal variations between urban areas. Thermal differentiation of LCZs varies with the degree of structural and material separation between zones [31]. Hypothetically, classes must demonstrate thermal gradient from the most compact to the most open.

The greatest intensity of temperature would develop at the level of the city center dominated by compact types (LCZ2, LCZ2/3), explained by the high rate of soil waterproofing (> 97%) and the height of buildings. In second place are open urban fragments: (LCZ5) open mid-rise followed by (LCZ6) open low-rise and (LCZ8) large low-rise class. The natural zone LCZF would have a behaviour favourable to the formation of a coolness island. This possible nocturnal UHI has been checked by making field observations.

Data acquisition took place over a 3-day period. In this paper, we presented one typical measurement day. The Hourly profiles of screen height air temperature through two LCZs in summer are shown in the figure 9, in which, the x-axis shows the hours of measurement and the Y-axis shows the average air temperature of each LCZ type.

⁴ The capital district of [Atlántico Department](#) in [Colombia](#)

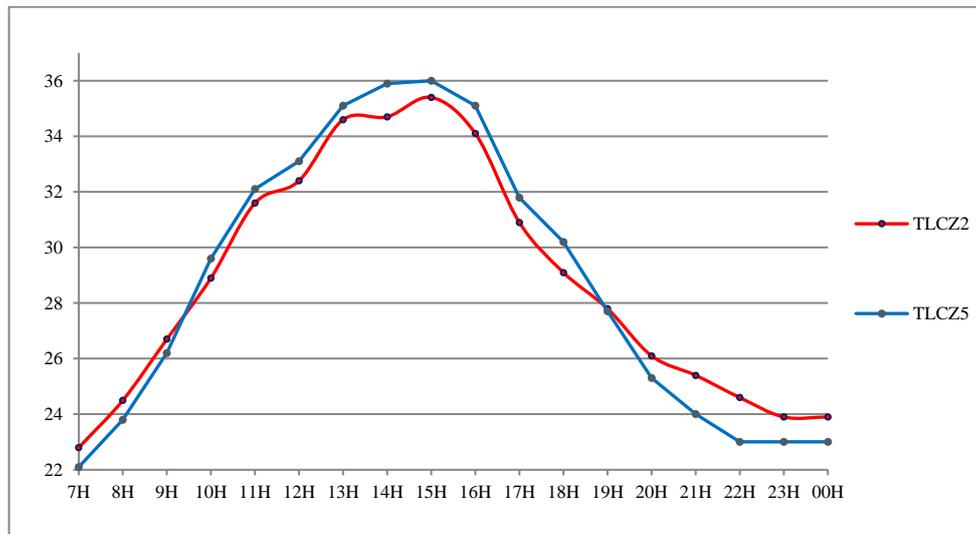


Figure 9. Screen-air temperature measured within LCZ₂ and LCZ₅

Profiles show that:

- During the day, air temperature T_{air} values recorded within the two fragments have a very similar tendency. The results indicate a range of difference with a small gap (0.5 to 0.9°C). The LCZ2 “compact Mid-rise” shows temperature values slightly lower than those observed within LCZ5 “Open Mid-rise”. This magnitude is attributing to the fact that solar radiation penetration in the LCZ5 is higher. In open mid-rise area, the buildings are not smaller than the compact mid-rise area, but the dominant range of the SVF decreased significantly.

The relationship between LCZ air temperatures derived here corresponds well with recent work done in cities elsewhere. Observational results in Uppsala [31], confirmed that ΔT LCZ5 - LCZ2 is less than 0.8°C. Leconte *et al.* [18] found temperature difference of approximately 0.4°C in Nancy. These results are in line with T. Oke [37] observation that suggests that diurnal air temperature magnitudes within an agglomeration are small.

- During the night, when there was no direct solar radiation in urban areas, the air temperature results tend to reverse. The T_{air} values observed in LCZ2 are higher than those of the open zone with maximum deviation of 1.6°C after three to four hours of sunset (22h).

This is attributed to the surface characteristics of the two zones that are highly different (materials and morphology), which causes a difference in the cooling rate. Radiative losses are developed in the open area due

to the high SVF values, thus reducing the air temperature. In opposition, radiative trapping at the canyons of the compact zone considerably reduces the rate of cooling. In view of the conceptual typology of UHI proposed in [38], the temperature difference obtained in this study (1.6°C) is below the limit proposed by the researcher (2 to 5°C), moreover, it shows similarities with that obtained in Nancy by [18] (1.3 to 1.8°C). Leconte *et al.* [18] argued that the size of the agglomeration and the number of population different of Vancouver, Uppsala and Nagano, could be a justification for this difference. Alexander *et al.* [1] highlighted that comparison with other studies should be interpreted with caution in light of the differences in instrumentation, study period, sitting and background climate. In each study, the micro and local scale differ in term of surface cover, surface relief, built structure, thermometer exposure and thermometer accuracy at the measurement sites.

4. Conclusions

This paper discusses the quantification of UHI magnitude of Constantine during the summer season. To that purpose, LCZ workflow has been applied in a small sample of the city. An LCZ cartography has been built allows for the construction of 12 class. Urban physical parameters have been calculated within a selection of 6 LCZ. Results show a good correlation with the LCZ scheme categories.

LCZ can be used to make a reasonable suggestion about thermal behaviour in fragments where there are no observations. A hypothetical scenario of a possible nocturnal UHI has been advanced. Analysis of spatial air temperature distribution inside the two LCZ reveals that maximum intensity was seen in compact mid-rise zones which cover the central part of the city.

Some limitations have been assigned to the application of LCZ methodology in Constantine:

1. Methods used to define the LCZs contours, which was based on the author's visual estimation, poses problems especially in the case of our cities with their heterogeneous profile.
2. The determination of most urban indicators is a difficult and time-consuming task, especially in the absence of information and an urban database. Calculation methods used such as manual estimation could be associated with uncertainties.

Acknowledgments

The authors would like to express their gratitude to the director and Research team of Laboratory Bioclimatic Architecture and Environment, University of Constantine 03 (Algeria), for their support, advice and thorough supervision throughout this study.

References

- [1] Alexander P. J. and Mills G., Local climate classification and Dublin's urban heat island, *Atmosphere*, 5 (4) (2014): 755–774. <https://doi.org/10.3390/atmos5040755>
- [2] Arnfield A. J., Two decades of urban climate research: a review of turbulence, exchanges of energy and water and the urban heat island, *Int. J. Climatol.*, 23 (1) (2003): 1–26. <https://doi.org/10.1002/joc.859>
- [3] Bhiwapurkar P., Urban climate change impacts on building heating and cooling energy demand, in Proceedings of the ARCC 2015 Conference Architectural Research Centers Consortium FUTURE of Architectural Research, 2015. http://www.arcc-arch.org/wp-content/uploads/2015/04/ARCC2015_Perkins-Will-Conference-Proceedings.pdf
- [4] Voogt J. A. and Oke T.R., Thermal remote sensing of urban climates, *Remote Sens. Environ.*, 86 (3) (2003): 370–384. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(03\)00079-8](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(03)00079-8)
- [5] Perera N. G. R., Emmanuel M. P. R. and Mahanama P. K. S., Projected urban development, changing 'Local Climate Zones' and relative warming effects in Colombo, Sri Lanka, in International Conference on Cities, People and Places-ICCPP-2013, 2013. <http://dl.lib.mrt.ac.lk/handle/123/10730>
- [6] Oke T.R., Initial guidance to obtain representative meteorological observations at urban sites, 2004. [Version HTML] : <https://www.wmo.int/pages/prog/www/IMOP/publications/IOM-81/IOM-81-UrbanMetObs.pdf>
- [7] Stewart I. D. and Oke T.R., Local climate zones for urban temperature studies, *Bull. Am. Meteorol. Soc.*, 93 (12) (2012): 1879–1900. <https://doi.org/10.1175/BAMS-D-11-00019.1>
- [8] Geletiç J., Lehnert M. and Dobrovolný P., Land Surface Temperature Differences within Local Climate Zones, Based on Two Central European Cities, *Remote Sens.*, 8 (10) (2016), p.788. <https://doi.org/10.3390/rs8100788>
- [9] Kourtidis K. *et al.*, A study of the hourly variability of the urban heat island effect in the Greater Athens Area during summer, *Sci. Total Environ.*, 5 (17) (2015): 162–177. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.062>
- [10] Wei C. Z. and Blaschke T., Identifying local scale climate zones of urban heat island from hj-1b satellite data using self-organizing maps., *Int. Arch. Photogramm. Remote Sens. Spat. Inf. Sci.*, 40, 2016. <https://doi.org/10.5194/isprs-archives-XXI-B8-1431-2016>
- [11] Stewart I. D., A systematic review and scientific critique of methodology in modern urban heat island literature, *Int. J. Climatol.*, 31 (2) (2011): 200–217. <https://doi.org/10.1002/joc.2141>
- [12] Lowry W. P., Empirical estimation of urban effects on climate: a problem analysis, *J. Appl. Meteorol.*, 16 (2) (1977): 129–135. [https://doi.org/10.1175/1520-0450\(1977\)016%3C0129:EEOUEO%3E2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0450(1977)016%3C0129:EEOUEO%3E2.0.CO;2)
- [13] Stewart I. D., Landscape representation and the urban-rural dichotomy in empirical urban heat island literature, 1950–2006, *Acta Climatol. Chorol.*, 40 (41) (2007): 111–121.
- [14] Stewart I.D. and Oke T.R., Methodological concerns surrounding the classification of urban and rural climate stations to define urban heat island magnitude, *Prepr. ICUC6 Göteb.*, 431, 2006. <http://www2.sci.u-szeged.hu/eghajlattan/akta07/111-121.pdf>
- [15] Auer A. H. Jr, Correlation of land use and cover with meteorological anomalies, *J. Appl. Meteorol.*, 17 (5) (1978): 636–643. [https://doi.org/10.1175/1520-0450\(1978\)017%3C0636:COLUAC%3E2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0450(1978)017%3C0636:COLUAC%3E2.0.CO;2)
- [16] Ellefsen R., Mapping and measuring buildings in the canopy boundary layer in ten US cities, *Energy Build.*, 16 (3) (1991): 1025–1049. [https://doi.org/10.1016/0378-7788\(91\)90097-M](https://doi.org/10.1016/0378-7788(91)90097-M)
- [17] Davenport A. G., Grimmond C. S. B., Oke T.R. and Wieringa J., Estimating the roughness of cities and sheltered country, in Proceedings 12th Conference on Applied Climatology, Asheville, NC, American Meteorological Society, Boston, May 8-12, 2000, pp 96–99.
- [18] Leconte F., Bouyer J., Clavierie R. and Pétrissans M., Using Local Climate Zone scheme for UHI assessment: Evaluation of the method using mobile measurements, *Build. Environ.*, 8 (3) (2015): 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2014.05.005>
- [19] Nduka I. C. and Abdulhamed A. I., Classifying urban climate field sites by 'thermal climate zones' the case of Onitsha metropolis, *Res. J. Environ. Earth Sci.*, 3 (2) (2011): 75–80. https://www.academia.edu/15294153/Classifying_Urban_Climate_Field_Sites_by_Thermal_Climate_Zones_the_Case_of_Onitsha_Metropolis
- [20] Thomas G., Sherin A. P., Ansar S. and Zachariah E. J., Analysis of urban heat island in Kochi, India, using a modified local climate zone classification, *Procedia Environ. Sci.*, 21 (2014): 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2014.09.002>
- [21] Ng Y. X., A Study of Urban Heat Island using 'Local Climate Zones' – The Case of Singapore., *Br. J. Environ. Clim. Change*, 5 (2) (2015): 116–133. <https://doi.org/10.9734/BJECC/2015/13051>
- [22] Houet T. and Pigeon G., Mapping urban climate zones and quantifying climate behaviors—an application on Toulouse urban area (France), *Environ. Pollut.*, 159 (8) (2011): 2180–2192. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00561959>
- [23] Perera N. G. R., Emmanuel M. P. R. and Mahanama P. K. S., 576: Mapping 'Local Climate Zones' and relative Warming Effects in Colombo, Sri Lanka. In ICUC8–8th International Conference on

- Urban Climates. Dublin, Ireland, August 6-12, 2012. https://www.academia.edu/5702459/Mapping_Local_Climate_Zones_and_relative_Warming_Effects_in_Colombo_SriLanka
- [24] Alexander P. J., Mills G. and Fealy R., Using LCZ data to run an urban energy balance model, *Urban Clim.*, 13 (2015): 14–37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.uclim.2015.05.001>
- [25] Krayenhoff S., Stewart I. D. and Oke T.R., Estimating thermal responsiveness of local-scale climate ‘zones’ with a numerical modeling approach In Joint Eighth Symposium on the Urban Environment and Timothy R. Oke Symposium, Phoenix, AZ. American Meteorological Society, 2009. <https://ams.confex.com/ams/89annual/webprogram/8URBAN.html>
- [26] Savić S., Milošević D., Lazić L., Marković V., Arsenović D. and Pavić D., Classifying Urban Meteorological Stations Sites by ‘Local Climate Zones’: Preliminary Results for the City of NoviSad (Serbia), *Geogr. Pannonica*, 17 (3) (2013): 60–68 – Special issue. http://www.dgt.uns.ac.rs/pannonica/papers/volume17_3_1.pdf
- [27] Siu L. W. and Hart M. A., Quantifying urban heat island intensity in Hong Kong SAR, China, *Environ. Monit. Assess.*, 185 (5) (2013): 4383–4398. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2876-6>
- [28] Bechtel B., Langkamp T., Böhner J., Daneke C., Opßenbrügge J. O and Schempp S., Classification and modelling of urban microclimates using multisensoral and multitemporal remote sensing data, *Int. Arch. Photogramm. Remote Sens. Spat. Inf. Sci.*, 39 (2012): 463–468. <https://doi.org/10.5194/isprsarchives-XXXIX-B8-463-2012>
- [29] Geletić J. and Lehnert M., GIS-based delineation of local climate zones: The case of medium-sized Central European cities, *Morav. Geogr. Rep.*, 24 (3) (2016): 2–12. <https://doi.org/10.1515/mgr-2016-0012>
- [30] Unger J., Lelovics E. and Gál T., Local Climate Zone mapping using GIS methods in Szeged Hung. *Geogr. Bull.*, 63 (1) (2014): 29–41. <https://doi.org/10.15201/hungeobull.63.1.3>
- [31] Stewart I. and Oke T., 1.1 thermal differentiation of local climate zones using temperature observations from urban and rural field sites, In Ninth Symp. on Urban Environment, Keystone, CO, Amer. Meteor. Soc, 2010.
- [32] Leconte F., « *Caractérisation des îlots de chaleur urbain par zonage climatique et mesures mobiles : Cas de Nancy* », Thèse Université de Lorraine, 2014. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01751281v2/document>
- [33] Lau K.K.-L., Yim S.H.L., Lai D.Y.F. And Edward N.G., Applying ‘Local Climate Zone (LCZ)’ into a High-density High-rise Cities-A Pilot Study in Hong Kong, In ICUC9 - 9th International Conference on Urban Climate jointly with 12th Symposium on the Urban Environment, 2015, pp 1–6. http://www.meteo.fr/icuc9/LongAbstracts/gd3-1-4501432_a.pdf
- [34] Wang J., Zhan Q. and Xiao Y., Hierarchical Climate Zone as a tool for spatial planning – Case study of Wuhan, China, 2015. https://www.researchgate.net/publication/291135719_Hierarchical_Climate_Zone_as_a_tool_for_spatial_planning_-_Case_study_of_Wuhan_China
- [35] Villadiego Bernal K., Une lecture de la forme urbaine et des microclimats : le cas de Barranquilla, Aix-Marseille, 2014. https://www.researchgate.net/publication/283297277_Une_lecture_de_la_forme_urbaine_et_des_microclimats_le_cas_de_Barranquilla
- [36] Stewart I. D., Oke T.R. and Krayenhoff E. S., Evaluation of the ‘Local Climate Zone’ scheme using temperature observations and model simulations, *Int. J. Climatol.*, 34 (4) (2014): 1062–1080. <https://doi.org/10.1002/joc.3746>
- [37] Oke T.R., *Boundary layer climates*. 2nd edition, Methuen Co., London, New York, 289p, 1987.
- [38] Stewart I. D., *Redefining the urban heat island*, University of British Columbia, 2011.
- https://www.academia.edu/16752781/T_R_Oke_Boundary_Layer_Climates_1988_PDF

Soumis le : 11/04/2020

Forme révisée acceptée le : 03/09/2020

Auteur correspondant : badr_merad@yahoo.com



**Revue
Nature et Technologie**

<http://www.univ-chlef.dz/revuenatec>

ISSN : 1112-9778 – EISSN : 2437-0312

Vers un système peer-to-peer d'aide à la décision en périodes d'épidémies. COVID-19 comme exemple

Badr MERAD^{a,b}, Khaled BELKADI^{a,c}, Abderrahmane MESSOUS^{d,e}

^a Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, Oran, Algérie

^b LABGEM Laboratory, Higher School of Electrical Engineering and Energetic (ESG2E), Oran, Algeria

^c Laboratoire SIMPA (Signal-Image-Parole), Département d'Informatique, Faculté de Mathématiques et Informatique, USTO-MB, Oran, Algérie

^d Université Hassiba Benbouali de Chlef, Chlef, Algérie

^e Laboratoire d'Informatique d'Oran (LIO), Faculté des sciences exactes et appliquées, Université d'Oran 1, Oran, Algérie

Résumé

Lors d'une épidémie/pandémie causée par un virus inconnu comme le SRAS-CoV-2, agent responsable du COVID-19, les praticiens de la santé ne peuvent pas prédire le comportement du virus et donc l'évolution de la maladie. Ils ne peuvent pas aussi prédire la réaction des patients face aux différents traitements. Dans cet article on propose une architecture d'un système distribué de prédiction de l'évolution de la maladie et des réactions des patients pour les traitements, et ce en exploitant les données temps réel de patients atteints du même virus de partout dans le monde. Le système utilise une classification des patients basée sur les données géographiques et les questions dites « Patient, Intervention, Comparison, Outcome/s » (PICO). Il s'inspire des systèmes de téléchargement peer-to-peer pour le partage des informations et utilise un modèle sémantique pour la sauvegarde et la comparaison des questions cliniques. Le système propose aussi de générer des auto-tests personnalisés qu'on peut mettre à la disposition de la population pour diminuer la panique causée par l'épidémie. Un Le fonctionnement du système est illustré par un exemple d'un patient atteint du COVID-19.

Mots-clés : Aide à la décision médicale ; Classification ; COVID-19 ; Epidémie ; Peer-to-peer ; Question PICO.

Abstract

During an epidemic/pandemic caused by an unknown virus such as SRAS-CoV-2, the aetiological agent of COVID-19, health practitioners cannot predict the behavior of the virus and therefore the course of the disease. They also cannot predict how patients will react to different treatments. In this paper, authors propose a distributed system's architecture for predicting the course of the disease and patient reactions for treatments, using real-time data of patients with the same disease from all over the world. The system uses geographic and the "Patient, Intervention, Comparison, Outcome/s" (PICO) questions classification of patients. It shares information with inspiration from peer-to-peer download model and uses a semantic model to save and compare clinical questions. The system also proposes to generate personalized self-tests that can be made available to the population to reduce the panic caused by the epidemic. The operation of the system is illustrated by an example of a patient with COVID-19.

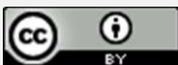
Keywords: Clinical decision support; Classification; COVID-19; Epidemic; Peer-to-peer; PICO question.

1. Introduction

L'épidémie est une propagation rapide et étendue de maladies infectieuses menaçant de nombreuses vies humaines et engendrant des dommages économiques [1].

Quand ces épidémies concernent des virus inconnus, la prédiction du comportement du virus devient une tâche difficile. Une solution pour anticiper les actions et prédire les symptômes et les réactions aux différents traitements, est d'utiliser les données d'autres patients qui sont plus avancés dans la maladie. Dans cet article on propose une

architecture d'un système d'aide à la décision médicale en temps réel qui s'inspire des systèmes de téléchargement peer-to-peer (P2P). « Epidemic Peer-to-Peer Support System » (EP2PSS) est un système de partage de décisions et de données par les praticiens de la santé en période d'épidémie/pandémie par des virus dont le comportement est inconnu comme c'est le cas du COVID-19. Le manuscrit décrit d'une façon détaillée, la méthode de classification des patients en utilisant les données géographiques et la question clinique PICO, l'utilisation d'un modèle sémantique pour la sauvegarde



Ceci est un document en libre accès selon les termes de [Creative Commons Attribution License CC-BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), ce qui permet de le partager, copier, reproduire, distribuer, communiquer, réutiliser ou de l'adapter avec l'obligation de créditer son auteur.

et la comparaison de ces questions et le principe de partage de données exploitant la métaphore peer-to-peer.

On décrit aussi comment le système propose automatiquement des auto-tests personnalisés à partir des données P de la question PICO, ce qui permet d'apaiser le stress de la population et de diminuer les fausses alertes laissant ainsi la place aux cas sérieux nécessitant une prise en charge réelle.

Dans ce qui suit on propose une brève présentation des questions PICO (Section 2), une présentation de l'architecture EP2PSS (Section 3), et on termine par une conclusion.

2. Questions PICO

« Evidence-Based Medicine » (EBM), ou médecine basée sur les faits, est le processus de recherche, d'évaluation et d'utilisation des résultats de recherche comme base des décisions cliniques [2]. Sackett et Rosenberg [3] divisent ce processus en 5 étapes :

- Formuler une question clinique claire et précise ;
- Rechercher les preuves ;
- Evaluer la validité des sources de preuves ;
- Intégrer les preuves trouvées dans la pratique clinique ;
- Evaluer la pratique.

Dans ce travail on utilise le concept de question clinique, qui est la première et la plus importante étape de l'EBM, pour classifier les patients.

Formuler la question clinique consiste à convertir un problème clinique en une question claire, précise et à laquelle on peut répondre [4]. Pour réussir à en formuler une qui vérifie les critères cités plus haut, Sackett *et al.* [5] proposent de la décomposer en 4 éléments :

- Les caractéristiques du problème du patient ou de la population ;
- L'Intervention proposée ;
- Les interventions Comparées à celle proposée ;
- L'issue clinique (Outcome/s).

Cette méthode fournit un cadre conceptuel pour une recherche efficace [6].

3. Architecture du système EP2PSS

EP2PSS est un système qui emprunte la notion du peer-to-peer, utilisée dans les systèmes de

téléchargement, pour l'exploiter dans des systèmes d'assistance électronique dans les périodes d'épidémie.

Le système propose de classifier les patients en groupes. Cette division est basée sur la zone géographique puisqu'il peut exister, pour le même virus, des souches différentes qui se manifestent différemment comme c'est le cas du SRAS-CoV-2, virus responsable du COVID-19.

Généralement les zones géographiques proches sont concernées par la même souche, ce qui a amené des chercheurs, tel Kumar R. *et al.* [7], Merad B. et Belkadi K. [8] ainsi que Lohmann *et al.*, a étudié les différentes souches du virus SRAS-CoV-2 classées par zones. Kumar *et al.* [7] ont étudié 95 souches, chacune d'elles liée à une zone géographique donnée. Les questions PICO des patients sont aussi utilisées pour cette classification.

Dans les systèmes de téléchargement P2P, une partie téléchargée d'un fichier peut être mise à disposition des clients de téléchargement même si celui-ci n'est pas complètement téléchargé. Cette métaphore est utilisée dans EP2PSS en mettant à la disposition des praticiens les informations de chaque patient en temps réel même si le patient est encore hospitalisé. On partage toutes ses informations (symptômes, traitements, réactions aux traitements, ...etc.) tout en précisant la chronologie de chacune d'elle depuis le début de la maladie afin qu'on puisse prédire ces mêmes informations pour des cas proches. Le système est utile dans les périodes d'épidémie par des virus nouveaux dont on ignore le comportement et le traitement ; c'est pour cela que l'information en temps réel permet d'anticiper les traitements et la prise en charge des patients

Après authentification, le système propose au médecin d'intégrer une zone géographique par rapport à sa position GPS. Pour prendre en charge un nouveau patient dans cette zone au moment de sa réception T_0 , le système demande dans un premier temps de partager une question clinique PICO. Cette question permet d'un côté de définir les informations P du patient, ce qui permet de le classer dans une catégorie de patients, et d'un autre côté de permettre, par le biais des éléments I, C et O, de partager des propositions concernant les interventions et les interventions comparées. Ces questions permettent aussi de prédire les issues cliniques (Outcome/s) des patients.

Une fois la question clinique partagée, un système de classification, basé sur la zone géographique, ensuite sur l'affinité de cette question par rapport aux questions PICO des autres patients, est mis en marche.

Les questions PICO dans l'architecture proposée sont sauvegardées dans le format médicale OMDF (Ontological Medical Decision Format) qui est un format ontologique utilisant OWL (Web Ontology Language) pour écrire des décisions médicales [8]. OMDF implémente les cinq étapes de l'EBM et modélise d'une

manière détaillée la question PICO. La figure 1 propose une présentation visuelle en VOWL (Visual Notation for OWL Ontologies) de la partie OMDF utilisée pour coder les questions PICO [9].

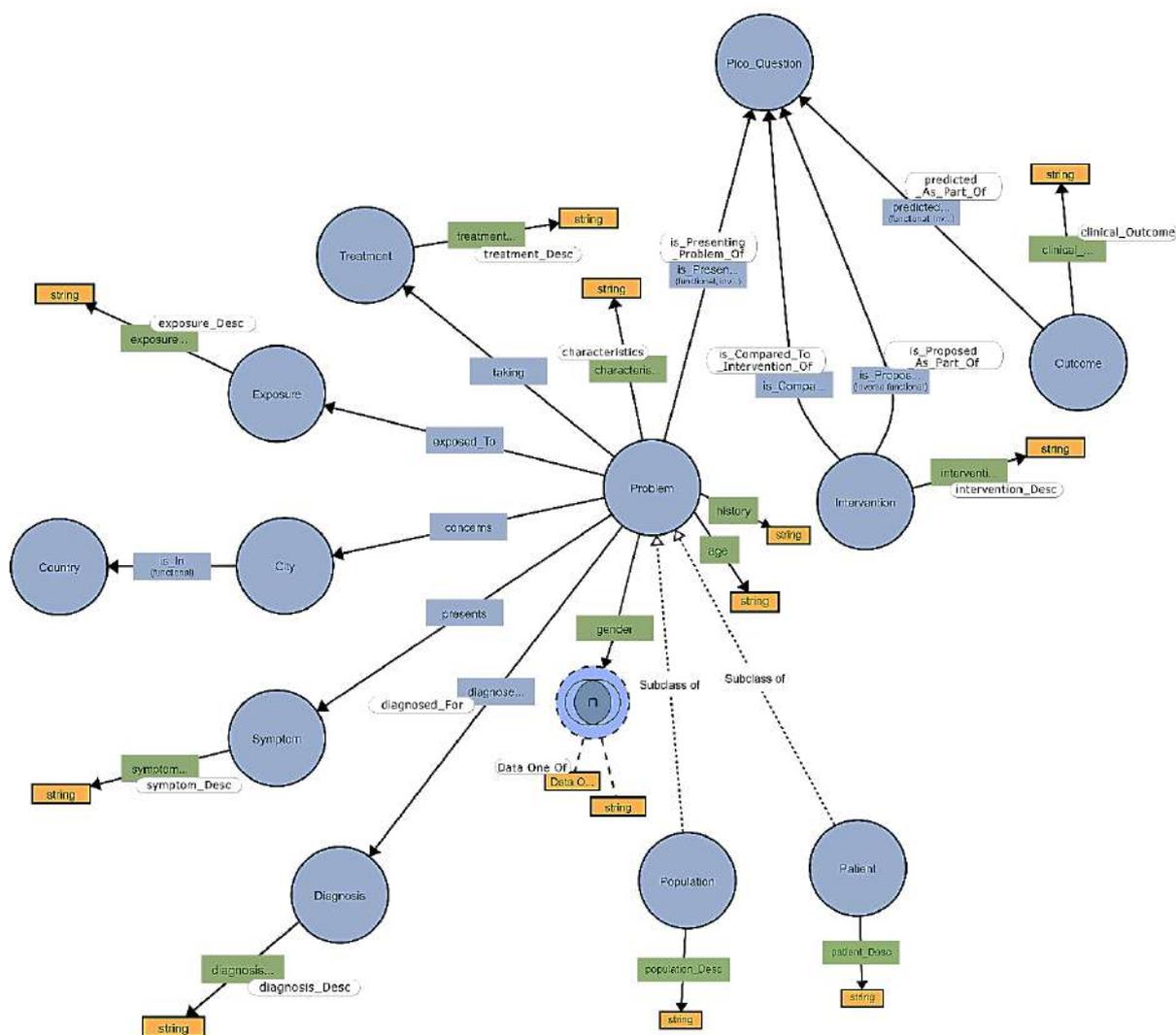


Figure 1. Représentation VOWL de la question PICO dans OMDF [8]

Un algorithme à deux étapes est utilisé pour la classification des patients par rapport à leurs questions PICO.

La première étape utilise l'algorithme développé par Merad et Belkadi [8] pour créer une liste des questions PICO les plus proches à celle utilisée en entrée. L'affinité dans cet algorithme est calculée en

utilisant le coefficient « Similarity Coefficient » (SC) qui utilise « Dice's Coefficient » (DC).

La deuxième étape utilise l'algorithme des « k-Nearest-Neighbors » (KNN) [10] pour calculer la classe du patient par rapport à la liste de sortie de la première étape.

La figure 2 montre les étapes nécessaires pour la prise en charge d'un patient via EP2PSS depuis son admission jusqu'au partage de ses données et réception des données des autres patients.

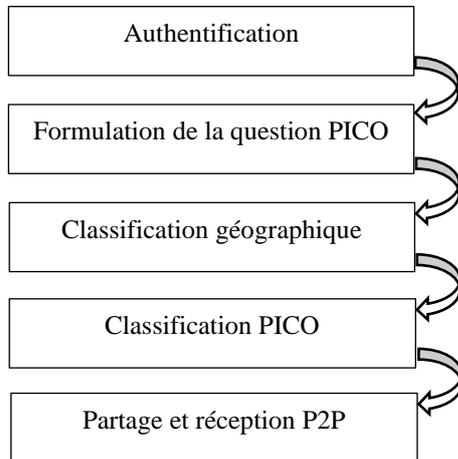


Figure 2. Etapes de prise en charge d'un patient dans EP2PSS

Après classification, les médecins partagent en temps réel toutes les données du patient. Les informations les plus importantes sont les

symptômes, pour permettre aux autres praticiens de prédire le comportement du virus et du système immunitaire des patients à chaque instant, ainsi que les traitements et les réactions des patients par rapport à chaque traitement. Le système EP2PSS est basé sur les données temps/intervention/comportement.

Les traitements symptomatiques sont importants dans des pandémies pareilles tel le COVIC-19. Chaque traitement/réaction est partagé pour permettre aux autres médecins de choisir ou non le même traitement.

Le système propose au médecin, et pour chaque patient, la liste des patients de la même classe. Ils sont ordonnés par rapport à l'affinité de la question PICO du patient par rapport aux autres patients de la même zone géographique. Le médecin peut voir d'autres tableaux de patients dans des zones géographiques différentes. Un exemple de tableau dans un temps T_X pour un patient fictif atteint du COVID-19 est proposé dans figure 3. T_X n'est pas calculé par rapport au temps d'admission mais par rapport au temps d'atteinte approximatif, ce qui veut dire que T_0 n'est généralement pas égale à 0.

EP2PSS

P42 Date d'admission: 10/03/2020
T₀: 6 jours

Question PICO:
Un homme de 48 ans, diabétique (type2), diagnostiqué pour COVID-19. L'intervention proposée est un traitement symptomatique de la fièvre par Paracétamol et placebo. Cette intervention peut être comparée à l'utilisation de l'hydroxychloroquine et de l'azithromycine. La guérison complète est attendue après 12 jours.

Tableau clinique du patient P42

T₀	Fièvre 39° Toux sèche	Traitement: Paracetamol, Placebo
T₁ : +5J	Fièvre 38° Toux sèche Dyspnée	Traitement: Paracetamol, l'hydroxychloroquine, Azithromycine
T₁ : +9J (Etat actuel)	Fièvre 37,1° Toux sèche atténuée Respiration normale	Patient sous surveillance

Liste des Patients similaires

P₁₂	Voir la question PICO	Tableau du patient	Affinité : 97%
P₂₁	Voir la question PICO	Tableau du patient	Affinité : 82,32%
P₃	Voir la question PICO	Tableau du patient	Affinité : 63%

[Voir toute la liste](#)

Figure 3. Page de présentation EP2PSS d'un patient atteint du COVID-19

Dans le cas du COVID-19, plusieurs auto-tests ont été développés par différents instituts de santé tels que l'Institut Pasteur - France [13] ou « Centers for Disease Control and Prevention du Département américain de la santé et des services sociaux » [14]. Ce sont des questionnaires qui permettent d'informer une personne sur son état de santé et de l'orienter si nécessaire. Ces auto-tests sont très utiles dans le cas de grandes paniques. A partir des informations récoltées par EP2PSS, un auto-test peut être généré automatiquement.

Le patient est invité à insérer les informations P de la question PICO. La question est traduite automatiquement en OMDF et une liste des patients qui présentent la plus grande affinité à son cas est établie. Le système affiche ensuite les symptômes des patients de cette liste et demande à l'utilisateur d'ordonner chronologiquement ceux qu'il présente. Si la personne présente une affinité supérieure à un certain seuil, avec un patient présent dans le système, on indique le même diagnostic et elle est orientée aux services concernés pour confirmation.

Pour déterminer cette affinité, on calcule un coefficient proche de DC en utilisant les symptômes présents dans les deux questions PICO. La différence avec DC est la présence d'un poids P qui renforce la similarité si les symptômes apparaissent dans le même ordre chronologique. Ce coefficient est présenté dans formule 1 suivante :

$$P = \frac{2 \text{ nb_common_terms}_{NO} + 2P \text{ nb_common_terms}_O}{\text{nb_total_terms}}$$

avec :

- $\text{nb_common_terms}_{NO}$: le nombre de symptômes communs qui ne respectent pas l'ordre chronologique d'apparition ;

- nb_common_terms_O : le nombre de symptômes communs qui respectent l'ordre chronologique d'apparition ;

- P : un poids créé pour valoriser les symptômes communs qui respectent l'ordre chronologique d'apparition, avec $P > 1$;

- nb_total_terms : nombre total de symptômes.

Au contraire des auto-tests qui ne proposent qu'un seul questionnaire pour tous les utilisateurs, celui proposé dans ce travail prend en considération

les données de chaque patient, permettant ainsi d'adapter au cas par cas, et de manière personnalisée, le test du patient.

4. Conclusion

Dans cet article on a proposé une architecture d'un système de prédiction et d'aide à la décision médicale dans les cas d'épidémies ou de pandémies causées par des virus inconnus comme le SRAS-CoV-2. Le système proposé utilise la technique peer-to-peer pour partager les informations des patients en temps réel. Les patients sont classifiés par zones géographiques et questions PICO, ce qui permet une grande précision du calcul de l'affinité des patients et donc une précision dans les prédictions. Un modèle sémantique est utilisé pour écrire et comparer les questions cliniques.

Cet article présente un exemple de patient fictif atteint du COVID-19 pour expliquer la méthode de partage des informations dans le temps. On a proposé aussi grâce au système de classification des auto-tests développés automatiquement à partir des données des patients. Ces tests sont personnalisés pour chaque patient ce qui permet une meilleure précision de l'auto-diagnostic.

Références

- [1] Fong S.J., Li G., Dey N., Crespo R.G., Herrera-Viedma E., Finding an accurate early forecasting model from small dataset: A case of 2019-ncov novel coronavirus outbreak, *International Journal of Interactive Multimedia and Artificial Intelligence*, 6 (1) (2020): 132-140. <https://www.ijimai.org/journal/node/3841>
- [2] Rosenberg W. and Donald A., Evidence based medicine: an approach to clinical problem-solving, *BMJ: British Medical Journal* 310 (1995): 1122-1126. [Version électronique] disponible sur site. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2549505/?page=1> (Consulté le 02/03/2020)
- [3] Sackett D. and Rosenberg W., The need for evidence-based medicine, *Journal of the Royal Society of Medicine* 88 (1995): 620-624. [Version électronique] disponible sur site. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1295384/> (Consulté le 12/03/2020)
- [4] Lai N., Evidence Based Medicine Series: Asking Focused Answerable Clinical Questions, *Malaysian family physician: the official journal of the Academy of Family Physicians of Malaysia* 4 (1) (2009): 23-25. [Version électronique] disponible sur site URL : <https://europepmc.org/article/pmc/pmc4170378> (consulté le 20/02/2020)

-
- [5] Sackett D., Straus S., Scott W. Richardson, Rosenberg W. and Brian Haynes R., Evidence-Based Medicine: How to Practice and Teach EBM, 2nd ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, 2000. 250p.
<https://isbndb.com/book/9780443062407>
- [6] Staunton M., Evidence-based radiology: steps 1 and 2— asking answerable questions and searching for evidence, *Radiology*, 242 (1) (2007): 23-31.
<https://doi.org/10.1148/radiol.2421052135>
- [7] Kumar R., Verma H., Singhvi N., Sood U., Gupta V., Singh M., Sharma R., Hira P., Nagar S. and Talwar C., Comparative Genomic Analysis of Rapidly Evolving SARS CoV-2 Viruses Reveal Mosaic Pattern of Phylogeographical Distribution, *bioRxiv* (2020).
<https://doi.org/10.1101/2020.03.25.006213>
- [8] Khan M. I., Khan Z. A., Baig M. H., Ahmad I., Farouk A. E., Song Y. G. and Dong J. J., Comparative genome analysis of novel coronavirus (SARS-CoV-2) from different geographical locations and the effect of mutations on major target proteins: An in silico insight, *PLoS One*, 15 (9) (2020).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238344.t005>
- [9] Mercatelli D. and Giorgi F. M., Geographic and genomic distribution of SARS-CoV-2 mutations, *Frontiers in microbiology*, 11 (2020).
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01800>
- [10] Merad B. and Belkadi K., Towards a Machine-Understandable Model Representing the Medical Decision, *International review on Modelling and Simulations*, Copyright Praise Worthy Prize, 13 (03) (2020): 148-158.
<https://doi.org/10.15866/iremos.v13i3.18695>
- [11] Lohmann S., Negru S., Haag F. and Ertl T., Visualizing ontologies with VOWL, *Semantic Web* 7 (4) (2016): 399-419.
- [12] Dasarathy B., Nearest neighbor (NN) norms: NN pattern classification techniques, IEEE Computer Society Press, Los Alamitos, CA, 1991.
- [13] Institut Pasteur - COVID-TELE., Maladie Coronavirus – Testez vous, URL : <https://maladiecoronavirus.fr/se-tester> (Consulté le 29/01/2021)
- [14] Centers for Disease Control and Prevention., Testing for COVID-19, URL : <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/testing.html> (Consulté le 28/01/2021).
-

Submitted on: 11/04/2020

Revisited form accepted on: 03/09/2020

Corresponding author: m.a.bendaha@gmail.com



Revue
Nature et Technologie

<http://www.univ-chlef.dz/revuenatec>

ISSN: 1112-9778 – E-ISSN: 2437-0312

Characterization of fluorescent Rhizobacteria isolated from Oleander (*Nerium oleander* L.) and Olivier (*Olea oleaster* L.) with antagonistic effect against *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*

Hadj Ahmed BELAOUNI ^a, Mohammed El-Amine BENDAHA ^{b,c}, Bouziane ABBOUNI ^d,
Mostefa NAIMI ^e, Mohamed LABDI ^f

^a Microbial Systems Biology Laboratory (LBSM), École Normale Supérieure de Kouba, Algiers, Algeria.

^b Molecular Biology, Genomics and Bioinformatics Laboratory, Hassiba Ben Bouali University of Chlef, Algeria.

^c Mustapha Stambouli University of Mascara, Algeria

^d Molecular Microbiology, Proteomics and Health Laboratory, Djillali Liabes University of Sidi Bel Abbes, Algeria.

^e Biology Department of the University of Nour Bachir, El-Bayadh, Algeria.

^f Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, Unité de Recherche Ouest, Sidi Bel Abbes, Algeria.

Abstract

This study aims to characterize the biocontrol potential of two fluorescent rhizobacteria isolated from Oleander (*Nerium oleander* L.) and Olivier (*Olea oleaster* L.). The isolation was done in Cetrimide agar. The fluorescing strains at 366 nm were selected for the dual plate assay against the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. The two best strains showing the highest inhibition rates (Pa2 and S2Pf1 with 31.36% and 51.42% respectively) were chosen to be identified and characterized for their production of antifungal molecules. The taxonomical determination based on macro and micromorphological observations in addition to the biochemical tests of the API 20E and API 20NE strips analyzed by the heuristic soft "PIBwin 2.0.0" suggests the strain Pa2 as a *Pseudomonas aeruginosa* while the strain S2Pf1 belongs to the *Burkholderia cepacia* species. The antifungal potential was assessed through the quantification/detection of the following bioactive molecules: salicylic acid, hydrogen cyanide, rhamnolipids, chitinases, and cellulases. The strain *Burkholderia cepacia* S2Pf1 showed a better antifungal profile in comparison to *Pseudomonas aeruginosa* Pa2. The determination of the growth kinetics parameters of *Burkholderia cepacia* S2Pf1 based on observed OD600 data, DModel data fitting, and Gompertz model data fitting highlighted a relatively good ability to quickly reach high bacterial densities in both nutrient and seed broths. Thus, *Burkholderia cepacia* S2Pf1 is suggested as a good candidate to be further assessed for its biocontrol properties against *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*.

Keywords: Rhizobacteria; *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*; *Burkholderia cepacia*; *Pseudomonas aeruginosa*; biocontrol.

1. Introduction

Cultivated tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) is one of the world's most important crops due to the high value of its fruits both for fresh market consumption and in numerous types of processed products [1]. One of the main constraints to tomato cultivation is damage caused by pathogens [2,3], such as fungal phytopathogens, especially in tropical and subtropical regions [4], *Fusarium oxysporum* is major soil-borne fungal pathogens of both greenhouse and field-grown tomatoes in the warm vegetable growing areas of the world [5]. Root and crown rot caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL) is

one of the most damaging soil-borne diseases in tomato seedlings and increasingly common in the production of greenhouse tomatoes. The disease manifests itself both in the greenhouse and in the tomato fields, causing significant losses in tomato production [6]. Crown rot develops primarily in cool climates in both field and greenhouse tomatoes. Substantial crop losses in infected fields have given the disease international attention [7].

A seed treatment with carbendazim could provide a protective barrier against infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. A sprinkling of the same compound or thiophanate-methyl achieves the same desired effect. In general, it is recommended the use of pre-plant fumigant, noting, however, that the



This is an open access article distributed under the [Creative Commons Attribution License CC-BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

24 Characterization of fluorescent rhizobacteria isolated from Oleander (*Nerium oleander* L.) and Olivier (*Olea oleaster* L.) with antagonistic effect against *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*

effectiveness of fungicides in the fight against this pathogen is poor [8]. Furthermore, fungicides are expensive, can cause environmental pollution, and may cause the selection of pathogen resistance [9]. Owing to the limitations of chemical fungicides, it seems appropriate to seek a supplemental control strategy [10, 11]. Therefore, public concern is focused on alternative methods of pest control, which can play a role in integrated pest management systems to reduce our dependence on chemical pesticides [12].

Biological and cultural controls are two alternatives to synthetic chemical fungicides in integrated disease management, which aimed at maximum productivity with the least possible negative environmental and ecological consequences [13]. Another aspect of biocontrol against *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* is the use of microbial auxiliaries. Hence, strategies aiming at the replacement of chemical pesticides by hazardous free biological agents can be a reasonably good choice. Numerous studies have demonstrated a reduced incidence of diseases in different crops after supplementing the soils with fungal or bacterial antagonists [14]. Moreover, Saidi *et al.* tested *Bacillus* isolates in dual culture, and under greenhouse conditions against FORL race 0, after what, 10 isolates exhibited good inhibition of the plant pathogen [15]. Another illustration, Kamilova *et al.* tested *Pseudomonas fluorescens* WCS365 on the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in a gnotobiotic system [16]. The seed inoculation with *P. fluorescens* WCS365 decreased the percentage of diseased plants from 96 to 7%. Thus, globally, recent biochemical research on plant disease control focused on two prime objectives. They were to (i) select and identify microorganisms with antifungal activities, isolate and characterize the specific antifungal factors within these microorganisms; (ii) determine the operative mechanisms of these antifungal agents [17].

This work aims to assess *in vitro* the inhibiting effects of antagonistic fluorescent rhizobacteria against *Fusarium oxysporum* f.sp. *radici-lycopersici*, and to

characterize some of their potential molecular mechanisms by highlighting the production of rhamnolipids, chitinase, cellulase, HCN, and salicylic acid (SA), in addition to the growth kinetics parameters, giving a partial vision of a complex machinery of inhibition.

2. Materials and methods

2.1. Pathogen

To select the best candidates, the antifungal activity was evaluated against the plant pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (Agent of *Fusarium* root and crown rot of tomato). The strain *Forl 12* (isolated from a diseased tomato) was used for the antagonism test.

2.2. Isolation of fluorescent rhizobacteria

About 10 g of soil were taken from a depth of 10 cm, from various Rhizospheric origins: spontaneous oleander (*Nerium oleander* L.), spontaneous Olivier (*Olea oleaster* L.), in sterile containers, resulting in a total of 5 samples to be used for isolation (1 g per sample) (Table 1).

For the isolation process, 01 g is taken to achieve an enrichment for 24 h in nutrient broth (5.0 g pepton, beef extract 3.0 g/1000 mL distilled water) [18] with 01 g of soil in 9 mL of nutrient broth at 30°C and 42°C separately. Following enrichment, isolation was conducted on Cetrimide agar [Pancreatic digest of gelatin 20 g, magnesium chloride 1.4 g, potassium sulfate 10 g, glycerol 10 mL, Cetrimide 0.3 g, agar 13.6 g/1000 mL distilled water] [19] at 30°C for 24h.

Bacterial candidates obtained at the end of the isolation were purified on King B agar (Proteose peptone N°3 20 g, anhydrous K₂HPO₄ 1.5g, MgSO₄ • 7H₂O 1.5g, + Glycerol 15 mL, Agar 20 g/1000 mL distilled water) [20].

Table 1
Codification, sampling location, Rhizospheric origin, and soil samples description

Sampling location	Rhizosphere origin	Number of samples	Sample codification
Mascara, Slatna, Sidi Ben Arbiya, near a creek with abundant spring waters	Spontaneous pink laurel	1	S1
			S2
Saida, "Vieux de Saida" Park, on a Muddy slope	Spontaneous Olivier	3	S3
			S4
Saida, Parc du "Vieux de Saida", next to a creek	Spontaneous pink laurel	1	S5

2.3. *In vitro* screening for antifungal activity against FORL (Dual Plate Assay)

To select the best performing candidates, an antifungal activity test was undertaken against the plant pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* on PDA [Potato infusion 200 g, dextrose 20 g, agar 20 g/1000 mL distilled water] by the "Dual Plate Assay" method. A fragment of fungal mycelium (6 mm Ø) from a 7 days PDA culture is placed at the center of a new Petri dish, then 5 µL of bacterial suspension obtained by culturing the isolates to be tested in King B broth is set to 1 cm from the edge of the plate, all incubated at 25°C for 7 days. A control plate is incubated with the fungal inoculum alone, and the test is repeated three times. The antifungal potential of the tested strains is expressed by "inhibition rate" calculated as follows:

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{x-y}{x} \times 100,$$

where:

x: control mycelium diameter in mm,

y: diameter of mycelium in the presence of the bacterial strain, measured on the axis "bacterial colony-fungus", (in mm).

The results are expressed as percentage ± standard deviation [21]. Bacterial strains selected for the characterization of the antifungal potential were preserved by freezing at -20°C on stock cultures (nutrient broth with 20% glycerol) [22].

2.4. Phenotypical identification

Following the antifungal activity test, two candidates were selected as those that gave the largest percentages of fungal inhibition, to characterize some mechanisms implied in the antifungal potential. Phenotypic identification was based on the following characteristics: micro and macromorphology of bacterial colonies on various culture media: King A (Proteoseptone 20.0 g,

15.0 g agar, Glycerol 10.0 g, 10.0 g K₂SO₄, 3.5 g MgCl₂ · 6H₂O + 20 g Agar/ distilled water 1000 mL), King B, Cetrimide (macroscopic examination), microscopic observation after fixation (Gram stain), respiratory type, catalase test and study of the biochemical profile on API 20E [bioMerieux](http://www.biomerieux.com)¹ systems (Enterobacteriaceae and other non-fastidious Gram (-) bacilli Identification Kit for strains suspected to be *P. aeruginosa* and 20NE bioMerieux system for the other strains [not fastidious non-enteric Gram (-) bacilli Identification Kit (bioMérieux, France; ref 20050)]. Inoculation and reading were done according to the manufacturer's guidelines. Interpretation of the results was performed by a computer-based heuristic approach, using the program PIBwin 2.0.0, with identification matrices for API 20E and 20NE systems developed from the user guides provided by the company bioMérieux, France. After selecting the identification matrix and filling properly the results, results are displayed with a heuristic interpretation of the biochemical profiles, with the most likely taxon, its identification score, followed by the other suspected taxa, by score order [23].

2.5. Characterization of antifungal activity

2.5.1. Production of salicylic acid

For evaluation of salicylic acid (SA) production, the strains were grown in glucose urea broth "GUM" (Anhydrous glucose 10 g, urea 0.85 g, K₂HPO₄ 0.56 g/1000 mL distilled water) [24] for 24 hours with stirring at 100 rpm at 30°C. Thereafter, 100 µL of this culture was transferred to 100 mL of GUM broth for each strain for incubation of 36 h in the same conditions. Then the salicylic acid was extracted from the culture medium by ethyl acetate. The extract thus obtained was concentrated (1:3) under vacuum. SA concentration was

¹ bioMérieux, France; réf. 20100. <https://www.biomerieux.fr/>

26 Characterization of fluorescent rhizobacteria isolated from Oleander (*Nerium oleander L.*) and Olivier (*Olea oleaster L.*) with antagonistic effect against *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*

determined by adding 5 μ L of FeCl₃ 2M and 3 mL of water for 1 mL of the concentrated extract. The absorbance of the purple complex of iron-SA, which was developed in the aqueous phase, was measured at 527 nm and compared to a standard curve of SA dissolved in ethyl acetate [25].

2.5.2. Hydrogen cyanide assay

The six selected strains were grown in Luria Bertani "LB" (Tryptone 10.0 g, yeast extract 5.0 g, NaCl 10.0 g, Agar 15.0g/distilled water 1000 mL) [26,27] at 30°C in 250 mL Erlenmeyer flasks each containing 100 mL of culture medium and alkali picrates bands, with stirring at 100 rpm/min. The bands are used to reveal the production of hydrocyanic acid, prepared according to the following way: Whatman Filter paper n°1 was cut into uniform bands of 10 cm long and 0.5 cm wide, each of the bands was dipped in a 0.5% picric acid solution, and then again in another solution of Na₂CO₃. Once dried in a hot dry and sterile environment, they are put inside the flasks in a suspended position without touching the edges and the surface of the culture medium. It is considered that a strain produces HCN if after 2-3 days the yellow original color of alkaline picrate band veers toward the orange-red (rusty color) [28,24].

2.5.3. Rhamnolipids assay

Production of rhamnolipids type surfactants, with antifungal potential, was quantified by the colorimetric assay method of sugars by orcinol [29]. A culture on GUM was conducted with 100 mL of culture medium in 250 mL Erlenmeyer flasks for one week at ambient temperature (about 30°C, with agitation at 100 rpm). Firstly, rhamnolipids were purified by separating the cells from the supernatant by centrifuging a sample of 1 mL of each bacterial culture in 1.5 mL Eppendorf (at 10 000 G for 10 min). The supernatant was then extracted with chloroform and ethanol. Thereafter, a 0.5 mL sample was extracted with 1 mL of chloroform-ethanol (2:1, v/v). After evaporation to dryness of the organic phase, 0.5 mL of distilled H₂O was added. To 0.1 mL of each sample, 0.9 mL of a solution containing 0.19 % orcinol (diluted in 53% sulfuric acid H₂SO₄) was added. After heating for 30 min at 80°C the samples were cooled to ambient temperature, after what the

OD_{421nm} was measured by a spectrophotometer, using as a blank a sample from virgin culture medium having undergone the same steps mentioned above. The reading was performed three times; the concentration of rhamnolipids was calculated from a standard curve prepared with the L-rhamnose (0 to 50 mg.L⁻¹) and expressed in equivalent rhamnose [30, 31].

2.5.4. Chitinase test

This test was carried out on the "chitin-agar-water" medium, supplemented with Bromocresol blue (0.02 g.L⁻¹) serving as a pH indicator [Colloidal Chitin 4.34 mL, Agar 16g, Blue Bromocresol 0.02g/distilled water 1000 mL]. Once regenerated, wells (ϕ =5 mm) are made with a sterilized glass cylinder in the middle of the Petri plate. Then 100 μ L of 48 h bacterial culture on King B broth of each bacterium are placed in the central well, followed by incubation at 30°C for 4 days. Bacteria having chitinolytic activity develop a clear yellow halo around the wells, due to the color change of bromocresol blue following acidification of the medium. The results are expressed as follows :(+++) for halos exceeding 50 mm, (++) for halos with diameters between 20 mm and 50 mm, (+) to the diameters that do not exceed 20 mm. The test was performed in triplicate [32].

2.5.5. Cellulase test

Cellulase production was assessed in "Cellulose medium" (K₂HPO₄ 1.0 g, NaNO₃ 0.5 g, KCl 0.5 g, FeSO₄ 0.01 g/distilled water 1000 mL) [33]. For each strain, a piece of paper (9 cm×1 cm) was placed in a tube containing 9 mL of the cellulose solution after the inoculation of each strain with a solid platinum loop from a brain-heart broth pre-culture (BHIB). Incubation was done at 25°C for 3 weeks with a control (virgin medium + cellulose paper). The reading of the results was done initially by comparing the turbidity of each tube with that of the control tube by observing with the naked eye the tubes placed in front of a paper background with horizontal lines of red color (2 mm spaced) made with a fine point marker pen to accentuate the contrast (tubes showing a cellulose degradation become cloudy as a result of microbial growth, contrasting the lines more or less sharp, according to turbidity). For a comparison between the strains tested, 1 mL was taken from each

tube on completion of the test for reading the absorbance at 600 nm, the turbidity of the medium is proportional to the bacterial biomass from the degradation of the cellulose. The sterilized medium was used as a witness to set the zero of the spectrophotometer. Reading was repeated three times for each strain [33].

2.6. Growth kinetics parameters

A pre-culture of the best strain was performed on nutrient broth (NB) and seed broth (SB) (20 g D-Glucose monohydrat, 10 g casein pepton, 10 g yeast extract, 10 g NaCl/1000 mL distilled water) [34], then incubated at 30°C for 24 h. A loop fool of the culture is used to inoculate an Erlenmeyer flask containing 100 mL of nutrient broth and another one containing 100 mL of seed broth, each flask is incubated at room temperature with shaking at 75 rpm. Microbial growth was studied as a function of culture time for 24 h by measuring the culture medium absorbance, using a 600 nm UV spectrophotometer [35].

The "Gompertz model" and "Dmodel" were selected for the estimations of the growth kinetics parameters, using the curve-fitting program DMfit². Bacterial growth curves parameters were calculated from the experimental data using the Gompertz equation [36, 37] as:

$$L(t) = A + C \exp \{-\exp [-B (t - M)]\}$$

where:

$L(t)$ = the log of cell concentration (CFU.mL⁻¹) at time t (in h),

A = the asymptotic log counts as t decreases indefinitely (referred also as the predicted maximum density Y_{End})

C = the asymptotic amount of growth (log number) that occurs as t increases indefinitely,

M = the time (in h) at which the absolute growth rate is maximum,

B = the relative growth at M

Then, the Gompertz equation parameters (A , B , C , M) are subsequently used to calculate:

- Lag phase duration (h) = $M - (1/B)$,
- Generation time (h) = $(\log 2e)/BC$,
- Exponential growth rate [(log CFU/mL)/h] = BC/e ,

- Maximum population density (log CFU/mL) = $A + C$

For the Dmodel, the explicit form of the model is the following [38]:

$$y(t) = y_0 + \mu_{max} t + \frac{1}{\mu_{max}} \ln(e^{-v.t} + e^{-h_0} - e^{-v.t-h_0}) - \frac{1}{m} \ln \left(1 + \frac{e^{m\mu_{max}t + \frac{1}{\mu_{max}} \ln(e^{-v.t} + e^{-h_0} - e^{-v.t-h_0})} - 1}{e^{m(y_{max}-y_0)}} \right)$$

where:

- $y(t) = \ln(x(t))$ with $x(t)$ the cell concentration (CFU/mL);
- $y_0 = \ln(x_0)$, $y_{max} = \ln(x_{max})$, x_0 being the initial and x_{max} the asymptotic cell concentration, respectively;
- μ_{max} is the maximum specific growth rate (1/h);
- m is a curvature parameter to characterize the transition from the exponential phase;
- v is a curvature parameter to characterize the transition to the exponential phase;
- h_0 is a dimensionless parameter quantifying the initial physiological state of the cells. From that, the lag time λ (h) can be calculated as h_0/μ_{max} .

As optical density (OD) data can be used to obtain the specific growth rate and if used in conjunction with the known initial inocula, the maximum population data and knowledge of the microbial number at a predefined ODat a known time then all the information required for the reconstruction of a standard growth curve can be obtained [39]. Thus, instead of using the bacterial concentration, the curves are expressed in terms of OD600.

For both models (Gompertz and Dmodel) the DMFit program was used to estimates the 4 main parameters:

- Growth rate μ_{max} (OD.min⁻¹), as the primary parameter, called 'rate', is the potential maximum rate of the model;
- Generation time t_d (min);
- Lag phase λ (min) denotes the lag parameter as described by Baranyi and Roberts (1994) [38];
- Predicted maximum density Y_{End} (OD600) is the upper asymptote of the sigmoid curve (or lower asymptote if the curve is decreasing). The DMFit program calculates also adjusted R-square statistics of the fittings.

² <http://www.ifr.ac.uk/safety/DMfit/>

2.7. Statistical tests

Statistical analyses were performed using Student's *t*-test. All differences reported in the text were significant at the 5% level of probability.

3. Results and discussion

3.1. Isolation and screening

Isolation of aerobic Gram (-) bacilli using selective agar "Cetrimide" led to numeral colonies, upon what 12 bacterial isolates were selected upon their different morphotypes, namely: S2R2, S2R3, S3R1, S4Pf1, S5Pf1, S5Pf2, S6Pf1, S2Pf3, S3R2, S3R3, Pa2, and S2Pf1. These isolates displayed quite different colony colors and shapes.

3.2. Dual plate assay

This test has served to assess the antifungal potential of the selected strains isolates. It led to reveal isolates incapable of inducing inhibition/or limiting the growth of the pathogen, while other isolates could poorly inhibit the fungus. However, a remarkable inhibition activity was observed on 2 strains (Figure 1). Furthermore, the inhibitory capacity of the bacteria in contact with the pathogen changes its appearance (Table 2). On the other hand, inhibition rates are varying from 0% to 51.42%.

The Pa2 and S2Pf1 strains displayed the highest rate of inhibition compared to the other isolates, with respective values of 31.36% and 51.42%. These two strains were selected for the characterization of their antifungal potential, suggesting that strains from various rhizospheres produce different levels of antifungal products [25]. It is established that a relatively larger zone of inhibition translates the synthesis of relatively powerful antibiotic(s) [40]. Lee *et al.* were able to isolate PGPR strains, *Pseudomonas* spp. having been considered as having a good antifungal potential with inhibition rates ranging from 0 to 45%, depending on the target pathogen and the tested media [21]. Furthermore, Mikani *et al.* worked also on 10 *Pseudomonas fluorescens* for their antagonistic activity against *Botrytis mali* with inhibition of mycelial growth of 59.8% for the most efficient strain [41]. The difference

between the two selected candidates could be related to their different Rhizospheric origins (S2Pf1: *Nerium oleander* L and Pa2: *Olea oleaster* L). It is interesting to draw attention to the fact that bacteria isolated from spontaneous plant rhizosphere, unlike nursery plants and other "nurseries" would have a greater ability to inhibit plant pathogens [42], this being considered, the selection of samples of this work is precisely justified.

At present, even though there is a myriad of antifungal activity characterization studies on microbial agents, there is no consensus technique for this purpose [43]. Furthermore, antagonism tests may be conducted by concentrating the bacterial culture supernatant, which generally, once incorporated into the agar, result in inhibition rates higher than those observed by testing directly an inoculum [40].

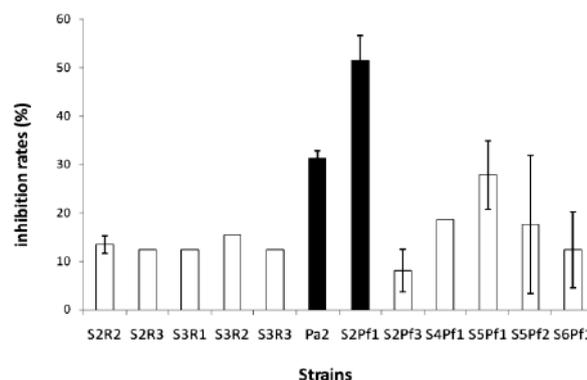


Figure 1: Results of Dual Plate Assay against *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Values are expressed in terms of means of inhibition rates \pm SD

3.3. Identification by conventional tests and biochemical profiles (API 20E and 20NE)

After completion of some conventional tests (Table 4) and after inoculation of API bioMerieux's system strips and incubation according to the manufacturer's instructions, results of the API 20E and AP 20NE strips (Tables 4 and 5) were recorded following the "reading result table" provided with the bioMerieux kits. The results were noted (+) for a positive test and (-) for a negative test, to serve later for a heuristic interpretation by a software (program PIBwin 2.0.0).

Table 2
Effect of bacterial isolates tested on the fungal mycelium

Strains	Description
S2R2	Altered mycelium (cotton-like form + creamy form)
S2R3	Altered mycelium (cotton-like form + creamy form) with fungal colonies growing on bacterial colonies
S3R1	Altered mycelium (cotton-like form + creamy form) with fungal colonies growing on bacterial colonies
S3R2	Altered mycelium (cotton-like form + creamy form)
S3R3	Altered mycelium (cotton-like form + creamy form) with fungal colonies growing on bacterial colonies
Pa2	Fungal colonies affected on the side of the bacterial development.
S2Pf1	Scarlet-red center, very weak growth, thin white edges
S2Pf3	The appearance of vivid purple color in the center of the fungal colony, white mycelium quantitatively affected
S4Pf1	The appearance of vivid purple color in the center of the fungal colony,
S5Pf1	The apparition of a relatively less vivid purple color in the center of the fungal colony,
S5Pf2	White mycelium relatively denser, quantitatively affected
S6Pf1	Less dense white mycelium in the edges (yellow), affected quantitatively.

Table 3
Description of bacterial colonies on various culture media

Strains	Media	Characters				
		Color	Size	Opacity	Diffusion	Growth
Pa ₂	King B Agar	brownish green	small	Average	important	Important
	King A Agar	fluorescent green	Small	Average	important	Important
	Cetrimide Agar	fluorescent green	small	Average	important	Important
S ₂ Pf ₁	King B Agar	Yellow	very small	weak	weak	Important
	King A Agar	Yellow	small	Average	weak	Important
	Cetrimide Agar	brownish-yellow	small	Opaque	weak	Important

After developing identification matrix as spreadsheets on Microsoft "Excel" for each of the two API 20E and API 20NE systems from identification tables (with the probability that a test is positive) provided by the manufacturer, the results were filled from the biochemical profiles of each strain according to Bryant [23]. The results of the heuristic interpretation are as follows:

- **S2Pf1**

This strain was identified as *Burkholderia cepacia* with an identification score (score ID) equal to 0.99944. The following tests gave unexpected results for this taxon: NO₃ (a positive result, while the probability for it to be positive is 39%), GLU (positive result, while the probability for it to be positive is 24%), ADH (positive result, while the probability for it to be positive is 1%) URE (positive result, while the probability for it to be

positive is 1%), PNPG (negative, while the probability for it to be positive is 72%) ARAa (negative result, while the probability for it to be positive is 75%), ADIa (negative result, while the probability for it to be positive is 93%) (Figure 2).

30 Characterization of fluorescent rhizobacteria isolated from Oleander (*Nerium oleander L.*) and Olivier (*Olea oleaster L.*) with antagonistic effect against *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*

Table 4
Conventional and biochemical (API 20NE) tests for strain S2Pf1.

Tests	Results
Gram	-
Fluorescence (256 nm)	-
Fluorescence (366 nm)	+
Catalase	+
Respiratory essay	ctly aerobic
reduction of nitrates to nitrites	+
β -galactosidase	-
β -glucosidase	-
Presence of L-Arginine dihydrolase	+
Urease	+
Gelatinase	+
Production of Indole	-
Phenylacetic acid	+
Trisodium citrate	+
Malic acid	+
Adipic acid	-
Capric acid	+
Potassium gluconate	+
Use of D-maltose	-
N-acetyl-glucosamine	+
D-Mannose	+
D-Glucose	+
D-Mannitol	+
L-Arabinose	-

• **Pa2**

This strain was identified as a *Pseudomonas aeruginosa* with an identification score (score ID) equal to 0.99990 (maximal score reached). The obtained results match exactly those of the taxon in the identification matrix (Figure 3).

Cultural characters such as pigmentation; consistency of colonies; size ..., may also provide valuable clues for identification. For example, a mobile organism, gram-negative which produces a fluorescent pigment soluble in water is likely to be a *Pseudomonas* species, whereas those forming bioluminescent colonies are likely to belong to the Vibrionaceae family.

Some species belonging to the rRNA group II (*Burkholderia cepacia*, *B. gladioli*, *B. caryophylli*), produce yellow-green diffusible pigments that are sometimes confused with fluorescent siderophores. The "A" medium of King *et al.* (1954) [20] is generally recommended for the production of phenazines pigments to which belongs "pyocyanin" [44].

Table 5
Conventional and biochemical (API 20 E) tests for strain Pa2.

Tests	Results
Gram	-
Fluorescence (256 nm)	+
Fluorescence (366 nm)	+
Catalase	+
Respiratory essay	Strictly aerobic
Galactosidase	-
Arginine dihydrolase	+
Lysine decarboxylase	-
Presence of Ornithine decarboxylase	-
Urease	-
Gelatinase	+
Tryptophan deaminase	-
H ₂ S	-
Production of Indole	-
Acetoin	-
Citrate	+
D-Glucose	+
D-Mannitol	-
Inositol	-
Use of D-Sorbitol	-
L-Rhamnose	-
D-Sucrose	-
D-Melibiose	-
Amygdalin	-
L-Arabinose	-

Given the widespread use and proven accuracy of API systems (supplemented by additional biochemical tests) for the identification of Enterobacteriaceae and other non-enteric Gram-negative bacilli [45] (including *Pseudomonas aeruginosa*, and *Pseudomonas fluorescens*), thus it was retained as "tool of choice" for the phenotypical identification of selected isolates. The computer-assisted analysis is undoubtedly capable of improving the identification process, or rather "the interpretation of results", this, based on identification algorithms, in the case of species with similar phenotypic properties [46]. Such programs are based on heuristic interpretation of the identification tests, each test being encoded "+" or "-", it then compares the profile of the unknown strain to those of a given database [46]. The use of API strips combined with computer-based interpretation led to identifying the selected candidates as following:

- S2Pf1: *Burkholderia cepacia*, with an ID Score = 0.99944 (poor "match").
- Pa2: *Pseudomonas aeruginosa*, with an ID Score = 0.99990 (very good "match", 0.999 threshold reached).

Fluorescent Pseudomonads are ubiquitous bacteria and common inhabitants of the rhizosphere and are the most studied group in the genus *Pseudomonas* [33]. This group is of great importance in biotechnology due to the ability of several strains to degrade xenobiotics, their use in biological control against the plant pathogens, and their pathogenicity in humans [47]. In the 1960s, a project focused on the construction of a rational system of classification of *Pseudomonas* species was organized in the bacteriology department at the University of California, Berkeley. This project had its main justification in the very unsatisfactory situation of the taxonomy of this genus into which was affected several hundred species names, many of which could not be identified based on published descriptions, and, in addition to this, their "type" strains were lost [44].

Pa2 was identified as *Pseudomonas aeruginosa*. Because of its clinical and environmental relevance, *P. aeruginosa* remains a subject of intense research and one thing is for sure, this remarkably versatile organism will

continue to surprise us in the future [46].

S2Pf1 was identified as *Burkholderia cepacia*. Examples of similarities show that a strong differentiation of members of *Burkholderia* and *Pseudomonas* is difficult. Studies on DNA-DNA hybridization and DNA-rRNA hybridization showed that species of the genus are members of "RNA similarities Group" II. The species is considered as a serious human opportunistic pathogen associated with nosocomial infections.

A striking feature of some *Burkholderia* strains is the production of various antifungal compounds (as evidenced by the results of the *in vitro* antifungal activity of the present work) that can be used for the management of the fungal disease [48]. *B. cepacia* has already been a subject of commercial use as a biological control agent for certain plant-parasitic nematodes and has already been used in the protection of tomato [49]. However, its use for the management of fungal diseases was reviewed, as it was proven to be an opportunistic pathogen associated with human cystic fibrosis disease. Understanding the molecular mechanisms of antifungal activity of *Burkholderia* strains will give clues to the development of biological fungicides while eliminating potential health risks [48].

32 Characterization of fluorescent rhizobacteria isolated from Oleander (*Nerium oleander L.*) and Olivier (*Olea oleaster L.*) with antagonistic effect against *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*

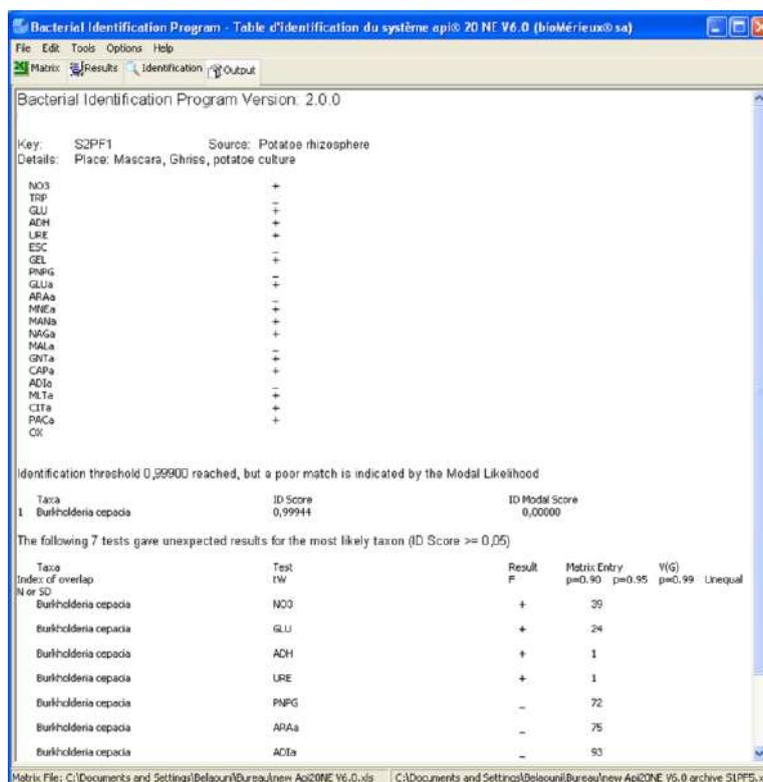


Figure 2 Report of the heuristic identification of the strain S2PF1

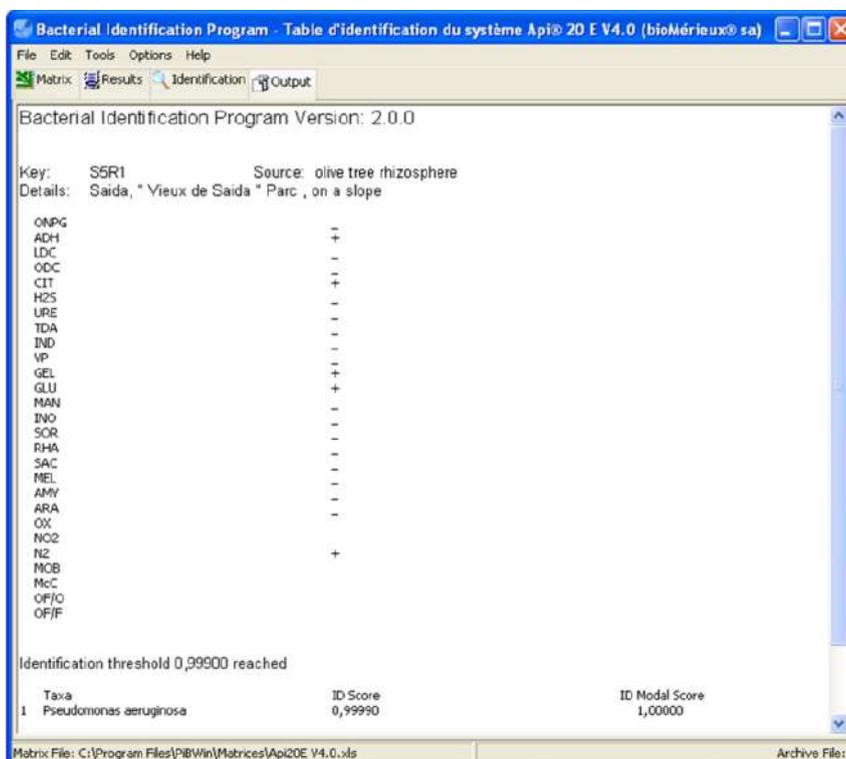


Figure 3 Report of the heuristic identification of the strain Pa2

3.4. Characterization (antifungal secondary metabolites and extracellular lytic enzymes)

Production of antifungal secondary metabolites is recognized as an important aspect of biocontrol against responsible agents of fungal diseases in plants [50].

3.4.1. Salicylic acid

After the preparation of standards for a calibration curve and reading absorbance at 527 nm after different treatments for the spectrophotometric determination of salicylic acid, the results were plotted. The formula of the obtained line is as follows: $y = 0.068x$ (y : OD527, x : salicylic acid concentration), with a good coefficient of determination ($R^2 = 0.948$).

After reading the OD527 of the spectrophotometric preparations for determination of the salicylic acid produced by the selected strains, extrapolation on the standard curve revealed the following concentrations (converted into $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$): S2Pf1: $307.45 \pm 2.08 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, Pa2: $383.28 \pm 1.23 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Thus, the maximum production is attributed to the strain *Pseudomonas aeruginosa* Pa2 (Figure 4). *Burkholderia cepacia* and other *Pseudomonas* species are some of the most promising biocontrol organisms. These bacteria produce many antibiotic substances that may inhibit pathogens. Among these molecules, salicylic acid is of great interest, given its "crossroad" position in the synthesis of other antibiotics of major importance in the induction of resistance in plants. The determination of salicylic acid is based on a color reaction. The complex formed between the Fe^{3+} ions and salicylic acid then features a blue-purple color, allowing its visual detection [51]. Numerous studies have shown that the accumulation of salicylic acid in the rhizosphere was associated with physiological responses of plants to infections caused by phytopathogenic agents [52].

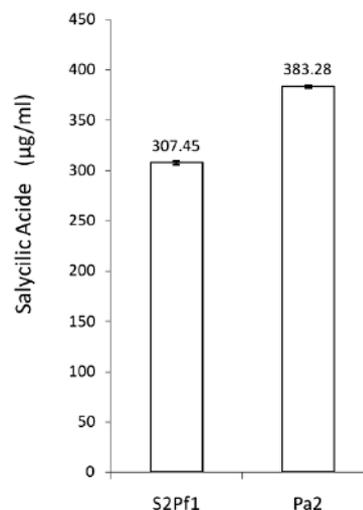


Figure 4: Concentration of salicylic acid (g/ml) after 72 h on BHIB. Results Expressed as mean \pm standard deviation, with a significant difference at $p = 0.05$

Indeed, De Meyer and Höfte 1997 have shown that the production of salicylic acid is essential for the induction of resistance to *Botrytis cinerea* by *P. aeruginosa* in the bean and do not exclude a role for pyochelin, another antibiotic, for what salicylic acid is a precursor [53].

However, the *in-situ* mechanism of action remains poorly understood. For example, WCS374r *Pseudomonas fluorescens* (a strain with high potential of SA production) induced resistance in radish but not in *Arabidopsis thaliana*, while the application of salicylic acid would result in the induction of resistance in both species [54].

3.4.2. Hydrocyanic acid

As the result of producing hydrocyanic acid is based on the color change of the alkaline picrate strips, both strains are considered HCN- (no production observed).

This acid plays a key role in the suppression of some pathogens like the black rot of tobacco roots [55]. Voisard et al. [55] found that HCN-mutant strain *P. fluorescens* CHAO obtained by insertional inactivation has lost its ability to inhibit black rot tobacco roots caused by *Thielaviopsis basicola*, suggesting that HCN contribute to suppression of black root rot by *P. fluorescens*.

3.4.3. Rhamnolipids

The formula of the obtained line is as follows: $y=0.012x$ (y : DO421, x : L-rhamnose concentration), with a good coefficient of determination R^2 of 0.941.

Extrapolation of the OD421 of the spectrophotometric preparations from 7 days cultures has revealed the following rates (equivalent in mg L-rhamnose.mL⁻¹): S2Pf1: 35.63 mg L-Rha-eq.mL⁻¹, Pa2: 72.08 mg L-Rha-eq.mL⁻¹. Thus, the best production rate is attributed to the strain *Pseudomonas aeruginosa* Pa2 (Figure 5).

The biosurfactants are valuable amphiphilic molecules with effective microbial biological properties and especially "surface-active" abilities, applicable to several niches and other industrial processes [56]. Among the molecular group, rhamnolipids would take pride of place. Surfactant molecules composed of rhamnose and β -hydroxydecanoic acid, biosurfactants are produced mainly by *Pseudomonas aeruginosa*, which were studied since their discovery to date [57].

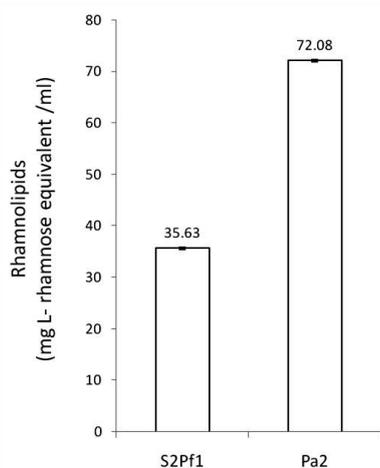


Figure 5: Concentration of rhamnolipids (mg L-rhamnose equivalent/ml) after 7 days on glucose urea medium (Orcinol colorimetric method). Results Expressed in mean \pm standard deviation, with a significant difference at $p = 0.05$

It is interesting to note that very few studies have focused on the production of rhamnolipids by *Burkholderia species* [57]. We observed reasonable rates, if compared to other works, such as Wang *et al.* [31], after genetic manipulation and production optimization achieved exceptional rates (785.4 mg.L⁻¹ after 4 days of fermentation).

Orthologs of *rhIA*, *rhIB* and *rhIC*, genes responsible

for the biosynthesis of rhamnolipids in *P. aeruginosa*, were found in the non-infectious *Burkholderia thailandensis*, and also in the pathogenic agent *Burkholderia pseudomallei*. In contrast to *P. aeruginosa*, *Burkholderia* species contain these three genes required for production rhamnolipids within a single gene cluster [57].

Rhamnolipids display antibacterial activity mainly against Gram-positive plus some Gram-negative. Besides, it is confirmed to be antiviral, antifungal and mycoplasmacide, such molecules could confer a competitive advantage in the colonization of niches, this being confirmed by the ability of *P. aeruginosa* to be "ubiquitous" [58].

3.4.4. Chitinases

The halos obtained after a 4 days culture of selected strains for the characterization of antifungal potential on the chitin-agar medium are as follows (Figure 6): S2Pf1: 54 mm, Pa2: 52 mm. So, *Burkholderia cepacia* S2Pf1 seems to have a better ability to degrade chitin, indicating a greater ability to produce chitinases.

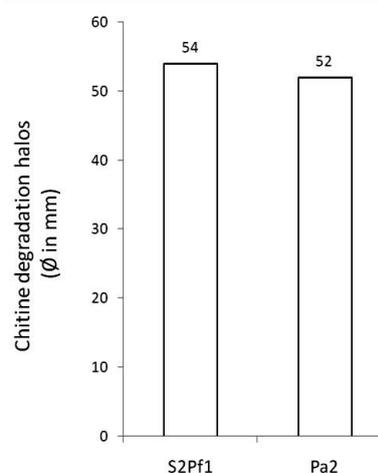


Figure 6: Diameters of chitin degradation halos (expressed in mm)

The lytic activity of bacteria is one of the main mechanisms involved in biological control. Studies on the lytic activity of biological control agents have focused on the characterization of enzymatic systems able to degrade the components of the fungal cell wall, of which chitinases are among the most intensively studied [59]. Both strains are active in terms of chitin degradation.

3.4.5. Cellulase

This test aims to highlight the ability of a strain to degrade cellulose. Microbial growth in a cellulose-based medium (paper) as the sole carbon source is proof of cellulase production. Strains tested have exhibited degradation of cellulose paper bands, thus increasing relatively the turbidity of the test tube if compared to the control tube (saline medium+paper band without inoculation).

An evaluation of the OD600 after 3 weeks of culture has assessed the cellulolytic activity of the selected strains: S2Pf1: 0.1906 ± 0.0005 , Pa2: 0.1726 ± 0.0011 . Thus, *Burkholderia cepacia* S2Pf1 has a better potential in terms of cellulase production (Figure 7).

Cellulase, another lytic enzyme, targeting the fungal cellulose wall, would be another piece of the antifungal arsenal [33].

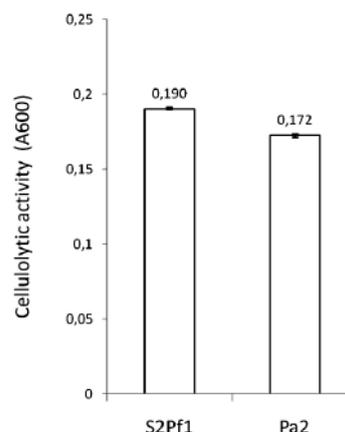


Figure 7: Evaluation of the cellulolytic activity by measuring OD600 after 3 weeks of culture on cellulose medium. Results Expressed as mean \pm standard deviation, with a significant difference at $p = 0.05$

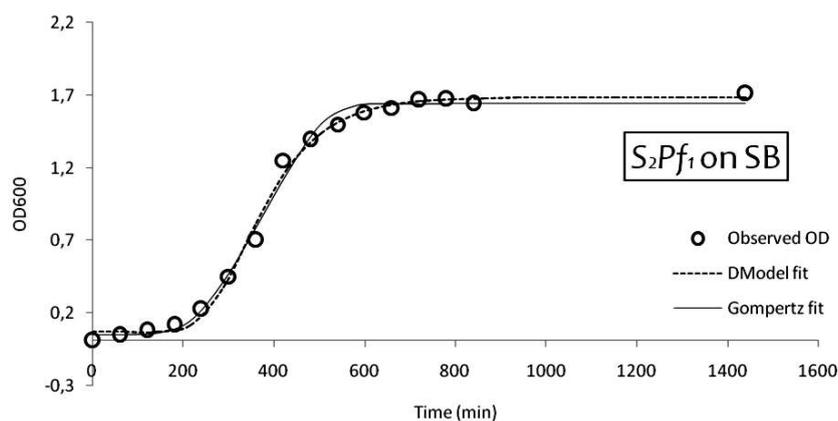


Figure8 Bacterial growth curves of *S2Pf1* on seed broth (SB) (according to observed ODdata, DModel data fitting, and Gompertz model data fitting)

3.4.6. Growth kinetics

The bacterial growth curves of *Burkholderia cepacia* S2Pf1 in nutrient broth and Seed broth are shown in Figure 8 and Figure 9 respectively. For the kinetics parameters, the results are displayed in table 6. The best values for the maximum growth rate were obtained with the Seed media ($0.0056 \text{ OD} \cdot \text{min}^{-1}$ with D model, $0.0063 \text{ OD} \cdot \text{min}^{-1}$ Gompertz model), with a shorter generation time recorded for the same media. On the other hand, a higher bacterial density (Predicted maximum density, Y_{End}) is observed for the nutrient broth (2.0971 with D model, 2.0915 with Gompertz model). Optical density (OD) data can be used to obtain the specific growth rate and if used in conjunction with

the known initial inocula, the maximum population data and knowledge of the microbial number at a predefined ODat a known time then all the information required for the reconstruction of a standard growth curve can be obtained. The Baranyi model (D model) was described as a robust primary model for predicting bacterial growth parameters. It should be mentioned that the Gompertz equation used in the present study, and largely used by other works, is also satisfactory for fitting the growth curves of bacteria, and thus, relevant for the interpretation of the results of our evaluation [60]. To demonstrate the invasive potential of *Burkholderia cepacia* S2Pf1, the growth parameters were studied by measuring the OD600 for 24h.

The results of this experiment argue in favor of the

36 Characterization of fluorescent rhizobacteria isolated from Oleander (*Nerium oleander L.*) and Olivier (*Olea oleaster L.*) with antagonistic effect against *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*

Seed broth for a better maximum growth rate, while the nutrient broth gives a better maximum bacterial density for *Burkholderia cepacia* S2Pf1. It is of vital relevance to focus on the growth stability of a PGPR candidate since a consistent growth would provide stability of the

PGPR effect. Thus, Bainton *et al.* suggest that a strong and stable generation rate may be an advantageous characteristic once in the soil, ensuring stable colonization of the root system [61].

Table 6

Growth curves values for *S₂Pf₁* calculated from the DModel and Gompertz equations, in Seed broth and nutrient broth

<i>S₂Pf₁</i> Growth curve values	Medium			
	Seed broth		Nutrient broth	
	D Model fitting	Gompertz model fitting	D Model fitting	Gompertz model fitting
Initial inoculum density Y_0 (OD600)	0.01	0.01	0.01	0.01
Growth rate μ_{max} (OD.min ⁻¹)	0.0056	0.0063	0.0029	0.0034
Generation time t_d (min)	123.1272	109.2576	235.6702	198.3834
Lag phase λ (min)	229.4436	241.3809	126.8145	183.8788
Predicted maximum density Y_{End}	1.6406	1.6847	2.0971	2.0915
Standard error of fitting $se(fit)$	0.0633	0.0551	0.0956	0.0595
R ²	0.99191	0.99399	0.98171	0.99293

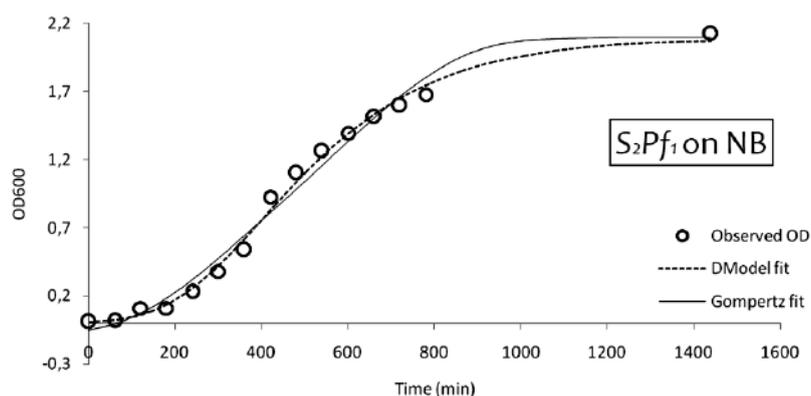


Figure 9: Bacterial growth curves of *S₂Pf₁* on nutrient broth (NB) (according to observed ODdata, DModel data fitting, and Gompertz model data fitting)

4. Conclusion

The tested rhizobacteria *Pseudomonas aeruginosa* Pa2 and *Burkholderia cepacia* S2Pf1 showed antagonistic activity against FORL. The investigation of their ability to produce several secondary metabolites involved in biocontrol (salicylic acid, hydrogen cyanide, rhamnolipids, chitinases, and cellulases) showed good potential, with a slight advantage for the strain *Burkholderia cepacia* S2Pf1, encouraging us to consider their possible use under field condition. The kinetic study of the later has proven the ability of this strain to easily reach high densities in both nutrient and Seed broths, with a maximum growth rate value of 0.0063 OD.min⁻¹ in the Seed broth, and a predicted

maximum density of 2.0915 in the nutrient broth (values given by the Gompertz model). The potential of such strains for protecting tomato crops should be investigated *in vivo* to highlight their ability to limit damages caused by FORL, in addition to other pathogens as well as an effective substitute for chemical pesticides, presenting risks to human health and the environment.

Acknowledgment

This study was performed at the M2 microbiology laboratory, affiliated to the Department of Biology, Faculty of Science, University "Djillali Liabes" Sidi Bel Abbes in collaboration with the Laboratory Research Unit - West (Sidi Bel Abbes) of the National Institute for

Agricultural Research "INRA" therefore our sincere thanks go to the staffs of these two units.

References

- [1] De Giovanni C., Dell'Orco P., Bruno A., and Ciccarese F., Identification of PCR-based markers (RAPD, AFLP) linked to a novel powdery mildew resistance gene (ol-2) in tomato. *Plant. Sci.* 166 (2004): 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.07.005>
- [2] Guimarães E.P., Marker-assisted selection : current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish. *Food Agric. Organ. unites nations.* 127 (2007): 1–494. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2009.00834.x>
- [3] Srividya S., Sasirekha B., Ashwini N., Multifarious antagonistic potentials of rhizosphere associated bacterial isolates against soil-borne diseases of Tomato. *Asian J. Plant Sci. Res.* 2 (2012): 180–186.
- [4] Cirumalla R.G., Sharan M. and Sharon M., γ - Irradiation of seeds of *Punica granatum* L. cv. Ganesh inhibits amylase activity and seedling growth. *Euro. J. Exp. Bio.* 1 (2011): 17–22.
- [5] Rosewich U.L., Pettway R.E., Katan T. and Kistler H.C., Population Genetic Analysis Corroborates Dispersal of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* from Florida to Europe. *Phytopathology.* 89 (1999): 623–630. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.8.623>
- [6] Groenewald S., Biology, pathogenicity and diversity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Magister Scientiae.* Pretoria: University of Pretoria, 2005. <https://repository.up.ac.za/bitstream/handle/2263/30587/00dissemination.pdf>
- [7] Morid B., Hajmansoor S. and Kakvan N., Screening of resistance genes to fusarium root rot and fusarium wilt diseases in tomato (*Lycopersicon esculentum*): cultivars using RAPD and CAPs markers. *Eur. J. Exp. Biol.* 2 (2012): 931–939. <https://doi.org/10.5897/AJB09.1123>
- [8] Zhang S., Roberts P.D., McGovern R.J., and Datnoff L.E., Fusarium Crown and Root Rot on Tomato in Florida. (2007): 52. <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/files/PG/PG08200>
- [9] Lumsden R.D. and Locke J.C., Biological control of damping-off caused by *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* with *Gliocladium virens* in soilless mix. *Phytopathology.* 79 (1989): 361–366. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1989Articles/Phyto79n03_361.PDF
- [10] Russell P.E., Fungicide resistance: occurrence and management. *J.Agric. Sci.* 124 (1995): 317–323. <https://doi.org/10.1017/S0021859600073275>
- [11] Emmert E.A.B. and Handelsman J., Biocontrol of plant disease: A (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiol. Lett.* 171 (1999): 1–9.
- [12] Sutton T.B., Changing options for the control of deciduous fruit tree diseases. *Annu Rev Phytopathol* 34 (1996): 527–547. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto>
- [13] Jacobsen B.J., and Backman A., Biological and cultural plant disease controls: alternatives and supplements to chemicals in IPM systems.
- [14] Ahmed M., Management of Fusarium wilt of tomato by soil amendment with *Trichoderma koningii* and a white sterile fungus. *Indian J. Res.* (2011): 35–38.
- [15] Saidi N., Kouki S., M'Hiri F., et al Characterization and selection of Bacillus sp. strains, effective biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, the causal agent of Fusarium crown and root rot in tomato. *Ann. Microbiol.* 59 (2009): 191. <https://doi.org/10.1007/BF03178317>
- [16] Kamilova F., Kravchenko L.V., Shaposhnikov A.I., et al Effects of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and of the biocontrol bacterium *Pseudomonas fluorescens* WCS365 on the composition of organic acids and sugars in tomato root exudate. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 19 (2006): 1121–1126. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-1121>
- [17] Ohno A., Ano T. and Shoda M., Production of the antifungal peptide antibiotic, iturin by *Bacillus subtilis* NB22 in solid-state fermentation. *J. Ferment. Bioeng.* 75 (1993): 23–27. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(93\)90172-5](https://doi.org/10.1016/0922-338X(93)90172-5)
- [18] Marshall R.T., Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association, 16th ed. Washington, D.C. The National Agricultural Library (NAL), 1993. <https://www.nal.usda.gov/>
- [19] Brown V.I. and Lowbury E.J., Use of an improved Cetrimide agar medium and other culture methods for *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Clin. Pathol.* 18 (1965): 752–756. <https://doi.org/10.1136/jcp.18.6.752>
- [20] King E.O., Ward M.K. and Raney D.E., Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 44 (1954): 301–307.
- [21] Lee S.W., Ahn I.P., Sim S.Y., et al *Pseudomonas* sp. LSW25R, antagonistic to plant pathogens, promoted plant growth, and reduced blossom-end rot of tomato fruits in a hydroponic system. *Eur. J. Plant. Pathol.* 126 (2010): 1–11. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9514-3>
- [22] Gallagher S. and Wiley E., Current Protocols Essential Laboratory Techniques. John Wiley & Sons, Inc., New York, 2008. <https://doi.org/10.1002/9780470089941.etprefs00>
- [23] Bryant T.N., PIBWin -- software for probabilistic identification. *J. Appl. Microbiol.*, 97 (2004): 1326–1327. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02388.x>
- [24] Díaz de Villegas M.E., Villa P. and Frías A., Evaluation of the siderophores production by *Pseudomonas aeruginosa* PSS. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 44 (2002): 112–117.
- [25] Nagarajkumar M., Bhaskaran R. and Velazhahan R., Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by *Pseudomonas fluorescens* in inhibition of *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. *Microbiol. Res.* 159 (2004): 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2004.01.005>
- [26] Luria S.E., Adams J.N. and Ting R.C., Transduction of lactose-utilizing ability among strains of *E. coli* and *S. dysenteriae* and the properties of the transducing phage particles. *Virology.* 12 (1960): 348–390. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(60\)90161-6](https://doi.org/10.1016/0042-6822(60)90161-6)
- [27] Miller J.H., Experiments in molecular genetics. Cold Spring Harb Lab Press Cold Spring Harb. NY. 433(1972): 352–355. <https://doi.org/papers2://publication/uuid/28F839D6-A272-4D50-9114-D2769DE72B38>
- [28] Alemany Agulló J., Caracterització de Metabòlits produïts per Soques de *Pseudomonas fluorescens* efectives en El Control Biològic de Fongs Fitopatògens. Thesis., University of Girona, Spain, 2001.
- [29] Chandrasekaran E.V. and Bemiller J.N., Constituent analyses of glycosaminoglycans. In: *Methods in Carbohydrate Chemistry.* (1980): <https://doi.org/10.1021/ed040pA394>
- [30] DuBois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., et al Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Annal. Chem.* 28 (1956): 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- [31] Wang Q., Fang X., Bai B., et al Engineering bacteria for production of rhamnolipid as an agent for enhanced oil recovery. *Biotechnol. Bioeng.* 98 (2007): 842–853. <https://doi.org/10.1002/bit.21462>
- [32] Naik P.R., Raman G., Narayanan K.B. and Sakthivel N., Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from Rhizospheric soil. *BMC. Microbiol.* 8 (2008): 230.

38 Characterization of fluorescent rhizobacteria isolated from Oleander (*Nerium oleander L.*) and Olivier (*Olea oleaster L.*) with antagonistic effect against *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*

- <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-230>
- [33] Ahmadzadeh M. and Sharifi Tehrani A., Evaluation of fluorescent pseudomonads for plant growth promotion, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* on common bean, and biocontrol potential. *Biol. Control*. 48 (2009): 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.10.012>
- [34] Thaler M., Diekmann H., The effect of manganese deficiency on lipid content and composition in *Brevibacterium ammoniagenes*. *App. Microbiol. and Biotechnol.* 6 (1979): 379–387.
- [35] Bendaha M.E-A., Mebrek S., Naimi M., *et al* Open Access Scientific Reports. Isolation and Comparison of Rhamnolipids Production in *Pseudomonas aeruginosa* P.B:2 and *Pseudomonas fluorescens* P.V:10. (2012). <https://doi.org/10.4172/scientificreports.544>
- [36] Zaika L.L., Phillips J.G., Fanelli J.S. and Scullen O.J., Revised model for aerobic growth of *Shigella flexneri* to extend the validity of predictions at temperatures between 10 and 19°C. *Int. J. Food Microbiol.* (1998): 9–19. <https://doi.org/10.1016/S0168->
- [37] Dastidar S.G. and Gompertz: A Scilab Program for Estimating Gompertz Curve Using Gauss-Newton Method of Least Squares. *J. Stat. Softw.* 15 (2006): 1–12. <https://doi.org/10.18637/jss.v015.i12>
- [38] Baranyi J. and Roberts T.A., A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol.* 23 (1994): 277–294. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0)
- [39] Mytilinaios I., Salih M., Schofield H.K. and Lambert R.J.W., Growth curve prediction from optical density data. *Int. J. Food Microbiol.* 154 (2012): 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.035>
- [40] Kadir J., Rahman M.A., Mahmud T.M.M., *et al* Extraction of antifungal substances from *Burkholderia cepacia* with antibiotic activity against *Colletotrichum gloeosporioides* on papaya (*Carica papaya*). *Int. J. Agric. Biol.* 10 (2008)15–20. <https://www.academia.edu/23021140/>
- [41] Mikani A., Etebarian H.R., Sholberg P.L., *et al* Biological control of apple gray mold caused by *Botrytis mali* with *Pseudomonas fluorescens* strains. *Postharvest. Biol. Technol.* 48 (2008): 107–112. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.020>
- [42] Allaire M., Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu naturel. *Fac. des Sci. l'Agriculture l'Alimentation* (2005): 90. <https://doi.org/10.1.1.629.6519>
- [43] Ernst E.J., Susceptibility testing methods of antifungal agents. *Methods. Mol. Med.* 118 (2005): 3–12. <https://doi.org/10.1385/1-59259-943-5:003>
- [44] Brenner D., Krieg N.R., Staley J.T. and Garrity G.M., *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. *Bergey's Manual® Syst Bacteriol.* (2005): 333–379. <https://doi.org/10.1007/0-387-29298-5>
- [45] Pfaller M.A., Bale M.J., Schulte K.R. and Koontz F.P., Comparison of the Quantum II Bacterial Identification System and the AutoMicrobic System for the identification of gram-negative bacilli. *J. Clin. Microbiol.* 23 (1986): 1–5.
- [46] Dworkin M., The Prokaryotes: Symbiotic Associations, *Biotechnology, Applied Microbiology*. In: *The Prokaryotes*. (2006): 1–184.
- [47] Goud M., and Muralikrishnan V., Biological control of three phytopathogenic fungi by *Pseudomonas fluorescens* isolated from rhizosphere. *Int. J. Microbiol.* 7 (2008): 1–5. <https://print.ispub.com/api/0/ispub-article/6117>
- [48] Gu G., Smith L., Wang N., *et al* Biosynthesis of an antifungal oligopeptide in *Burkholderia* contaminants strain MS14. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 380 (2009): 328–332. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.01.073>
- [49] Meyer S.L.F., Roberts D.P., Chitwood D.J., *et al* Application of *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma virens*, alone and in combinations, against *Meloidogyne incognita* on bell pepper. *Nematropica*. (2001): 31. <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/7661>
- [50] Carroll H., Moenne-Loccoz Y., Dowling D.N. and O'Gara F., Mutational Disruption of the Biosynthesis Genes Coding for the Antifungal Metabolite 4-Diacetylphloroglucinol Does Not Influence the Ecological Fitness of *Pseudomonas fluorescens* F113 in the Rhizosphere of Sugarbeets. *Appl. Environ. Microbiol.* 61(1995)3002–3007. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1388555/>
- [51] Gil M.J. and Martínez-Merino V., Determination Of The Free Salicylic Acid Concentration In Aspirin By Forming Fe+3 Complexes (2007). http://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practic-a-1-11.pdf
- [52] Saikia R., Kumar R., Arora D.K., *et al* *Pseudomonas aeruginosa* inducing rice resistance against *Rhizoctonia solani*: Production of salicylic acid and peroxidases. *Folia Microbiol. (Praha)*. 51 (2006): 375–380. <https://doi.org/10.1007/BF02931579>
- [53] De Meyer G. and Höfte M., Salicylic Acid Produced by the Rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 Induces Resistance to Leaf Infection by *Botrytis cinerea* on Bean. *Phytopathology*. 87 (1997): 588–593. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.6.588>
- [54] Ran L.X., van Loon L.C. and Bakker P., No role for bacterially produced salicylic Acid in rhizobacterial induction of systemic resistance in Arabidopsis. *Phytopathology*. 95 (2005): 1349–55. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1349>
- [55] Voisard I. C., Keell C., Haas D. and Defago I. G., Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO. J.* 8 (1989): 351–358. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1997.tb00394.x>
- [56] Abouseoud M., Maachi R. and Amrane A., Biosurfactant Production from olive oil by *Pseudomonas fluorescens*. *Comm. Curr. Res. Educ. Top. Trends Appl. Microbiol* 1 (2007): 340–347.
- [57] Dubeau D., Déziel E., Woods D.E. and Lépine F., *Burkholderia thailandensis* harbors two identical rhl gene clusters responsible for the biosynthesis of rhamnolipids. *BMC. Microbiol.* 9 (2009): 263. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-263>
- [58] Soberón-Chávez G., Lépine F. and Déziel E., Production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 68 (2005): 718–725. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0150-3>
- [59] Kobayashi D.Y., Reedy R.M., Bick J. and Oudemans P.V., Characterization of a Chitinase Gene from *Stenotrophomonas maltophilia* Strain 34S1 and Its Involvement in Biological Control. *Appl. Environ. Microbiol.* (2002): 1047–1054. <https://doi.org/10.1128/aem.68.3.1047-1054.2002>
- [60] Szczawiński J., Klusek A. and Szczawińska M.E., Parameters of growth curves of *Salmonella enteritidis* subjected to conventional heat or microwave treatment. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* (2009): 627–632.
- [61] Bainton N.J., Lynch J.M., Naseby D., Way J.A., Survival and ecological fitness of *Pseudomonas fluorescens* genetically engineered with dual biocontrol mechanisms. *Microb. Ecol.* 48 (2004): 349–357. <https://doi.org/10.1007/s00248-003-2021-8>

Soumis le: 30/03/2020

Forme révisée acceptée le: 14/06/2020

Correspondant: benzinafarida@yahoo.fr



Revue
Nature et Technologie

<http://www.univ-chlef.dz/revuenatec>

ISSN: 1112-9778 – E-ISSN: 2437-0312

Détermination et caractérisation des sidérophores synthétisés par quelques souches de *Pseudomonas spp.* fluorescents phytobénéfiques

Farida BENZINA TIHAR^{a,*}, Hakima OULEBSIR-MOHAND KACI^b, Sonia HAMID^{a,b},
Abd-Ennaceur REGHMIT^a, Fatma SAHIR-HALOUNE^a

^a Laboratoire de Valorisation et Conservation des Ressources Naturelles, Département de Biologie, Université M'hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.

^b Université Akli Mohand Ouladjid Bouira, Algérie.

Abstract

Cette étude est consacrée à la détermination de la capacité de 5 souches autochtones de groupe fluorescent des *Pseudomonas* et une souche de référence CHA0 à produire des sidérophores. Les 5 souches testées ont été isolées de la rhizosphère de l'olivier cultivé dans la région de Bouira (localisée au nord algérien). Les tests d'évaluation de la production des sidérophores ont été réalisés dans cinq milieux de culture différents à savoir le succinate (SM), le King B, le milieu PD, le milieu CAA et le milieu TSB. Les résultats obtenus confirment que l'ensemble des souches testées ont la capacité de produire des sidérophores sur le milieu succinate (MS) avec des intensités de production variable d'une souche à une autre. L'influence de certains facteurs tels que l'assimilation du fer ajouté, sous forme de FeCl₃ à différentes concentrations, le pH, et le type de sucre sur la production des sidérophores a été également testée. Nous avons remarqué que l'absence de fer dans le milieu, à des pH neutre (7) en présence de fructose comme source de carbone assure les meilleurs taux de production. Plusieurs méthodes ont été utilisées pour la détection des sidérophores tels que les tests chimiques et biochimiques par l'électrophorèse SDS-PAGE. Ces méthodes ont permis de conclure que la plupart des sidérophores synthétisés par nos souches sont de type hydroxamate. D'autre part, l'infrarouge (IR) a été utilisée pour la détection du groupement fonctionnel des pigments responsables de la fluorescence (les chromophores) qui sont dans notre cas très riche en groupement OH, NH, cycles benzoïques, acide carboxylique COOH ce qui confirme la synthèse des sidérophores de type hydroxamates et plus précisément la classe des pyoverdines. L'évaluation qualitative de l'activité antifongique des sidérophores produits par les différentes espèces de *Pseudomonas fluorescents* à l'encontre de *Verticillium dahliae* a montré des taux d'inhibition qui varient de 25 à 48%.

Mots-clés : Olivier ; *Pseudomonas spp.* fluorescents ; Sidérophores ; *Verticillium dahliae* ; Pyoverdines.

Bioassay, characterization and estimation of siderophores from some phytobeneficial fluorescent *Pseudomonas*.

Abstract

We studied the capacity of 5 indigenous strains of fluorescent group of *Pseudomonas* isolated from the rhizosphere of the olive tree cultivated in the region of Bouira (Algeria), and a reference strain CHA0 to produce siderophores in the culture media tested namely succinate (SM), King B, PD, CAA and TSB medium. The results obtained confirm that all of the strains tested have the capacity to produce siderophores on the succinate medium (MS) without added iron, with production intensities varying from one strain to another. The influence of certain factors such as the culture medium, and the assimilation of the added iron, in the form of FeCl₃ at different concentrations, the pH, and the type of sugar added in the culture medium on the production of siderophores has been also tested. We have noticed that the absence of iron in the medium, at neutral pH (7) in the presence of fructose as a carbon source ensures the best production rates. Several methods have been used for the detection of siderophores such as chemical and biochemical tests by SDS-PAGE electrophoresis. These applied identification methods made it possible to conclude that most of the siderophores synthesized by our strains are of the hydroxamate type. While infrared (IR) was used for the detection of the functional group of pigments responsible for fluorescence (chromophores) which in our case are very rich in group OH, NH, benzoic cycles, carboxylic acid COOH which confirms the synthesis of siderophores of the hydroxamate type and more precisely the class of pyoverdines. The qualitative evaluation of the antifungal activity of siderophores produced by the different species of fluorescent *Pseudomonas* against *Verticillium dahliae* has shown inhibition rates which vary from 25 to 48%.

Keywords: Olive trees; Fluorescents *Pseudomonas*; Siderophores; *Verticillium dahliae*; Pyoverdin.



Ceci est un document en libre accès selon les termes de [Creative Commons Attribution License CC-BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), ce qui permet de le partager, copier, reproduire, distribuer, communiquer, réutiliser ou de l'adapter avec l'obligation de créditer son auteur.

1. Introduction

Le fer est un élément important pour presque tous les organismes vivants étant impliqué dans beaucoup de processus métaboliques. Cependant, le fer n'est pas aisément disponible pour la plupart des micro-organismes bien que ce ne soit pas un élément rare, étant le quatrième d'abondance dans la croûte terrestre. Dans le sol et à la valeur du pH 7, il règne sous forme d'hydroxyde ferrique ($\text{Fe}(\text{OH})_3$). La concentration de Fe^{3+} libre est au mieux $10^{-17} \text{ mol.L}^{-1}$ tandis que les microorganismes ont besoin de $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ [1]. Pour les microorganismes le fer est fortement lié aux protéines [2]. Il s'implique dans différentes fonctions de l'organisme comprenant la réduction de l'oxygène pour la synthèse de l'ATP (Adénosine triphosphate), réduction de précurseurs de ribonucléotide d'ADN, ainsi que pour la formation du l'hème et pour d'autres buts essentiels [3]. Les microorganismes ont donc développé des systèmes d'acquisition de fer spécifiques et performants pour assurer leur survie par la sécrétion de sidérophores [4-8].

Les sidérophores, sont des molécules de faible poids moléculaires, produites par les bactéries et les champignons, avec une forte affinité pour chélater le fer ferrique. Ils sont synthétisés et sécrétés par beaucoup de micro-organismes en réponse aux carences de fer [4], ces composés se lient avec le Fe^{3+} , et le transportent dans la cellule microbienne par des récepteurs membranaires spécifiques afin de le solubiliser [3].

Ces derniers sont utilisés pour assurer la nutrition en fer des microorganismes. Ils sont produits par presque tous les microorganismes, procaryotes ou eucaryotes étudiés, à l'exception de *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans*. Parmi les 500 sidérophores identifiés jusqu'en 2016, seules ces trois espèces microbiennes ne produisent pas elles-mêmes des sidérophores, mais elles possèdent la machinerie moléculaire permettant l'utilisation de sidérophores sécrétés par d'autres microorganismes, nommés alors xénosidérophore [9,10].

Parmi les bactéries productrices des sidérophores les *Pseudomonas spp.* fluorescents, qui sont des bactéries

rencontrées dans l'eau et dans le sol particulièrement, au niveau de la rhizosphère. Dans ce dernier milieu, deux espèces de groupe fluorescents des *Pseudomonas* à savoir ; *P. fluorescens* et *P. putida*, sont prédominants et peuvent constituer plus de 60 % de la flore bactérienne [11]. Elles ont développé une stratégie active pour la prise de fer, cette stratégie est basée sur des sidérophores (appelé souvent pyoverdine qui montrent une affinité élevée pour le Fe^{3+} [5].

Des études menées actuellement, notamment sur le groupe fluorescent des *Pseudomonas* qui sont des bactéries à Gram-négatif, permettent d'accroître progressivement nos connaissances sur les mécanismes permettant à ces microorganismes d'assimiler les quantités de fer nécessaires à leur prolifération [8, 12].

L'objectif de la présente étude est basé sur (i) la détection, et l'identification d'un métabolite secondaire, les sidérophores, synthétisés par différentes souches de *Pseudomonas spp.* fluorescents isolées à partir de sol rhizosphérique de l'olivier, et (ii) leurs capacités d'assimiler le fer dans les conditions de carence en créant dans le milieu une compétition trophique vis-à-vis de cet élément, (iii) la recherche d'une éventuelle activité antifongique contre le *Verticillium dahliae* agent de la verticilliose vasculaire de l'olivier.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Les souches bactériennes

Pour la réalisation des différentes expériences, 5 souches bactériennes du genre *Pseudomonas* (T23, T27, T33, T34 et T49) sont utilisées, ces souches ont été isolées à partir de la rhizosphère de l'olivier cultivé (*Olea europaea pv. europaea*) sur le milieu King B [13]. Une souche de référence CHA0 (Swiss, Pr. Keel) a également été utilisée pour interpréter et comparer les résultats. Le tableau 1 représente les caractéristiques moléculaires effectuée par le séquençage de l'ADN 16S des isolats de *Pseudomonas* utilisés dans la présente étude [14].

Tableau 1

Identification moléculaire des souches de *Pseudomonas spp.* fluorescents utilisées dans notre étude

Souches bactériennes	Code d'accésion	Identification	Pourcentage de similarité
T23	LN849713	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	99 %
T27	LN849714	<i>Pseudomonas fluorescens</i> bv. III	100 %
T33	LN849715	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	99 %
T34	HG810923	<i>Pseudomonas putida</i>	100 %
T49	LN849712	<i>Pseudomonas fluorescens</i> bv. II	100 %

2.2. Les souches fongiques

Il s'agit d'un champignon phytopathogène, du genre *Verticillium*, isolé des branches et des rameaux d'oliviers (variété Chemlal) dans la région de Bouira¹, commune de M'chedallah (36°21'55" Nord, 4°16'15" Est, Altitude 481 m). Le climat est chaud et sec en été, froid et pluvieux en hiver. La pluviométrie moyenne est de 660 mm.an⁻¹ au nord et de 400 mm.an⁻¹ dans la partie sud. Les températures varient entre 20 °C et 40 °C de mai à septembre et de 2 °C à 12 °C de janvier à mars. Les sujets choisis présentaient les symptômes de la maladie (jaunissement et défoliation). Le champignon isolé a été identifié en utilisant la clé d'identification proposée par Agrios [15], et en utilisant des primers spécifiques de pathotype défoliant et non défoliant pour l'identification moléculaire [14].

2.3. Mise en évidence de la production des sidérophores

La production des sidérophores a été mise en évidence par la technique de Pérez-Miranda *et al.* [16], sur le milieu Succinate-Agar (MS) (K₂HPO₄, 6 g) ; (KH₂PO₄, 3 g) ; (MgSO₄, 0,2 g) ; ((NH₄)₂SO₄, 1 g) ; Acide succinique ((C₄H₆O₆), 4 g) et le milieu B de King ((Peptone 20 g) ; (K₂HPO₄, 1,5 g) ; (MgSO₄, 1,5 g) ; (Glycérol 15 mL). Ces derniers sont préparés sans addition de sulfate de fer. Pour éliminer toute trace de fer, un volume de milieu de culture est mélangé avec un volume équivalent de 8-hydroxyquinoline à 3 % (préparé dans le chloroforme). Le mélange a été agité et conservé à 4 °C pendant une nuit. Ensuite la phase aqueuse a été récupérée après décantation. Pour éliminer les traces de 8-hydroxyquinoline, la phase récupérée a été lavée deux fois avec le chloroforme, le milieu de culture a été ensuite porté à ébullition sous

une hôte chimique pour éliminer les traces de chloroforme, ensuite puis les cultures ont été incubées pendant 18 h à 28 °C. L'observation des pigments jaunes verdâtres fluorescents été bien visible sous lumière ultraviolette ($\lambda=350$ nm) ou à l'œil nu ce qui confirme la production des sidérophores.

2.4. Evaluation quantitative de la production des sidérophores

L'évaluation de la production des sidérophores a été testée sur 5 milieux de culture liquide différents : KB ; PDB ; MS ; CAA et TSB. Chaque milieu a été distribué dans des tubes à essai stériles à raison de 15 mL par tube [17].

1 mL de la suspension bactérienne préparée préalablement à partir d'une culture bactérienne âgée de 18 à 24 h, a été ajouté. Les concentrations ont été ajustées à DO 0,3 à l'aide d'un spectrophotomètre à 540 nm, ensuite les cultures liquides ainsi préparées ont été incubées à 28 °C pendant 48h. Trois répétitions ont été retenues. Le témoin négatif était représenté par un milieu sans inoculum, alors que le témoin positif était représenté par la souche de référence *P. fluorescens* CHA0. La lecture a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les résultats ont été exprimés par la mesure de la concentration à deux longueurs d'onde : $\lambda = 600$ nm dont la lecture permettait l'évaluation de la masse bactérienne et une deuxième lecture avec une longueur d'onde $\lambda = 400$ nm, et ce, après centrifugation à une vitesse de 6000 tr.min⁻¹ pendant 20 minutes pour chaque culture. La production des sidérophores a été calculée selon le rapport de la densité optique (DO) décrit par Meyer et Abdallah [17] : $DO (\lambda = 400 \text{ nm}) / DO (\lambda = 600 \text{ nm})$

¹ Wilaya de Bouira : Circonscription administrative

2.5. Détection et identification des sidérophores

Les cultures bactériennes de 18 h cultivées sur le milieu succinate solide été inoculées dans des tubes à essai contenant le milieu succinate liquide. Après incubation, sous agitation à 120 tr.min⁻¹ pendant 48 h à 28 °C, les cultures obtenues ont été soumises à une centrifugation à 4000 tr.min⁻¹ à 4 °C pendant 15 min. La caractérisation des sidérophores a été effectuée à partir des surnageants concentrés par plusieurs méthodes.

2.5.1. Méthodes chimiques

Les sidérophores ont été divisés en trois groupes chimiques, les hydroxamates, les catécholates et les carboxylates ou une mixture des trois groupements. Des tests spécifiques ont été utilisés pour leurs révélations.

La détection des hydroxamates a été réalisée selon la méthode de Neilands [18]. La production des sidérophores a été quantifiée directement par la mesure de l'absorbance lors de la complexation de chlorure ferrique avec le fer. Ces ferri-sidérophores sont généralement de couleur rouge-orangée. La mesure d'absorbance a été effectuée à 450 nm.

La Détection des Catécholates a été effectuée selon le test d'Arnow [19]. Ce test est basé sur la réaction du groupement catécholate en présence de nitrate de molybdate qui donne une coloration jaune en milieu acide suivie en milieu basique d'un virage au rouge. L'apparition d'une couleur rose indique la présence des catéchols. Le dosage des catéchols s'est effectué par spectrophotométrie à $\lambda = 515$ nm.

Enfin, la détection des carboxylates a été réalisée selon la méthode de Shenker et al. [20] ; 1 mL de CuSO₄ (250 μ M) et 2 mL de tampon acétate (pH 4), sont additionnés à 1 mL de filtrat. Le complexe cuivreux formé présentait un maximum d'absorption entre 190 et 280 nm.

2.5.2. Détection de poids moléculaire des sidérophores

Les protéines sont quantifiées par la méthode de Bradford, et font l'objet d'une électrophorèse selon la méthode de Laemmli [21].

Les culots cellulaires ont été soumis à une sonication (Soniprep 150 MSE) à 10 μ M pendant 30 s (l'opération a été répétée 5 fois). Pour une purification

partielle des protéines solubles, les surnageants ont été récupérés après centrifugation (13 200 rpm/45 mn à 4 °C). La précipitation des protéines était alors effectuée par saturation à 50 % avec du sulfate d'ammonium, et une incubation pendant une nuit à 4 °C. Le précipité protéique a fait l'objet d'une dialyse (Vivaspin Concentrators de Millipore), par solubilisation dans 1 mL de tampon Tris-HCl 0,125 M (pH 6,8). La détection des bandes protéiques a été est révélée par la méthode conventionnelle au Bleu Brillant de Coomassie R-250 sur SDS-PAGE avec un gel à 5 % de polyacrylamide [22].

2.5.3. Détermination des groupements fonctionnels (La spectrophotométrie Infrarouge)

Les surnageants des cultures de *Pseudomonas* ont subi une évaporation sous vide à l'aide d'un rota-vapeur pour des investigations complémentaires concernant la détection des pigments responsable de la fluorescence des sidérophores par l'infrarouge (IR) [23].

Les spectres IR ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre JASCO FT /IR- 4100, dans la gamme 400 à 4000 cm⁻¹. La lecture des résultats a été effectuée à l'aide d'un ordinateur par affichages graphiques.

2.5.4. Mise en évidence de l'activité antifongique

L'évaluation qualitative de l'activité antifongique des sidérophores a été réalisée selon Backer et Cook [24], sur le milieu PDA. Cette méthode consiste à estimer l'inhibition de la croissance mycélienne d'un isolat de *Verticillium dahliae* (pathotype défoliant) par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

A partir d'une culture jeune et pure du champignon phytopathogène *Verticillium dahliae*, deux à trios fragments de la culture fongique ont été prélevés et placés à la périphérie des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA préalablementensemencé par les surnageants des différentes souches bactériennes. Les boîtes témoins ont été préparées par l'introduction des fragments des cultures de *V. dahliae* dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Les boîtes ont ensuite été placées pendant 4 h au réfrigérateur afin de stimuler la diffusion des sidérophores, puis à l'étuve à 28 °C

pendant 5 à 7 jours. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la méthode de Rappilly [25] :

$$I(\%) = [D_n/D_0] \times 100$$

D_n : Diamètre (cm) de la zone d'inhibition (halo) autour de la colonie fongique.

D_0 : Diamètre de la boîte de pétri en cm.

2.6. Effet de quelques facteurs limitants sur la synthèse des sidérophores

2.6.1. Effet de la concentration de fer :

La biosynthèse et la sécrétion des sidérophores sont fondamentalement régis par plusieurs facteurs dont la concentration en fer est la plus importante. Le fer sous forme de $FeCl_3$ a été additionné au milieu succinate, à différentes concentrations : 0 ; 50 ; 100 et 150 μM . Après inoculation des différentes souches bactériennes, une incubation à 28 °C pendant 48 h à 120 tr.mn⁻¹ a été faite. La lecture des résultats a été faite selon la méthode de Meyer et Abdellah [17].

2.6.2. Influence de pH

L'effet du pH (5, 7, 10) sur la production de sidérophores a été étudié dans le milieu succinate en ajustant le pH avant l'inoculation avec 1 N de HCl ou 1 N de NaOH en maintenant toutes les autres conditions constantes [26]. La lecture des résultats a été faite selon la méthode de Meyer et Abdellah [17].

2.6.3. Influence de type de sucre

Afin d'examiner l'effet de différentes sources de carbone sur la croissance et la production des sidérophores, chaque 100 mL de milieu SSM ont été complétés séparément avec 5 g chacun de glucose, maltose, et fructose. Après cela, nous avons procédé à la lecture des résultats selon la méthode de Meyer et Abdellah [17].

3. Résultats et discussion

3.1. Mises en évidence et évaluation de la production des sidérophores

Sur le milieu SSM et le milieu King B, toutes les souches ont émis un pigment fluorescent soluble dans

l'eau qui diffusait rapidement dans le milieu gélose (Figure 1).



Figure 1. Aspect macroscopique de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes cultivées sur le milieu SSM. A observé à l'œil nu, B observé sous lumière UV à 350 nm.

3.2. Evaluation quantitative des sidérophores

Les souches testées ont montré des intensités de production des sidérophores variables. Cela est liée à la nature de milieu de culture et à la diversité structurale du génome des espèces productrices.

D'après les résultats des tests effectués, l'ensemble des souches ont montré une capacité plus au moins importante sur la base de synthèse du pigment fluorescent diffusible (Tableau 2). Nous avons remarqué une croissance bactérienne (évaluée par la mesure de la densité optique) assez élevée dans tous les milieux de culture testés dont la DO dépasse 1, à l'exception de milieu PDL dont la DO était en moyenne de l'ordre de 0,7. Les souches étudiées ont montré des niveaux de synthèse de sidérophores appréciables sur milieu MS, mais leur croissance était relativement faible. Dans le milieu KB nous avons noté une production appréciable de sidérophores, avec une bonne croissance ainsi que pour le milieu CAA. Sur le milieu TSB, où la croissance était relativement importante, la production de sidérophores était pratiquement très faible. En fin, sur le milieu PDL, les deux paramètres étudiés, le taux de croissance et la production des sidérophores étaient faible.

La production maximale des sidérophores a été observée dans le milieu succinate (MS) avec des quantités de production allant de 35 $\mu g.L^{-1}$ enregistrée chez la souche de référence CHA0 et la souche locale T34, jusqu'à 46 $\mu g.L^{-1}$ chez la souche T23. Le milieu King B arrive en deuxième position avec le milieu CAA, le taux de production diffère d'une souche à l'autre selon la nature du milieu ; par exemple sur le

44 Détermination et caractérisation des sidérophores synthétisés par quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents phytobénéfiques

milieu B de King, une production maximale de 35,5 µg.L⁻¹ est observé chez la T34 suivi de la souche T49 et la souche de référence CHA0 avec une production moyenne de 13 µg.L⁻¹. Par contre sur le milieu CAA, la production maximale est observée chez la souche T33 (28,5 µg.L⁻¹) et la souche T23

(23 µg.L⁻¹), les souches T34 et la souche de référence CHA0 avec des productions de l'ordre de 16 et 15 µg.L⁻¹ respectivement. Les résultats sur les milieux PDB et TSB étaient relativement faibles, pour l'ensemble des souches ne dépassent pas 15 µg.mL⁻¹.

Tableau 2

Evaluation quantitative de la production des sidérophores par les différentes souches de *Pseudomonas* dans les trois milieux de culture testés (SSM, KB et PD).

Souches	Production de sidérophores µg.L ⁻¹									
	King B		MS		PDB		TSB		CAA	
	CB	PS	CB	PS	CB	PS	CB	PS	CB	PS
T23	1,445	19	1,134	45,925	1,782	10,37	0,754	11,222	1,126	22,666
T27	1,239	16,74	1,09	42,222	1,435	4,592	0,891	12,481	1,373	12,925
T33	1,248	9,777	1,661	43,888	1,492	7,63	0,821	9,37	1,432	28,481
T34	1,663	35,481	1,477	35,296	0,917	6,62	0,638	4,518	1,185	15,888
T49	1,32	13,37	1,087	36,37	1,78	14,74	0,798	11,925	1,74	14,333
CHA0	1,818	12,851	1,524	34,962	1,677	11,37	0,806	13,148	1,298	15,444

CB : Croissance bactérienne estimée à 540 nm ; PS : Production de sidérophores en µg.L⁻¹

3.3. Détection de la nature chimique des sidérophores produits

A la lumière des résultats obtenus, nous avons constaté que les souches étudiées produisent différents types de sidérophores.

Cinquante pourcent (50%) des souches testées produisent des sidérophores de types hydroxamates (3/6) à savoir la T27, la T49 et la souche de référence CHA0. Deux seulement, la T23 et la T33 produisent les sidérophores de type catécholates (2/6 isolats) alors qu'une seule souche la T34 est productrices de carboxylates (1/6) (Tableau 3).

Tableau 3

Détection de la nature chimique des sidérophores produits par les *Pseudomonas* spp

Isolats bactériens	Hydroxamates				Catécholates		Carboxylates
	Test de FeCl ₃ (à 2 %)		Test Csaky		Test d'Arnow		Test de Shenker
	Couleur	Pic à 420-450 nm	Couleur	Couleur	Pic à 515 nm	Couleur	Pic à 190-280 nm
T23	-	Nd	-	Rose	0.290	Nd	0.190
T23+	-	Nd	-	-	Nd	Nd	Nd
T27	Pourpre	0.493	Rouge	-	0.401	Nd	0.266
T27 ⁺	-	Nd	-	-	Nd	Nd	Nd
T33	-	0.331	-	Rose	0.350	Nd	0.193
T33 ⁺	-	Nd	-	-	-	Nd	Nd
T34	-	Nd	-	-	0.109	Jaune-vert*	0.103
T34 ⁺	-	Nd	-	-	Nd	Nd	Nd
T49	Pourpre	0.525	Rouge	-	0.505	Nd	0.500
T49 ⁺	-	Nd	-	-	Nd	Nd	Nd
CHA0	Pourpre	0.500	Rouge	-	0.493	Nd	0.465
CHA0 ⁺	-	Nd	-	-	Nd	Nd	Nd

+ : Culture en présence de FeCl₃. ; Nd : Non détectable ; - : Absence de coloration ; * : Témoin négatif bleu.

3.4. La détection des poids moléculaires des sidérophores

Lorsque les cellules microbiennes perçoivent une carence en fer, l'expression des gènes codant les enzymes nécessaires à la synthèse et au transport des sidérophores est activée. Le gel de migration a révélé la présence d'une seule bande avec une forte intensité, au même niveau presque que la souche de référence CHA0 qui possède des sidérophores d'un poids moléculaire aux alentours de 10^3 Da⁽²⁾, dans notre cas 950 Da (Figure 2).

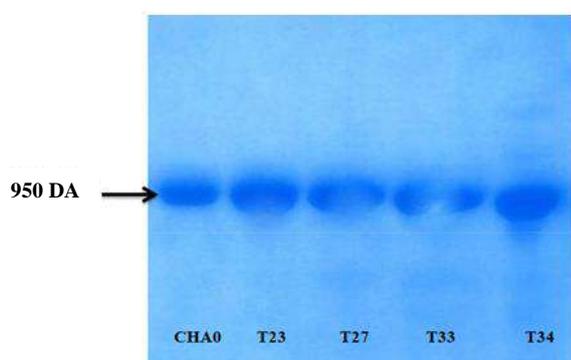


Figure 2. Le profil électrophorétique des sidérophores produits sur gel polyacrylamide par les souches de *Pseudomonas spp.* fluorescents. (CHA0 ; T23, T27, T33 et T34)

3.5. Détection des groupements fonctionnels (chromophores) des sidérophores

Les résultats obtenus ont été traités avec deux logiciels [Essential FTIR](#)® et [Specamp](#)©. Les figures ci-dessous montrent les différents groupements chromophores détectés chez les souches T23, T33, T27 et T34.

L'étude du spectre de la souche T23, révèle la présence de plusieurs bandes caractéristiques des groupements chromophores spécifiques des sidérophores : une bande fine au-delà de 980 cm^{-1} qui correspond à la liaison N-H ; une deuxième bande forte et fine entre 1046 à 1145 cm^{-1} qui correspond aux liaisons C-O et C=N ; et 3 bandes de forte intensité correspondant à la liaison C=C (cycle benzoïque) entre 1300 à 1480 cm^{-1} . Une bande très forte correspond à la liaison C=O entre 1570 à 1750 cm^{-1} et une autre bande moyenne et large de fonction OH libre entre 2900 et

3200 cm^{-1} . Ces deux bandes correspondent à l'acide carboxylique R-COOH, et la liaison C=O correspondant au groupe carbonyle, car elles sont confondues. Ce dernier donne une bande de vibration très légèrement plus haute en nombre d'onde que celle du groupe carboxylique. Une autre bande très large entre 3200 et 3600 cm^{-1} correspond au groupement OH de l'alcool R-OH.

L'étude du spectre de la souche T33 montre qu'il existe les mêmes bandes caractéristiques que l'extrait de la souche T23, mais on remarque de plus la présence d'une multiple bande très fine de C=C (aromatique) entre 1287 et 1576 cm^{-1} et une harmonique des vibrations du cycle benzoïque entre 1900 et 2300 cm^{-1} , et entre 2300 à 2400 cm^{-1} (Figures 3 et 4).

² Da (Dalton) équivaut 1 g/mol.

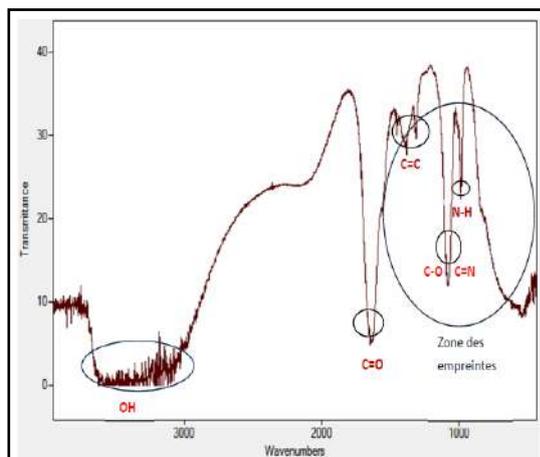


Figure 3. Spectre infrarouge de l'extrait de la souche T23

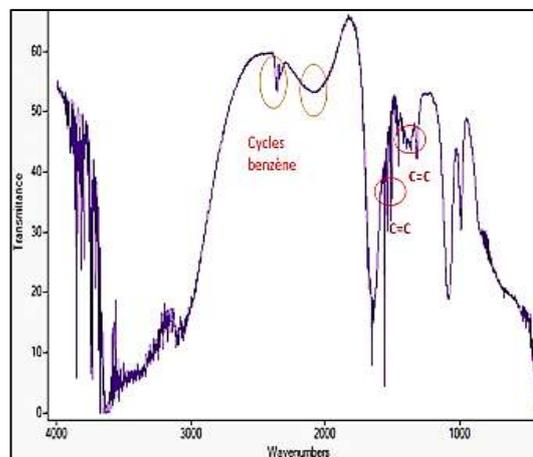


Figure 4. Spectre infrarouge de l'extrait de la souche T33

Le spectre infrarouge de la souche T27 est le même que celui de la souche T33, les mêmes bandes d'absorbance sont affichées avec une intensité qui diffère plus ou moins. Nous avons remarqué la présence d'un cycle benzoïque fonctionnel et caractéristique très large, avec une haute absorbance. Ce cycle se situe à une longueur d'onde entre 1950 et 2300 cm^{-1} . Dans le

spectre de la souche T34, la bande de liaison C=O de groupe carbonyle (cercle rouge) apparaît très claire que celle de groupement carboxyle (cercle vert) se situant entre 1500 et 1586 cm^{-1} . Les autres bandes sont les mêmes que celles des autres graphes, il n'y'a que l'intensité qui est différente (Figures 5 et 6).

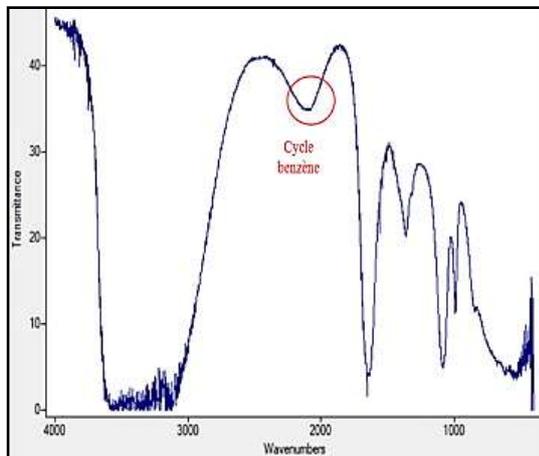


Figure 6. Spectre infrarouge de l'extrait de la souche T34

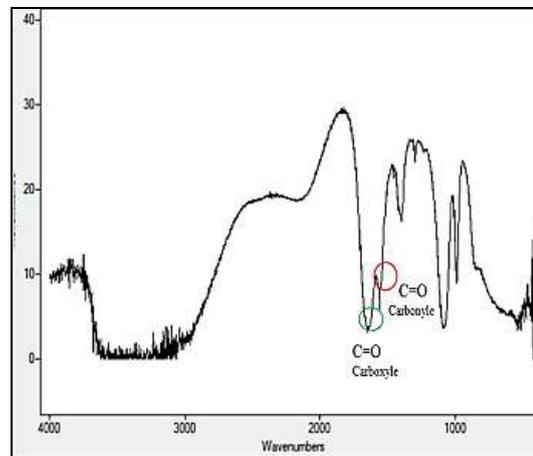


Figure 5. Spectre infrarouge de l'extrait de la souche T27

4. Résultats de l'activité antifongique

Les surnageants des cultures des *Pseudomonas spp.* productrices de sidérophores ont montré des activités

antagonistes variables envers le champignon testé (Figure 7).

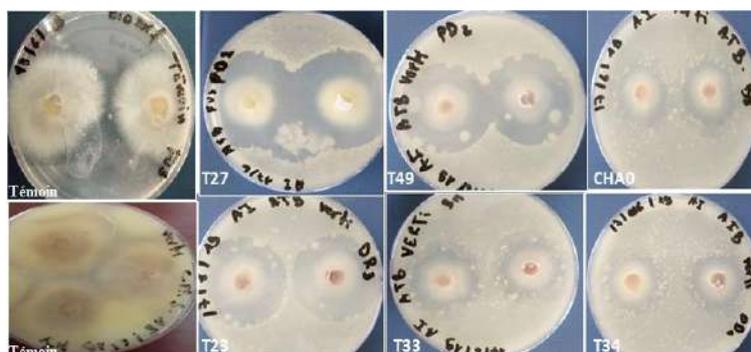


Figure 7. Photos montrant l'activité antagoniste des surnageants des cultures de *Pseudomonas* sur *V. dahliae*

Après 5 jours d'incubation, le sidérophore de la souche T27 a montré un taux d'inhibition important de 47,9 %, suivi de la souche T49 avec un taux de 45,3 %. Les souches T23 et T33 viennent en deuxième position avec des taux d'inhibition de 32,3 et 30,8 % respectivement. La souche T34 a montré le taux d'inhibition le plus faible (25,58 %). La souche de référence CHA0 a montré un taux d'inhibition de 28 %. La zone d'inhibition montre la capacité des *Pseudomonas spp.* fluorescents et ces sidérophores à inhiber le champignon phytopathogène *V. dahliae* (Figure 8).

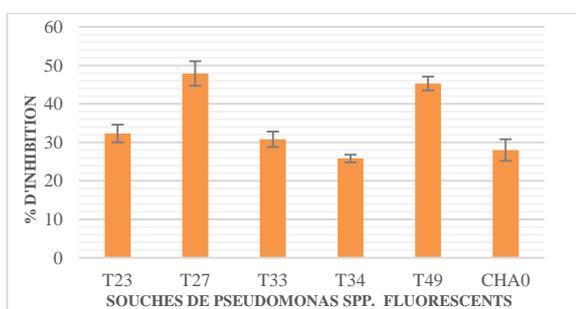


Figure 8. Effet des surnageant de cultures des *Pseudomonas spp* fluorescents sur la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae*

5. Effets de différentes conditions de culture sur la production de sidérophores

L'étude des facteurs influençant les conditions de biosynthèse des sidérophores en milieu liquide a été réalisée dans le but d'optimiser leur production. Différents paramètres ont été étudiés tels que le pH (5, 7, 10), la concentration de fer dans le milieu (0, 50, 100, 150 μM), et la source de carbone (de glucose, maltose, fructose).

L'incorporation des ions Fe^{3+} , apportés sous forme de FeCl_3 , a influencé la production de sidérophores chez les souches étudiées. A croissances relativement égales de souches dans le milieu MS et MS+ FeCl_3 , la synthèse des sidérophores a nettement régressé dans ce dernier (Tableau 3), de même que le type de sidérophores (Tableau 4).

Tableau 4
Effet de la concentration de fer sur la production des sidérophores

Souches	Production de sidérophores $\mu\text{g.L}^{-1}$			
	[FeCl3] = 0 μM	[FeCl3] = 50 μM	[FeCl3] = 100 μM	[FeCl3] = 150 μM
T23	1,240 ^a (45,925) ^b	0,371 (23,629)	0,965 (13,777)	1,359 (13,555)
T27	1,140 (42,222)	0,458 (19,629)	0,946 (16,962)	1,126 (13,074)
T33	1,185 (43,888)	0,321 (23,740)	0,613 (11,888)	1,682 (9,629)
T34	0,874 (35,296)	0,404 (31,407)	0,796 (14,962)	1,522 (8,481)
T49	0,982 (36,370)	0,442 (26,185)	1,241 (16,370)	1,753 (15,703)
CHA0	0,944 (34,962)	0,557 (31,111)	0,922 (20,629)	1,827 (8,555)

a : croissance bactérienne à 540 nm ; b : quantité de sidérophores en $\mu\text{g.L}^{-1}$

Le pH joue un rôle important dans la solubilité et la disponibilité du fer dans le milieu. Diverses valeurs du pH ont été prises. On a remarqué que les pH acide (4) et alcalin (10) influençaient largement la synthèse des sidérophores. Le rendement maximum en sidérophore a été obtenu à pH 7 avec une production de 46 $\mu\text{g.L}^{-1}$ enregistrée par la souche T23 (Tableau 5).

Les résultats montrent que tout apport en fer dans le milieu de culture diminue la quantité des sidérophores produite, une concentration supérieure ou égale à 150 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ entraîne presque une absence de sécrétion de sidérophores. En parallèle, une absorbance maximale (1,827) pour la souche CHA0 a été détectée à une longueur d'onde de 540 nm à une concentration de 150 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ avec une production de sidérophores qui ne dépasse pas 8,55 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Ceci explique le fait que fer soit un facteur limitant de la synthèse des sidérophores mais il n'influence nullement la croissance bactérienne.

Tableau 5
Effet de pH sur la production des sidérophores

Souches	Quantité des sidérophores ($\mu\text{g.L}^{-1}$)		
	pH = 5	pH = 7	pH = 10
T23	17,222	45,925	20,407
T27	14,851	42,222	15,370
T33	12,925	43,888	27,888
T34	13,851	35,296	27,777
T49	9,888	36,370	16,222
CHA0	16,185	34,962	16,518

L'effet de sucres utilisés a montré une bonne multiplication sur le milieu MS additionné de fructose, suivi en deuxième position par le glucose ensuite du maltose. Ceci peut être expliqué par l'assimilation rapide de fructose et glucose comme source de carbone (Tableau 6).

Tableau 6
Effet de la nature de sucre sur la quantité de sidérophore produite en ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

Souche/Sucre	Quantité des sidérophores ($\mu\text{g.L}^{-1}$)		
	Maltose	Fructose	glucose
T23	0,532 ^a (12.592) ^b	0,573 (32,148)	0,320 (17,296)
T27	0,615 (28.625)	0,638 (17,518)	0,689 (14,148)
T33	0,462 (11.518)	0,591 (19,518)	0,751 (10,222)
T34	1,069 (25.222)	1,582 (40,518)	1,004 (17,259)
T49	0,438 (16,250)	0,373 (16,222)	0,573 (20,037)
CHA0	0,522 (9.888)	0,419 (13.925)	0,470 (15,518)

a : croissance bactérienne à 540nm ; b : quantité de sidérophores en $\mu\text{g.L}^{-1}$

6. Discussion

Dans des conditions limitant en fer, les microorganismes ont développé des systèmes d'acquisitions du fer spécifiques et performants pour assurer leur survie et de s'adapter à leur environnement, il s'agit de la sécrétion de sidérophores, qui ont une haute affinité pour le (Fe^{+3}). Puisque la synthèse de sidérophores est réglée par le fer et souvent influencée par d'autres facteurs environnementaux, les conditions de croissance sont importantes pour maximiser leurs productions. La meilleure synthèse de sidérophores a été révélée dans les milieux SM et KB, considérés comme carencés en fer, à travers la production d'un pigment fluorescent diffusible dans le milieu.

La couleur de la fluorescence émise sous l'influence d'une lampe à rayons ultraviolets pouvait varier grandement (bleu, vert, jaune), non seulement en fonction de la souche, mais aussi selon l'âge de la culture. On conçoit donc que la variabilité de la couleur de la fluorescence ne dépend pas seulement de la structure moléculaire des pigments émis, mais aussi de l'environnement dans lequel ils sont produits. Néanmoins, une étude structurale de ces pigments pourrait être très utile en tant que critère taxonomique [11].

La totalité des souches sont sélectionnées sur la base de la synthèse d'un pigment fluorescent diffusible sur le milieu succinate (SM). Dans le but de détecter ce type

de composés, plusieurs techniques basées sur les propriétés chimiques ont été utilisées. Tous les isolats produisent des hydroxamates révélés par le test de FeCl_3 et le test de Csaky, alors que la production de catécholates, de carboxylates n'a été observée que chez les isolats T23, T33 et T34. Il existe d'autres types de sidérophores non fluorescents, qui jouent un rôle dans la survie des bactéries tels que la pyocheline et pseudomanine chez *P. aeruginosa* [3, 27-30].

La synthèse de sidérophores n'a été révélée en forte quantité que dans les milieux MS, KB et CAA, considérés comme carencés en fer, à travers la production d'un pigment fluorescent diffusible dans le milieu. Le succinate est employé par le groupe fluorescent des *Pseudomonas* plus efficacement dans la synthèse de sidérophore que dans la croissance, vraisemblablement due à l'influence du succinate dans la synthèse de ce métabolite. Cette proposition est basée sur la structure de pyoverdine, en laquelle la partie 3-amino du chromophore est substitué avec divers groupes d'acyle dérivés du succinate, malate ou α -cétoglutarate [31, 32].

Le milieu King B est considéré comme sélectif pour les *Pseudomonas spp.* fluorescents [13]. Ce constat a été aussi rapporté par Meyer et Abdallah [17]. Les milieux synthétiques sont mieux conseillés pour la production de sidérophores afin de pouvoir éliminer toute source de fer.

Sur le milieu PDL et TSB la production des sidérophores était faible dû à la nature des milieux qui est semi synthétique contenant des concentrations variables en fer dans leurs composés naturels ; la pomme de terre pour le milieu PD et la peptone de soja pour le milieu TSB. De plus sur le milieu PDL, la croissance bactérienne (mesurée en densité optique) était en moyenne de l'ordre de 0,7 ce qui peut être expliqué par le fait que le milieu PDL contient une quantité limitée en glucose, et que la source majoritaire de carbone qui est l'amidon soit assez complexe et donc la bactérie doit synthétiser de l'amylase pour qu'elle puisse se développer sur ce milieu.

Les souches du groupe *P. fluorescens-putida* utilisaient plus les acides organiques (66 %), un peu moins les acides aminés (44 %) et peu les sucres (seulement 28 % des carbohydrates testés étaient utilisés) [33].

La croissance de *Pseudomonas spp.* fluorescents dans le milieu liquide au succinate (qui n'est pas supplémenté par le fer) a été accompagnée de l'excrétion du sidérophore qui a cessé pendant que la culture entrait dans la phase stationnaire. Aparna et al. [34] ont indiqué que la production de sidérophore par *P. fluorescens* commence après 6 heures de croissance et atteint la productivité maximum (96 %) après 24 h.

L'addition de Fe^{3+} au milieu de culture a presque doublé la croissance bactérienne mais la production de sidérophores est réprimée. Nos résultats sont similaires à ceux de Meyer et Abdallah [17] qui ont testé l'effet du fer sur la production de pyoverdine produite par *P. fluorescens*. Quand Fe^{3+} est inférieur à 200 μM , il y avait un rapport inverse entre la teneur en fer de milieu et la quantité de pigments synthétisés.

Un autre paramètre a été étudié, il s'agit du pH qui joue un rôle primordial dans la synthèse des sidérophores. Nos résultats ont montré que la variation de pH et l'apport ionique peuvent influencer la synthèse *in vitro* des sidérophores chez les souches de *Pseudomonas* testées.

La production de sidérophores est retardée lorsque le milieu est à pH = 5. En effet, l'acidification du milieu rend le fer plus soluble dans l'eau et donc plus facilement assimilable par la bactérie qu'en milieu basique. Ainsi, en milieu acide le stress ferrique auquel a été soumis *Pseudomonas spp.* fluorescents a diminué, sachant que les pH acides sont défavorables à la croissance bactérienne. Par contre, en milieu basique (pH = 10), où le fer ferrique est moins soluble, *Pseudomonas spp.* fluorescents subit un stress ferrique plus important, mais la croissance bactérienne qui préfère le pH neutre diminue ce qui influence le taux de production des sidérophores. L'optimum de pH pour la production de sidérophore s'est avéré égal à 7,0 dans lequel les bactéries se sont développées mieux et le fer se présente en forme insoluble et n'étaient pas donc disponibles aux bactéries [26].

Concernant le choix de la meilleure source de carbone pour favoriser la production des sidérophores, une bonne multiplication est observée sur le milieu MS additionné de fructose, suivi de glucose et en dernière position le maltose.

Nos résultats sont similaires avec celles de Sayyed et al. [35] ; Tailor et Joshi [36] et Pratama et al. [37] qui ont utilisés différents sucres à savoir, le glucose, le

saccharose, le mannitol, le lactose et la xylose pour tester le taux de production des sidérophores. Ils ont trouvé que les sucres utilisés ont un effet négatif sur la stimulation de la production de sidérophores, à l'exemple du glucose.

Habituellement, le glucose est oxydé en gluconate et 2-cétogluconate avant son entrée dans la cellule qui va entraîner une baisse de pH du milieu, et comme conséquence une diminution de la production des sidérophores. Par contre le fructose est assimilé par les *pseudomonas* en le transformant en fructose-6-P puis en fructose-1,6-biP. Alors que le maltose n'est jamais utilisé par les *Pseudomonas*, il n'a aucune influence ni sur la multiplication ni sur la production de sidérophores [5, 38].

L'activité antifongique exercée par les sidérophores produites par les différentes souches de *Pseudomonas* fluorescents à l'encontre de *Verticillium dahliae* a montré des taux d'inhibition qui s'étendent de 25 à 48 %. La variabilité dans les taux d'inhibition observée entre les souches, peut être expliquée par la quantité et la nature des sidérophores produites. Également le génome de la souche bactérienne peut influencer la réponse des souches envers un stress ferrique, les souches T27 et T49 identifiées comme étant *Pseudomonas fluorescens*, ont montré les meilleurs taux d'inhibition de l'ordre de 47,9 et 45,3 % respectivement. Les souches T23 et T33 viennent en deuxième position avec des taux d'inhibition 32,3 et 30,8 % respectivement. L'identification moléculaire de ces souches les a affiliées à l'espèce *Pseudomonas plecoglossicida* (T23) et *Pseudomonas chlororaphis* (T33). La souche T34 a montré le taux d'inhibition le plus faible (25,58 %), affiliée à l'espèce *Pseudomonas putida*. La souche de référence CHA0 a montré un taux d'inhibition de 28 %. Ceci dit qu'à l'exception de la souche T34, l'activité antifongique des souches autochtones de *Pseudomonas* dépassent largement celle de la souche de référence.

Les résultats obtenus sont similaires avec ceux de hernández-León [39], qui ont trouvé que le degré d'inhibition varié selon l'organisme étudié et le milieu utilisé. Ils ont utilisé deux milieux KB et PDA, ainsi que plusieurs microorganismes pathogènes citons *A. flavus* ; *A. niger* ; *A. oryzae* ; *F. oxysporum* et *S. rolfii* et ont trouvé que l'inhibition est plus importante sur milieu KB et ont conclu que ça pouvait être due au

niveau de diffusion de sidérophore/surnageant dans le milieu, mais Sayyed *et al.* [35] ont trouvé que la culture bactérienne est avérée plus efficace pour l'inhibition des champignons pathogènes que le surnageant, ce qui indique le rôle d'autres métabolites secondaires (antibiotiques et/ou toxines) dans l'inhibition comme le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), l'acide phénazine carboxylique (PCA), la pyrrolnitrine (PRN) et la pyolutéorine (PLT) qui sont probablement reliées à cette inhibition. Benjamin *et al.* [40] ont montré le rôle des sidérophores dans l'inhibition de la croissance de champignon phytopathogène *Alternaria alternata*.

Ces résultats sont prometteurs pour le développement de sidérophore ou les pseudomonads fluorescents comme agent de biocontrôle

La sensibilité de l'électrophorèse, nous a permis de confirmer la présence en sidérophores dans les surnageants des cultures bactériennes. La révélation par la solution de Blue de Coomassie, a permis d'obtenir des spots de mobilité relative similaire. L'intensité de cette couleur était variable d'un isolat à un autre.

Lorsque les cellules microbiennes perçoivent une carence en fer, l'expression des gènes codant les enzymes nécessaires à la synthèse et au transport des sidérophores est activée [41]. Sur notre gel on a révélé la présence d'une seule bande avec une forte intensité, au même niveau presque que la souche de référence CHA0 qui possède des sidérophores d'un poids moléculaire aux alentours de 1 kDa, dans notre cas 950 Da, ce qui est en accord avec la littérature qui confirme que les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire, 400 à 1 kDa avec une forte affinité pour le fer Fe^{3+} et permettent la nutrition en fer des microorganismes [41].

Les cinq surnageants des souches utilisées T23, T27, T33, T34 et T49 correspondent respectivement aux espèces *Pseudomonas plecoglossicida* , *Pseudomonas fluorescens* bv III, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas putida*, et *Pseudomonas fluorescens* bv II, *Pseudomonas fluorescens* bv I sont des espèces productrices des sidérophores de type pyoverdines (Pseudobactine). La fluorescence remarquable de ces derniers composés résulte d'un chromophore dans lequel est dérivé de 2,3-diamino-6,7-dihydroxy-quinoline, le composé est très riche en groupement OH, NH, cycles benzoïques, acide carboxylique COOH. Nous concluons que les résultats obtenus par

l'infrarouge de ces quatre extraits sont en accord avec la structure de ce composé, ce qui confirme la synthèse de ces souches aux sidérophores type hydroxamates et plus précisément la classe de pyoverdine.

7. Conclusion

Notre étude s'est basée sur la détection et l'identification d'un métabolite secondaire, les sidérophores, synthétisés par des souches de *Pseudomonas spp.* fluorescents isolées à partir de sol rhizosphérique de l'olivier ainsi que leurs capacités d'assimiler le fer dans les conditions de carence.

La meilleure synthèse de sidérophores a été révélée dans les milieux SSM, KB et CAA, considérés comme carencés en fer, à travers la production d'un pigment fluorescent diffusible dans le milieu. La variabilité de la couleur de la fluorescence ne dépend pas seulement de la structure moléculaire des pigments émis, mais aussi de l'environnement dans lequel ils sont produits.

Les pyoverdines produites par les espèces de *Pseudomonas* contiennent trois groupes fonctionnels (Hydroxamate, Catécholates et Carboxylate).

La sensibilité de l'électrophorèse, nous a permis de confirmer la présence des sidérophores dans les surnageants des cultures bactériennes. La révélation par la solution de Blue de Coomassie, a permis d'obtenir des spots de mobilité relativement similaire. L'intensité de cette couleur est variable d'un isolat à un autre, l'intensité la plus élevée a été observée chez les souches T23 et T34 et la souche de référence CHA0.

L'activité antifongique observée chez les souches autochtones de *Pseudomonas* est importante donc ces souches peuvent trouver leurs places dans le domaine de la lutte biologique.

Références

- [1] Chen J.W., Wang B.X., Lu Y.J., Guo Y.Q., Sun J.D., Wei B., Zhang H.W. and Wang h., Quorum sensing inhibitors from marine microorganisms and their synthetic derivatives. *Mar. Drugs* 17 (2) (2019): 80. <https://doi.org/10.3390/md17020080>
- [2] Budzikiewicz H., Siderophores from bacteria and from fungi. In Cornelis P. and Andrews C. 2010 (Eds), Iron uptake and homeostasis in microorganisms. Great Britain. (2010) 1-5.
- [3] Neilands. Siderophores: Structure and Function of Microbial Iron Transport Compounds. *J. Biol. Chem.* vol. 270 (45) (1995): 26723–26726. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.45.26723>
- [4] Renshaw J., Robson G., Trinci A., Wiebe M., Livens F., Collison D. And Taylor R., Fungal Siderophores: Structures, Functions and Applications. *Mycological Research*, 106 (10) (2002) 1123-1142. <https://doi.org/10.1017/S0953756202006548>
- [5] Lemanceau A., Robin S. and Mazurier G. Vansuyt. Implication of Pyoverdines in the Interactions of Fluorescent *Pseudomonads* with Soil Microflora and Plant in the Rhizosphere. *Soil Biology*. 12 (2007): 166. https://doi.org/10.1007/978-3-540-71160-5_8
- [6] Raines D.J., Olga V.M., Elena V.B., Johan P.T., Keith S.W. and A.K. Duhme-Klair. Bacteria in an intense competition for iron: Key component of the *Campylobacter jejuni* iron uptake system scavenges enterobactin hydrolysis product. *PNAS*. Vol.113 (21) (2016): 5850–5855. <https://doi.org/10.1073/pnas.1520829113>.
- [7] Patel D., C. Xu, Nagarajan S., Liu Z., Hemphill WO, Shi R.R., Uversky VN., Caldwell GA., Caldwell KA. and Witt SN., Alpha-synuclein inhibits Snx3-retromer-mediated retrograde recycling of iron transporters in *S. cerevisiae* and *C. elegans* models of Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 27(9) (2018):1514-1532. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy059>
- [8] Leonard Fresenborg S., Graf J., Schätzle H. and Schleiff E., Iron homeostasis of cyanobacteria: advancements in siderophores and metal transporters. In book: *Advances in Cyanobacterial Biology*. 2020): 85-117. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819311-2.00007-3>
- [9] Vaulont S. and Schalk I., Rôles des sidérophores bactériens et de mammifères dans les interactions hôtes-pathogènes, *Med Sci (Paris)*, 31 (8-9) (2015) : 756–763. <https://doi.org/10.1051/medsci/20153108014>
- [10] Verma P., Nath Yadav A., Kumar V., Pratap Singh D. and Kumar Saxena A., Beneficial Plant-Microbes Interactions: Biodiversity Microbes from Diverse Extreme Environments and Its Impact for Crop Improvement. *Microbial interactions and Agro-Ecological impacts*. 2 (2017) : 543-578. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_22
- [11] Digat et Gardan. Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *P. putida*. 17 (4) (1987): 559-568. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1987.tb00075.x>
- [12] has H., Fungal siderophore metabolism with a focus on *Aspergillus fumigatus*. *Nat. Prod. Rep.* 31 (2014): 1266–1276. <https://doi.org/10.1039/C4NP00071D>
- [13] King E.O., Wark M.K. and Raney D.E., Two simple media for demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and chemical medicine*, 44 (2) (1954): 301- 307.
- [14] Benzina F., Sahir-Halouane F. and Hamed K., Algerian isolates of fluorescent *Pseudomonas spp.* as potential biological control against wilt pathogen (*Verticillium dahliae*). *Plant Omics journal* 9 (1) (2016) 48 -60. https://www.pomics.com/benzina_9_1_2016_48_60.pdf
- [15] Agrios G N., *Plant Pathology*. 5^{ème} Edition. Elsevier Academic Press. (2005) 903p.
- [16] Pérez-Miranda S., Cabirol N., George-Téllez R., Zamudio-Rivera L. S. and Fernández F.J., O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *J. Microbiol. Methods*. 70 (2007): 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.03.023>
- [17] Meyer J.M. and Abdallah M.A., The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J. Gen. Microbiol.* 107(1978): 319-328. <https://doi.org/10.1099/00221287-107-2-319>
- [18] Neilands J. B., Iron absorption and transport in microorganisms. *Annu Rev Nutr.* 1(1981): 27 –46. [electronic version]] available on URL : <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.nu.01.070181.000331>
- [19] Arnow L.E., Colorimetric determination of the components of 3,4-dihydroxyphenylalanine tyrosine mixtures. *J. Biol. Chem.* 118 (1937): 531. Download available on <https://scholar.google.com/>

- [20] Shenker M., Oliver I., Helmann M., Hadar Y. and Chen Y., Utilization tomatoes of iron mediated by siderophore produced by *Rhizopus arrhizus*. *J. Plant Nutr.* 15 (1992): 2173–2182. <https://doi.org/10.1080/01904169209364466>
- [21] Laemmli U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227 (1970): 680–683. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- [22] Blum U., Weed S.B. and Dalton B.R., Influence of various soil factors on the effects of ferulic acid on leaf expansion of cucumber seedlings. *Plant Soil.* 98 (1987):111-130. <https://doi.org/10.1007/BF02381732>
- [23] Maier G.P. and Butler A., Siderophores and mussel foot proteins: the role of catechol, cations and metal coordination in surface adhesion. *J. Biol. Inorg. Chem.* 22 (2017) 739–749. <https://doi.org/10.1007/s00775-017-1451-6>.
- [24] Bakker P.A.H.M., Van Peer R. and Schippers B., Specificity of siderophore receptors and biocontrol by *Pseudomonas spp.*. In: *Biological control of soil-borne plant pathogens*, Hornby D. (ed). CAB International, Wallingford. (1990) 131–142.
- [25] Rappily F., Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Inst. National de le Recherche Agronomique-* (1968)101 p.
- [26] Bholay A. D., Jadhav Priyanka U., Borkhataria B. V., Mayuri and Dhalkari V., Fluorescent *Pseudomonads* as Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Their Siderophore genesis, *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences.* 3 (1) (2012) : 27-32. Version électronique disponible sur URL : <http://www.iosrjournals.org/iosr-jpbs/pages/v3i1.html>
- [27] Bultreys A., Gheysen I., Wathelet B., Maraitte H. and de Hoffmann E., high-performance liquid chromatography analyses of pyoverdine siderophores differentiate among phytopathogenic fluorescent *Pseudomonas* species. *Applied and Environmental Microbiology.* 69 (2) (2003) : 1143–1153. Version électronique disponible sur URL : <https://aem.asm.org/content/69/2/1143>
- [28] Das S., Sreeram P A. and Raychaudhuri A K., A method to quantitatively evaluate the hamaker constant using the jump-into-contact effect in atomic force microscopy. *Nanotechnology.* 18 (3) (2007): 5501. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/3/035501>
- [29] Mezaache-Aichour S., Haichour N., Guechi A. and Zerroug M., Telluric *Pseudomonads* metabolites involved in the antagonism to phytopathogenic fungi. *Global J Biol Agri Heath Sci.*3(1) (2014) :71-77. Version électronique disponible sur URL : <https://www.longdom.org/archive/gjbaahs-volume-3-issue-1-year-2014.html>
- [30] Hofmann M., Heine T., Schulz V., Hofmann S. and Tischler D., Draft genomes and initial characterization of siderophore producing pseudomonads isolated from mine dump and mine drainage. *Biotechnology reports.* 25 (2020) (e00403). <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00403>
- [31] D. de Villegas P., Villa A. Frías. Evaluation of the siderophores production by *Pseudomonas aeruginosa*. *PSS.* 44 (3-4) (2002) : 112-117. Version électronique disponible sur URL : https://www.medigraphic.com/pdfs/lamico/mi-2002/mi02-3_4b.pdf
- [32] Cézard C., Farvacques N. and Sonnet P., Chemistry and biology of pyoverdines, *Pseudomonas* primary siderophores. *Curr Med Chem.* 22 (2) (2015): 165–186. <https://doi.org/10.2174/0929867321666141011194624>
- [33] Bossis E., Lemanceau P., Latour X. and Gardan L., The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie* 20 (1) (2000): 51-63. <https://doi.org/10.1051/agro:2000112>
- [34] Tailor A.J., Joshi B.H., Bhakta C.G. and Vidyanagar G., Characterization and optimization of siderophore production from *Pseudomonas fluorescens* strain isolated from sugarcane rhizosphere. *J Environ Res Dev.* 6 (3A) (2012): 688-694.
- [35] Sayyed R.Z., Badgujar M. D., Sonawane H. M., Mhaske M. M. and Chincholkar S. B., Production of microbial iron chelators (siderophores) by fluorescent pseudomonads. *Indian Journal of Biotechnology.* 4 (2005): 484-490. <http://hdl.handle.net/123456789/5776>
- [36] Pratama I., Advinda L. and Fifendy M., The influence of carbon sources on the production of siderophores from the fluorescent pseudomonad bacteria. *Bioscience* 2 (2) (2018): 50-57. <https://doi.org/10.24036/020182210406-0-00>
- [37] Malcom G. P., The Role of Iron and Siderophores in Infection, and the Development of Siderophore Antibiotics. *Clinical Infectious Diseases.* 69 (Suppl. 7) (2019): 529-537. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz825>
- [38] Hernández-León R., Rojas-Solís D., Contreras-Pérez M., M. Orozco-Mosqueda del. C., Macías-Rodríguez L.I. and Reyes-de la Cruz H., Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biol Control,* 81(2015): 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.11.011>
- [39] Voß B., Kirschhöfer F., Brenner-Weiß G. and Fische R. *Alternaria alternata* uses two siderophore systems for iron acquisition. *Scientific Reports.* 10(2019):3587. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60468-7>.
- [40] Saha M., Sarkar S., Sarkar B., Sharma B., Bhattacharjee S. and Tribedi P., Microbial siderophores and their potential applications: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 23(2016) 3984–3999.
- [41] Berdja R., Abderrahmane O., Benchabane M. et Ammad F., Analyse de sensibilité d'un modèle de chélation de fer appliquée à une souche phytobénéfiques de *Pseudomonas fluorescens*. *Agrobiologia.* 8 (1) (2019) : 765-774. Disponible sur URL : <http://agrobiologia.net/online/?s=Berdja>

Soumis le: 23/05/2020

Forme révisée acceptée le: 29/07/2020

Correspondant: nawel.belalia@yahoo.fr



Revue
Nature et Technologie

<http://www.univ-chlef.dz/revuenatec>

ISSN : 1112-9778 – EISSN : 2437-0312

Évaluation de la diversité agro-morphologique des accessions de maïs (*Zea mays* L.) originaires des Oasis Sahariennes

Nawel BELALIA^{a,b,*}, Majda KHELIFI-SLAOUI^a, Lakhdar KHELIFI^a

^a École Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA), Avenue Hassan Badi - 2 Rue des Frères OUDEK El Harrach, Algérie

^b Université M'Hamed Bougara de Boumerdès, Avenue de l'indépendance, Boumerdès 35 000, Algérie

Résumé

En vue de valoriser le germoplasme du maïs autochtone algérien, un ensemble de 60 accessions originaires des Oasis Sahariennes a été caractérisé à l'aide de 17 descripteurs quantitatifs. L'analyse de la variance a montré une différence significative ($p < 0.05$) entre les accessions pour huit caractères quantitatifs qui ont expliqué la plus grande part de la variabilité observée. La comparaison des moyennes par le test LSD (Least significant difference) au seuil de 5 % a permis de répartir les accessions en plusieurs groupes homogènes. L'analyse en composante principale (ACP) a permis de connaître la relation qui existe entre les descripteurs considérés et de faire ressortir ceux qui discriminent le plus nos accessions de maïs. L'ACP a réparti les accessions de maïs sahariennes, indépendamment de leur origine géographique, en trois groupes contrastés identiques à ceux identifiés suite à une classification ascendante hiérarchique (CAH). La caractérisation de l'ensemble de la collection a révélé une grande variabilité phénotypique au sein des accessions et a fait apparaître celles ayant des traits d'intérêt agronomique. Les accessions les plus précoces, adaptées à des saisons de pluie courte, fourniraient aux sélectionneurs un outil simple pour échapper au stress hydrique. De même, les génotypes caractérisés par de courts ASI (Anthesis Silking Interval) peuvent également servir pour la tolérance à la sécheresse.

Mots-clefs : *Zea mays* L.; Oasis Sahariennes; Descripteurs agro-morphologiques

Evaluation of the agro-morphological diversity of maize (*Zea mays* L.) accessions originating from Saharan oases

Abstract

In order to evaluate the native Algerian maize germplasm, 60 accessions originating from the South of Algeria were characterized using 17 quantitative descriptors. The analysis of variance showed a significant difference ($p < 0.05$) between the accessions for eight quantitative characters which explained most of the observed variability. The comparison of means by the LSD (Least significant difference) test at 5 % level of significance allowed us to separate the 60 accessions into several homogeneous groups. The principal component analysis (PCA) allowed us to know the relationship between the descriptors considered and to bring out those which discriminate our accessions of maize. The PCA partitioned the Saharan accessions, regardless of their geographic origin, into three contrasting groups identical to those identified following an ascending hierarchical classification (CAH). The characterization of the entire collection revealed a great phenotypic variability within the accessions and showed those that have traits of agronomic interest. The earliest accessions, adapted to short rainy seasons, would provide breeders with a simple tool to escape water stress. Likewise, genotypes characterized by short ASI (Anthesis Silking Interval) can also be used for drought tolerance.

Keywords: *Zea mays* L.; Saharan Oases; Agro-morphological descriptors

1. Introduction

Le maïs (*Zea mays* L.) est l'une des espèces cultivées les plus diversifiées [1]. Sa grande diversité, qui résulte d'une longue période d'amélioration

pratiquée par les amérindiens [2], a fortement contribué à son adaptation relativement rapide à d'autres continents [3]. Son introduction au continent africain s'est effectuée au sixième siècle [4], sa culture s'est étendue aux quatre coins du continent en une période

courte de 500 ans ; il est maintenant la culture céréalière la plus importante [5]. En Algérie, la culture du maïs remonte au 16^{ème} siècle [6] suite à son introduction par les Arabes et les Maures [5]. Après sa culture dans les Oasis Sahariennes pendant des siècles [7], il s'est adapté aux conditions extrêmes qui caractérisent le climat Saharien et qui sont favorables à la sélection de gènes d'intérêt [8].

Le maïs fait partie des céréales et des cultures fourragères qui constituent le patrimoine génétique du Sahara algérien, et sont, par conséquent, considérées comme propre à la région [9]. Ce germoplasme autochtone mérite donc d'être évalué et conservé en vue d'être utilisé dans les programmes d'amélioration du maïs. En effet, toute stratégie d'amélioration ou de gestion des ressources génétiques nécessite la description et la mesure préalable de la diversité de ces ressources [10]. La caractérisation morphologique constitue la première étape incontournable pour l'évaluation, la description et la classification du germoplasme du maïs [11,12]. Elle permet une identification des accessions spécifiques et révèlent généralement d'importants traits d'intérêts pour les sélectionneurs [13]. En outre, les caractères morphologiques présentent l'avantage d'être facilement perceptibles et constituent un niveau de diversité auquel les agriculteurs ont un accès immédiat [14].

Une première caractérisation du germoplasme autochtone du maïs saharien a porté sur la description agro-morphologique de 10 accessions originaire du sud algérien [15] ; l'étude a révélé un large éventail de variabilité pour l'adaptation du maïs aux conditions tempérées. Plus récemment, une autre étude a porté sur l'évaluation du maïs algérien dans des conditions de sécheresse [16]. Les auteurs ont suggéré que les populations évaluées peuvent être considérées comme une nouvelle source d'allèles favorables pour la tolérance à la sécheresse.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la diversité agro- morphologique d'un ensemble d'accessions de maïs originaires des Oasis Sahariennes, notamment ceux de la région de Touat et du Tidikelt, et de déterminer leur degré de similitude ou de différence par rapport à leur répartition géographique.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

La caractérisation phénotypique a porté sur 60 accessions de maïs (*Zea mays* L.) représentatives de la variabilité existante dans certaines Oasis du Sahara Algérien (Figure1, Tableau 1). Ces accessions ont été collectées principalement dans la région du Touat et du Tidikelt qui sont rattachées à la wilaya¹ d'Adrar et de Tamanrasset, respectivement. Ces deux régions, avec leur analogue le Gourara, couvrent un cinquième du Sahara Algérien et près d'un sixième du territoire national [17]. Cet ensemble régional, le Touat, le Tidikelt et le Gourara, qui s'étale jusqu'aux confins de l'Erg oriental à l'Est, couvre en grande partie l'Erg occidental au Nord et s'ouvre sur un immense Erg au Sud, le Tanezrouft [18] ; il figure parmi les régions les plus arides au monde [19].

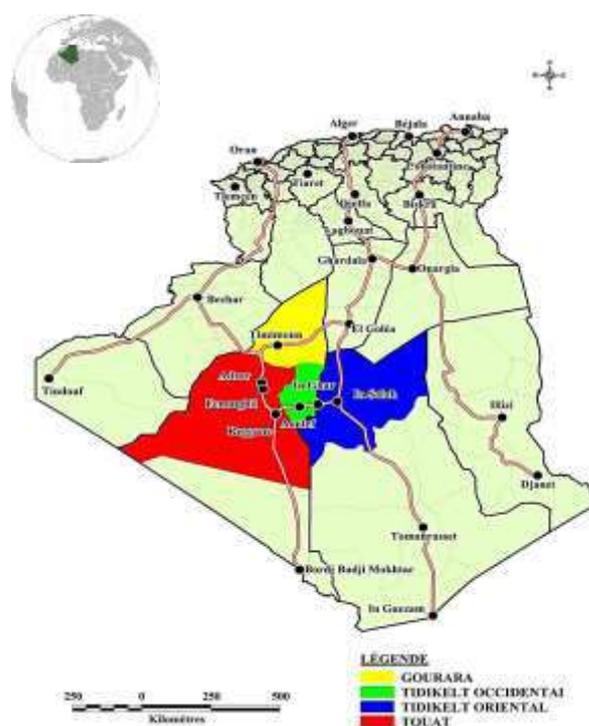


Figure 1. Présentation des zones de prospection et de collecte des accessions de maïs.

¹ Circonscription administrative

Tableau 1

Présentation des 60 accessions Algériennes de maïs ayant fait objet de la présente étude, leur origine ainsi que leurs coordonnées géographiques.

Code	Site de collecte	Village (Daïra)	Région	Latitude	Longitude	Numéro
TGN	Timoghten	Aoulef	Adrar	27° 01' 00,70"N	1° 00' 23,50"E	1
MRG	El Mergueb	Aoulef	Adrar	26° 58' 26,90"N	1° 05' 01,08"E	2
BMR	Bled Moulay Rechid	Aoulef	Adrar	26° 58' 26,96"N	1° 05' 01,08"E	3
GAG	Gaougaou	Aoulef	Adrar	26° 58' 26,96"N	1° 05' 01,08"E	4
ZOI	Zaouia	Aoulef	Adrar	26° 58' 26,96"N	1° 05' 01,08"E	5
EGC	Erg chich	Aoulef	Adrar	25° 49' 09,70"N	0° 54' 09,00"O	6
RGN	Reggane	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E	7
ZRG	Zaouit - Reggani	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E	8
IZG	Inzeqlouf	Reggane	Adrar	26° 52' 55,10"N	0° 01' 04,90"O	9
TMD2	Timadanine	Reggane	Adrar	26° 41' 56,00"N	0° 06' 37,00" E	10
TNR	Tinourt	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E	11
BAH	Boura	Reggane	Adrar	26° 13' 43,90"N	0° 32' 26,00"O	12
ALL	Allouchia	Reggane	Adrar	27° 39' 01,30"N	0° 18' 54,30"O	13
MHZ	El Maharza	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E	14
GNJ	Gasbet Nadjar	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E	15
BAL	Bab Allah	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E	16
MHF	Mahfoud	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E	17
TAO	Taurirt	Reggane	Adrar	26° 42' 14,60"N	0° 13' 01,90"E	18
TMR	Tiouliline	Zaouiet kounta	Adrar	27° 02' 20,80"N	0° 05' 38,30"O	19
BAJ	Bouaj	Zaouiet kounta	Adrar	27° 52' 21,13" N	0° 17' 13,47" E	20
TLC	Tittauine ech cheurfa	Zaouiet kounta	Adrar	27° 04' 00,90" N	0° 06' 17,00"O	21
TTW	Titawine	Zaouiet kounta	Adrar	27° 13' 27,21"N	0° 12' 00,20"O	22
TDM1	Tidmaine	Zaouiet kounta	Adrar	27° 05' 37,80"N	0° 07' 14,20"O	23
IZM	Inzegmir	Zaouiet kounta	Adrar	27° 05' 47,70"N	0° 08' 23,70"O	24
AZA	Azoua	Zaouiet kounta	Adrar	27° 06' 49,70"N	0° 08' 15,10"O	25
TWR	Tiwirine	Zaouiet kounta	Adrar	27° 19' 37,30"N	0° 13' 21,70"O	26
DRR	Adrour	Zaouiet kounta	Adrar	27° 52' 27,40"N	0° 17' 38,00"O	27
AGL	Arhil	Zaouiet kounta	Adrar	27° 21' 09,40"N	0° 13' 55,30"O	28
TMT	Timmassekh	Zaouiet kounta	Adrar	27° 22' 37,30"N	0° 15' 27,40"O	29
IKS	Ikkas	Zaouiet kounta	Adrar	27° 24' 23,10"N	0° 15' 37,80"O	30
LHM	El ahmar	Zaouiet kounta	Adrar	27° 25' 20,80"N	0° 15' 05,60"O	31
EDD	El Djedid	Zaouiet kounta	Adrar	27° 27' 35,40"N	0° 16' 21,20"O	32
BYY	Oulad bou yahia	Zaouiet kounta	Adrar	27° 28' 01,90"N	0° 16' 28,80"O	33
ANT	Ouled antar	Zaouiet kounta	Adrar	27° 26' 49,60"N	0° 16' 02,80"O	34
TBR	Taberkant	Zaouit kounta	Adrar	27° 13' 50,20"N	0° 12' 31,50"O	35
AMR1	Bahmer	Fenoughil	Adrar	27° 29' 38,30"N	0° 17' 12,30"O	36
AMR2	Bahmer	Fenoughil	Adrar	27° 29' 38,30"N	0° 17' 12,30"O	37
SDY	Bour Sidi Youssef	Fenoughil	Adrar	27° 33' 39,20"N	0° 18' 34,00"O	38
FNG	Fenoughil	Fenoughil	Adrar	27° 40' 27,66"N	0° 18' 00,30"O	39
BFD	Bouffaddi	Fenoughil	Adrar	27° 42' 44,40"N	0° 16' 22,70"O	40

Code	Site de collecte	Village (Daïra)	Region	Latitude	Longitude	Numéro
TMN	Tamentit	Fenoughil	Adrar	27° 45' 37,80"N	0° 15' 35,90"O	41
SBK	Zaouia Sidi Bekri	Fenoughil	Adrar	27° 47' 32,90"N	0° 14' 48,40"O	42
BNT	Beni tamer	Adrar	Adrar	27° 49' 41,30"N	0° 16' 13,50"O	43
MSR	El mansour	Adrar	Adrar	27° 37' 20,30"N	0° 18' 24,80"O	44
TLL	Tililane	Adrar	Adrar	27° 53' 52,90"N	0° 14' 54,10"O	45
AGH	Adgha	Adrar	Adrar	27° 52' 06,12"N	0° 18' 06,09" O	46
AAS	Ouled Aroussa	Adrar	Adrar	27° 47' 46,80"N	0° 17' 07,50"O	47
IGS	Igostenne	In salah	Tamanrasset	27° 15' 02,60"N	2° 38' 05,70" E	48
FEZ	Foggaret ez zoua	In salah	Tamanrasset	27° 21' 33,28"N	2° 50' 42,87" E	49
INS1- INS6	In Salah	In salah	Tamanrasset	27° 11' 48,40"N	2° 28' 44,90" E	50-55
IGR1-IGR5	In Ghar	In Ghar	Tamanrasset	27° 06' 27,87"N	1° 54' 18,13" E	56-60

2.2. Dispositif expérimental

L'essai a été conduit suivant un dispositif de type Augmented Randomized Complete Block Design (ARCB) tel que décrit par Federer [20] ; un dispositif dans lequel seuls les témoins, ayant des quantités suffisantes de semence, sont répétés dans chaque bloc. La parcelle expérimentale, ayant une superficie de 903 m² (43×21) comprenait trois blocs espacés de 2 m. Au niveau de chaque bloc, sept témoins dont trois sont originaires des Etats-Unis (BS17, BSL and Longfellow) et quatre d'Espagne (Norteno, Rastrojero, Tuy and Tremesino) ont été distribués de façon aléatoire. Les 60 accessions à caractériser ont également été réparties aléatoirement dans l'ensemble des blocs mais sans répétition. Au final, chaque bloc contenait 20 populations, qui diffèrent d'un bloc à un autre, et 7 témoins répétés au niveau de chaque bloc. Chaque témoin et accession a été représenté par une seule ligne de 6 m de long qui comportait 30 graines.

2.3. Caractérisation des accessions

Le choix et l'évaluation des descripteurs ont été effectués en suivant le Manuel de descripteurs de maïs publié par le Conseil International des Ressources Phylogénétiques [21]. Les données ont été collectées sur 10 plants par accessions choisis aléatoirement. Un total 17 variables quantitatives ont été évaluées à différents stades de développement et suivant la nature de chaque trait (Tableau 2).

2.4. Analyses statistiques

Dans un premier temps, une analyse de la variance ANOVA (niveau de signification, $p < 0,05$) selon le model ARCB a été effectuée à l'aide du logiciel ACBD-R développé par le CYMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center), avec comme source de variation bloc, témoin, accession, accession x témoin. Cette analyse a permis tout d'abord d'identifier les variables pour lesquelles il y a effet bloc. Les moyennes de ces variables sont par la suite ajustées pour toutes les accessions afin d'être utilisées pour le reste des analyses. Concernant l'effet accession, lorsqu'une différence significative est révélée entre les accessions pour un caractère donné, l'ANOVA est complétée par le test de comparaison des moyennes LSD (Least Significant Difference) effectué à l'aide du logiciel R version 3.4.1 au seuil de 5 %.

Le test de corrélation de Pearson a pris en charge tous les traits quantitatifs afin d'estimer les corrélations entre paires de caractères à un seuil de 5 %. L'Analyse en Composante Principale (ACP), appliquée aux variables ayant montré une différence significative entre les accessions, a permis d'identifier les traits qui différencient efficacement les accessions du Sahara algérien. Une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) a ensuite permis de classer les accessions en clusters ou groupes homogènes selon la méthode d'agrégation de Ward [22] et en employant le logiciel [XLSTAT](#) version 2014.

Tableau 2.
Récapitulatif des marqueurs agro-morphologiques évalués

Caractères	Description	Unité	Abréviation
Levée	Nombre de jours entre le semis et le jour où 50 % des plantes ont germé.	Jours	G50
Pourcentage de plantes émergées	Pourcentage de plantes émergées par rapport au nombre total semé.	%	MRG
Floraison mâle	Nombre de jours entre le semis et le jour où 50 % des plantes produisent du pollen.	Jours	FM
Floraison femelle	Nombre de jours entre le semis et le jour où 50 % des plantes produisent des soies	Jours	FF
Intervalle entre la FM et FF	Les jours à 50 % de floraison mâle – les jours à 50 % de floraison femelle.	Jours	ASI
Hauteur de la plante (cm)	Après stade grain laiteux. Du niveau du sol à la base de la panicule mâle.	cm	HP
Hauteur de l'épi (cm)	Après stade grain laiteux. Du niveau du sol au nœud d'insertion de l'épi le plus haut.	cm	HE
Longueur de l'épi (cm)	/	cm	LE
Diamètre de l'épi (cm)	Mesuré dans la partie médiane de l'épi le plus haut.	cm	DE
Diamètre de la rafle (cm)	/	cm	DRF
Diamètre du rachis (cm)	/	cm	DRC
Nombre de ligne par épi	/	/	NLE
Nombre de grain par ligne	/	/	NGL
Nombre d'épi par plant	/	/	NEP
Poids de 100 grains	/	kg	PCG
Rendement	/	Quintal.h ⁻¹	RD
Humidité à la récolte	/	%	HMR

3. Résultats et discussion

3.1. Analyse des variables quantitatives

L'analyse de la variance ANOVA effectuée sur les 17 variables quantitatives a indiqué que la variabilité introduite par les blocs n'a été observée que pour la hauteur du plant, la hauteur de l'épi, le diamètre de la rafle, le diamètre du rachis, le poids de 100 grains et le rendement. Les résultats de l'ANOVA ont également révélé une différence significative entre les accessions pour huit traits qui sont la floraison mâle et femelle, la hauteur du plant, le diamètre du rachis, le nombre de ligne par épi, le nombre d'épi par plant, le poids de 100 grains et le rendement (Tableau 3). La comparaison des moyennes effectuées par le test LSD pour les variables ayant montré une différence significative entre les accessions nous a permis de les classer en différents groupes homogènes (Tableau 4).

Les variables quantitatives étudiées ont révélé des écarts importants entre les valeurs minimales et maximales avec des coefficients de variation qui

varieront de 7 % (FM et FF) à 50,08 % (ASI). Les dates de floraison varient entre 63 et 96 Jours Après Semis (JAS) pour la floraison mâle et 68 à 98 JAS pour la floraison femelle. La population AGL s'est révélée la plus précoce contrairement à IGR2 qui a fleuri tardivement. L'intervalle (ASI) entre la FM et FF varie entre 1 et 4 jours pour plus de 60 % des populations étudiées ; le reste des populations ont présenté un ASI compris entre 5 à 11 jours. Il est important de signaler que la date de floraison est considérée comme un caractère complexe qui joue un rôle crucial dans l'adaptation du maïs aux diverses conditions environnementales [23,24]. Cette adaptation est, en effet, possible en impliquant des signaux environnementaux et endogènes qui contrôlent le moment optimal pour la transition de la phase végétative à la phase reproductive [25].

Tableau 3.

Analyse de la variance des variables quantitatives étudiées.

Source de variation	ddl	G50	MRG	FM	FF	ASI	HP	HE	LE
Blocs	2	0,79	103,06	23,10	22,30	1,71	953,35*	646,71*	3,61
Témoins (T)	6	9,26**	994,74**	145,70**	154,80**	22,82**	1070,07**	831,09**	3,96
Accessions (A)	59	2,31	121,81	38,20**	43,80**	4,27	523,88**	254,17	3,45
T vs A	1	169,91**	11407,1**	1137,00 *	1719,80**	55,09**	44013,56**	10056,01**	135,88**
Erreur	12	1,53	117,20	8,88	7,63	3,39	145,95	122,31	2,16

	ddl	DE	DRF	DRC	NLE	NGL	NEP	PCG	RD	HMR
Blocs	2	0,29	1,15**	0,20**	0,72	7,89	0,46	0,0003**	196,57*	7,049
Témoins (T)	6	0,18	0,39	0,03*	9,39**	27,63	0,25	0,0001**	308,93**	10,484
Accessions (A)	59	0,07	0,13	0,04**	1,63**	11,89	1,16**	0,0005**	137,09*	5,019
T vs A	1	3,73	1,01*	0,28**	0,44	229,69**	6,94**	0,0003**	60,12 **	9,475
Erreur	12	0,1	0,14	0,01	0,23	10,06	0,16	5,75E-06	45,63	4,3855

G₅₀ : nombre de jours pour atteindre 50 % de germination ; MRG : pourcentage de plantes émergées ; FF : floraison femelle ; FM : floraison mâle ; ASI : intervalle entre la floraison mâle et femelle ; HP : hauteur du plant ; HE : hauteur de l'épi ; DRF : diamètre de la rafle ; DE : diamètre de l'épi ; LE : longueur de l'épi ; DRC : diamètre du rachis ; NGL : nombre de grain par ligne ; NLE : nombre de ligne par épi ; NEP : nombre d'épi par plant ; PCG : poids de 100 grains ; RD : rendement ; HMR : humidité à la récolte . (* = 0.01 < p < 0.05; ** = 0.001 < p < 0.01).

Les valeurs maximales de la hauteur du plant et celle de l'épi (132,12 et 79,46 cm, respectivement) ont été enregistrées chez les populations TLC et FEZ, respectivement, alors que les valeurs minimales (45,79 et 14,47 cm) ont caractérisé AGL et TWR, respectivement. En effet la population la plus haute (TLC) a enregistré le rendement le plus élevé (62,46 qt.ha⁻¹), l'ASI le plus court (2 jours) et s'est révélée tardive (85 et 87 JAS pour la FF et FM, respectivement) ce qui a été déjà constaté par d'autres auteurs [26-29].

Sur le plan morphologique, la hauteur des plants est fortement associée à la date de floraison du moment que la formation des entre nœuds s'arrête à l'initiation de la floraison, ce qui signifie que les génotypes les plus précoces sont généralement les plus courts [30-32].

Une corrélation similaire a été rapportée entre la hauteur du plant et le rendement [33,31] suggérant que les plantes hautes possèdent un nombre élevé de feuilles qui accumulent un maximum de matière sèche, ce qui est à l'origine de l'augmentation des rendements [32].

L'ASI, qui mesure la synchronisation entre la floraison mâle et femelle [34], contribue également à augmenter le rendement d'où son importance dans les programmes d'amélioration [35]. En effet, sous conditions normales, la floraison mâle débute 2 à 4 jours avant la floraison femelle [36] ; une réduction de cet intervalle (ASI) augmente la synchronisation entre

les deux types de floraison conduisant ainsi à une augmentation des rendements, alors qu'une asynchronie peut entraîner des pertes de rendement [37].

Une forte corrélation positive (0,95) à un seuil de 5 % a été mise en évidence entre la floraison mâle et la floraison femelle (Tableau 5). Chacun de ces descripteurs a montré une corrélation forte avec la hauteur du plant (HP) et la hauteur de l'épi (HE) et moyenne avec le diamètre de l'épi (DE), la longueur de l'épi (LE), le nombre de grains par ligne (NGL) et le nombre de ligne par épi (NEP). Une corrélation similaire (0,95) a été révélée entre les descripteurs hauteur du plant (HP) et hauteur de l'épi (HE) qui sont en association positive avec DRF, DE, LE, NGL, NLE, RD et HMR ; un résultat similaire avait déjà été constaté par d'autres auteurs [37-40]. La détermination des corrélations entre les caractères d'intérêt est très utile dans les programmes d'amélioration et devrait être prise en compte par les sélectionneurs. Cependant, la sélection des traits appropriés doit être accomplie et vérifiée dans différentes conditions agro-climatiques, car en dépit des facteurs génétiques, d'autres facteurs probablement environnementaux peuvent influencer les corrélations entre les caractères [41].

Tableau 4.

Valeurs minimales, maximales, moyennes, écart-types et coefficient de variation des 17 traits quantitatifs.

Traits	Code	Moyenne	Minimum		Maximum		Ecart-type	Coefficient de variation	Nombre de groupes homogènes
			Valeur	Accession	Valeur	Accession			
Levée	G50 %	76,61	50,00	TMD2	100,00	MHF	11,24	14,67	/
Pourcentage de plantes émergées	MRG	11,607	8,0	IKS	15,0	TTW	1,49	12,90	/
Floraison femelle	FF	77,16	68,0	AGL	98,0	IGR2	6,06	7,861	17
Floraison mâle	FM	73,21	63,0	AGL	96,0	IGR2	5,74	7,850	12
Intervalle entre la FM et FF	ASI	3,94	1,0	MRG/INS5	11,0	IZM	1,97	50,08	/
Hauteur de la plante (cm)	HP	75,16	45,79	AGL	132,12	TLC	22,31	29,68	21
Hauteur de l'épi (cm)	HE	33,02	14,47	TWR	79,46	FEZ	14,56	44,10	/
Diamètre de la rafle (cm)	DRF	2,13	1,50	LHM	3,23	EDD	,357	16,74	/
Diamètre de l'épi (cm)	DE	3,25	2,70	BAJ	3,7100	IGR2	,261	8,038	/
Diamètre du rachis (cm)	DRC	,832	0,49	ZOI	1,86	INS2	,212	25,51	15
Longueur de l'épi (cm)	LE	11,65	8,18	BNT	16,25	IZM	1,74	15,01	/
Nombre de grain par ligne	NGL	19,96	13,90	BNT	26,30	IGR4	3,12	15,65	/
Nombre de ligne par épi	NLE	10,052	7,9	INS6	13,1	IGR2	1,17	11,71	18
Nombre d'épi par plant	NEP	2,25	1,40	AZA	3,10	TMD2	,411	18,24	12
Poids de 100 grains	PCG	,026	0,016	IGR3	0,036	RGN	,0023	14,70	10
Rendement en grain	RD	31,14	13,72	TWR	62,46	TLC	11,96	38,41	11
Humidité à la récolte	HMR	14,67	8,9	TWR	18,3	IGR4	2,196	14,97	/

Tableau 5

Les corrélations phénotypiques des descripteurs quantitatifs mesurés pour les 60 accessions de maïs

Variables	MRG	G50	FF	FM	ASI	HP	HE	DRF	DE	DRC	LE	NGL	NLE	NEP	PCG	RD	HMR
MRG	1																
G50	-0,132	1															
FF	0,039	0,351	1														
FM	0,024	0,348	0,950	1													
ASI	0,052	0,084	0,360	0,051	1												
HP	0,047	0,203	0,819	0,866	0,033	1											
HE	-0,029	0,203	0,820	0,890	-0,034	0,952	1										
DRF	-0,202	0,369	0,211	0,197	0,086	0,287	0,322	1									
DE	-0,249	0,295	0,457	0,488	0,004	0,547	0,537	0,468	1								
DRC	-0,195	-0,114	0,095	0,099	0,008	0,076	0,071	-0,112	0,071	1							
LE	-0,154	0,073	0,580	0,595	0,077	0,661	0,668	0,250	0,622	0,155	1						
NGL	-0,090	0,067	0,495	0,539	-0,026	0,664	0,645	0,253	0,564	0,155	0,858	1					
NLE	-0,162	0,170	0,540	0,571	0,023	0,563	0,603	0,297	0,718	0,274	0,563	0,575	1				
NEP	-0,323	-0,313	-0,204	-0,139	-0,237	-0,031	0,023	-0,105	0,010	0,061	0,050	0,095	-0,134	1			
PCG	-0,208	-0,133	0,062	0,071	-0,014	0,112	0,098	0,043	0,244	-0,088	0,093	0,025	-0,100	0,328	1		
RD	0,045	-0,209	0,322	0,357	-0,036	0,580	0,509	0,098	0,400	0,102	0,515	0,720	0,322	0,315	0,320	1	
HMR	0,112	-0,222	0,160	0,201	-0,086	0,433	0,348	0,012	0,299	0,012	0,348	0,469	0,168	0,370	0,284	0,710	1

Les valeurs en gras sont significativement différentes de 0 à un niveau de signification alpha =0.05

3.2. Structuration de la diversité à partir des variables quantitatives

Les deux premiers axes de l'ACP (Figure 2) qui ont expliqué 63,95 % de la variabilité totale ont été retenus pour l'analyse. Près de 43,65 % de cette variabilité est associé à l'axe I (F1) avec une forte contribution positive des variables précocité à la floraison mâle (FM) et femelle (FF), la hauteur du plant (HP) et le nombre de ligne par épi (NLE). Cet axe peut être décrit comme l'axe de la précocité et du développement végétatif. L'axe II (F2) qui a expliqué 20,30 % de la variabilité est positivement associé aux variables nombre d'épi par plant (NEP), poids de 100 grains (PCG) et le rendement en grain (RD) d'où son appellation axe du rendement.

La projection des 60 populations sur le plan formé par les deux premiers axes de l'ACP a mis en évidence trois groupes. Le groupe 1 comprend 17 accessions caractérisées par une floraison tardive, une hauteur élevée des plants et un rendement moyen à élever. Le deuxième groupe est composé de 10 accessions caractérisées par une floraison normale, une hauteur moyenne et les composantes du rendement (PCG et NEP) les plus élevées. Au niveau du troisième groupe se positionnent les 33 accessions les plus précoces, les plus petites de taille avec une productivité moyenne à faible (Figure 2).

Les principaux traits ayant servi à répartir les accessions sahariennes font partie des caractères morphologiques et agronomiques les plus héréditaires et les plus discriminants pour la classification du maïs [42]. Ils ont contribué également à séparer les populations Ethiopiennes [43], Italiennes [44] et Indiennes [45]. De même, [38,46] ont indiqué que la hauteur des plants et des épis sont les critères les plus discriminants pour identifier les populations de maïs originaires de Serbie et du Mexique, respectivement.

Le dendrogramme généré suite à une CAH a permis d'identifier trois clusters homogènes (Figure 3, Tableau 6). La répartition des accessions au sein de ces clusters rejoint celle établie par l'ACP. Le premier cluster est composé des 16 accessions les plus tardives (81,37 et 85,62 jours pour la FM et FF, respectivement), montrant les hauteurs des plants (105,91cm) et les diamètres du rachis (0,87 cm) les plus élevées, un nombre maximal de lignes de grains par épi (11,51), un faible nombre d'épi par plant (2,08) et un rendement moyen (39,27 qt.ha⁻¹). Le cluster II comporte 11 accessions caractérisées par des floraisons normales (72,36 et 76,72 jours pour la FM et FF, respectivement) et des hauteurs moyennes des plants (75,96 cm). Un nombre maximal d'épis sont produits par plant (2,8) avec un nombre moyen de lignes de grains par épi (9,92), un rachis de faible diamètre (0,8 cm), un poids de 100 grains le plus élevé (0,027 g) ainsi qu'un rendement maximal (40,38 qt.ha⁻¹). Le dernier cluster rassemble les 33 accessions les plus précoces (70,48 et 74,30 jours pour la FM et FF, respectivement), caractérisées par les plus petites hauteurs de la plantes (61,50 cm), un nombre minimal de ligne de grains par épi (9,48), un faible poids de 100 grains (0,022) et un rendement en grain le plus faible (23,27 qt.ha⁻¹). En se basant sur les descripteurs quantitatifs évalués, les accessions collectées dans la même région ont été réparties dans des clusters ou groupes différents indiquant que la classification de ces génotypes s'est faite selon leur performance pour les traits évalués et indépendamment de leur origine géographique. L'absence de relation entre la structuration des accessions et leur origine géographique avait déjà été constatée lors de la classification des populations Italiennes [44] et Indiennes [47]. Elle est attribuée aux flux géniques ayant conduit à un mélange extensif du germoplasme entre les champs voisins, d'une part, et à l'échange des semences entre agriculteurs de régions distinctes, d'autre part [39].

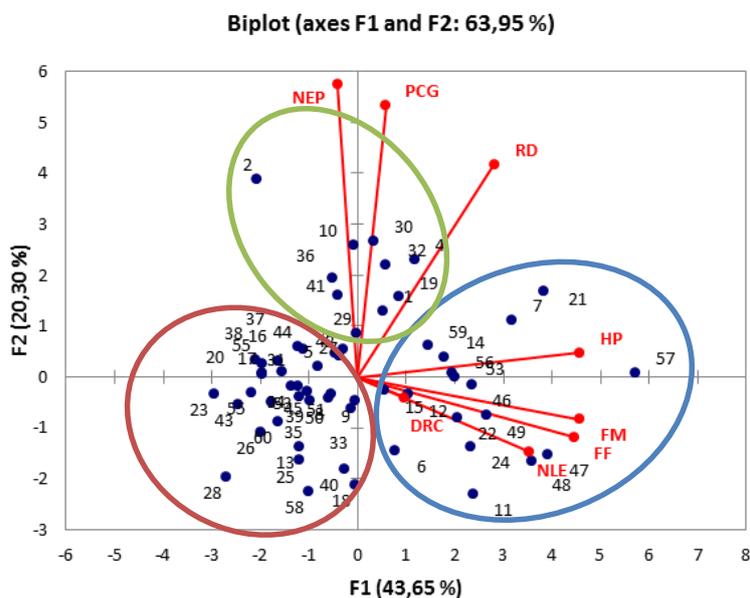


Figure 2. Projection des 60 accessions de maïs sur les deux premiers axes de l'ACP

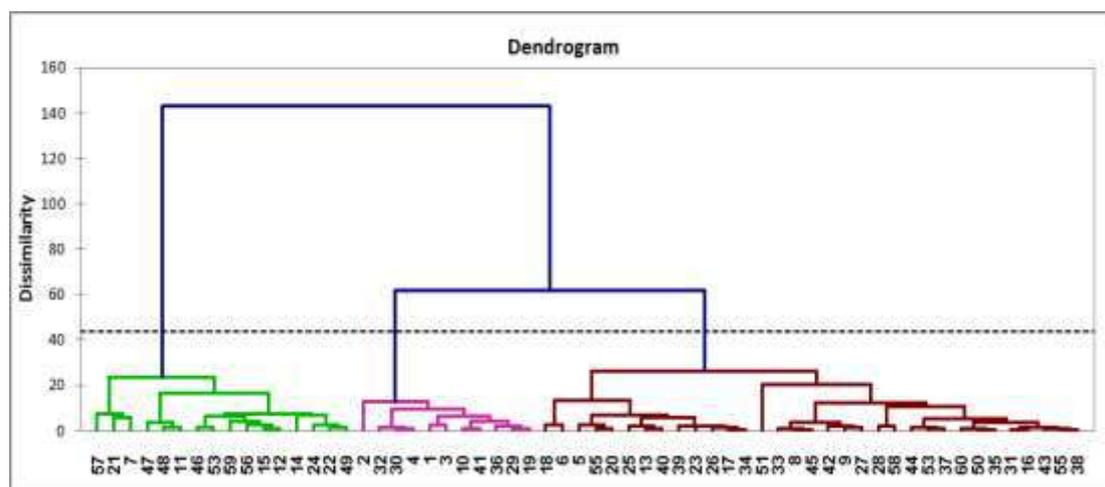


Figure 3. Classification ascendante hiérarchique des accessions de maïs sahariennes

Tableau 6

Valeurs moyennes des caractères agro-morphologiques pour les trois clusters générés par la CAH

Cluster	FF	FM	HP	DRC	PCG	NLE	NEP	RD
1	85,625	81,375	105,911	0,8720	0,0230	11,519	2,0870	39,2740
2	76,727	72,364	75,968	0,8000	0,0274	9,927	2,8000	40,3850
3	74,303	70,484	61,507	0,823	0,0221	9,484	2,1212	23,2761

4. Conclusion

La présente étude, qui traite le polymorphisme phénotypique du maïs originaire des Oasis Sahariennes a révélé une grande variabilité phénotypique au sein des accessions et a fait apparaître celles ayant des traits d'intérêt agronomique. En effet, le rendement et les critères d'adaptation au climat tel que la date de floraison sont les principaux traits recherchés dans les programmes d'amélioration du maïs. En premier lieu, il est important de citer l'intérêt des accessions du cluster 2 qui se sont révélées les plus productives. En outre, les accessions étudiées ont présenté une grande variabilité pour la date de floraison ce qui confirme leur potentialité adaptative aux divers conditions environnementales. Les accessions les plus précoces, adaptées à des saisons de pluie courte, fourniraient aux sélectionneurs un outil simple pour échapper au stress hydrique. De même, les génotypes caractérisés par de courts ASI peuvent également servir pour la tolérance à la sécheresse.

Références

- [1] Whitt SR., Wilson M., Tenaillon MI., Gaut BS., Genetic BS. Diversity and selection in the maize starch pathway Proc Natl Acad. Sci. U S A. 99 (2002): 12959–62. <https://doi.org/10.1073/pnas.202476999>
- [2] Mangelsdorf P.C., Corn Its Origin, Evolution, and Improvement. Harvard University Press, Cambridge, (U.S.A): 1974.
- [3] Edmeades GO., Trevisan W., Prasanna BM., Campos H. (2017): In: H. Campos, Tropical Maize (Zea mays L.): PDS Caligari (eds): Springer, New York, 2017, Cha.3.
- [4] Portères R., L'Introduction du Maïs en Afrique. Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, 2 (1955): 221-231. [Version HTML]. https://www.persee.fr/doc/jatba_0021-7662_1955_num_2_5_2221
- [5] McCann JC., 2005. Maize and Africa's encounter with a new world crop. Harvard University Press, Cambridge, pp 1500–2000.
- [6] Chevalier A. Les Productions végétales du Sahara et de ses confins Nord et Sud. Passé-Présent-Avenir. Revue de Botanique Appliquée & d'Agriculture Tropicale. 1932 ;12 :669–924. Bulletin 133-134. [Version HTML]. https://www.persee.fr/doc/jatba_0370-3681_1932_num_12_133_5282
- [7] Laumont P. et Laby H., Le maïs et sa culture en Algérie, Doc et Rens agricoles, 155 (1950).
- [8] Hawtin G., Iwanaga M., T. Hodgkin, Genetic resources in breeding for adaptation. Euphytica, 92 (1996): 255-266. <https://doi.org/10.1007/BF00022853>
- [9] Rahel-Bouziiane H., Fourrages cultivés des oasis du Touat, Gourara et Tidikelt : caractéristiques ethnobotaniques, morphologiques et valeur alimentaire. INRAA, 2006.
- [10] Lefort-Buson M., Hebert Y. et Damerval C., Les outils d'évaluation de la diversité génétique et phénotypique. Agronomie, EDP Sciences, 8 (1988) : 173-178. Disponible en ligne : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00885086/document>
- [11] Prasanna BM and Lata Sharma 2005 The landraces of maize (Zea mays L.): Diversity and utility. Indian J. Plant Genet. Res. 18 155–168.
- [12] Wasala S K., Guleria S K., Sekhar J C., Mahajan V., Srinivasan K., Parsad R. and Prasanna B M. Analysis of yield performance and genotype × environment effects on selected maize (Zea mays): landrace accessions of India. Prasanna. Indian Journal of Agricultural Sciences 83 (2013): 287-923. Disponible en ligne : <https://scholar.google.com/citations?user=8wi1HSIAAAAJ&hl=en>
- [13] Franco J., Crossa J., Ribaut J.M., Betran J., Warburton M.L., Khairallah M., A method for combining molecular markers and phenotypic attributes for classifying plant genotypes. Theor. Appl. Genet 103 (2001): 944 - 952. <https://doi.org/10.1007/s001220100641>
- [14] Bellon MR, Berthaud J., Traditional Mexican agricultural systems and the potential impacts of transgenic varieties on maize diversity. Agr. Hum. Values 23 (2006): 3-14. <https://doi.org/10.1007/s10460-004-5861-z>
- [15] Djemel A., Revilla P., Hanifi-Mekliche L., Malvar RA, Alvarez A., Khelifi L., Maize (Zea mays L.): from the Saharan oasis: adaptation to temperate areas and agronomic performance. Genet. Resour. Crop. Ev., 59 (2011): 1493-1504. <https://doi.org/10.1007/s10722-011-9778-2>
- [16] Djemel A., Cherchali FZ., Benchikh-Le-Hocine M., Malvar RA., Revilla P., Assessment of drought tolerance among Algerian maize populations from oases of the Saharan. Euphytica, 214 (2018): 149. <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2225-0>
- [17] Otmane T., Kouzmine Y., Bilan spatialisé de la mise en valeur agricole au Sahara algérien », cybergeo : European Journal of Geography. Espace, Société, Territoire 632 ,2013. <https://doi.org/10.4000/cybergeo.25732>
- [18] Lakhdari F., Guide des techniques de lutte contre l'ensablement au Sahara Algérien. Edition CRSTRA, 2015.
- [19] Gaillermou Y., Survie et ordre social au Sahara. Les oasis du Touat-Gourara-Tidikelt en Algérie. Cah. Sci. Hum., 29 (1993) : 121-138. Disponible en ligne : <https://core.ac.uk/download/pdf/39858100.pdf>
- [20] Federer WT. Augmented (or *hoonuiaku*): designs. Hawaiian Plant Records, 55(1956): 191-128.
- [21] IBPGR, International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico City/International Board for Plant Genetic Resources, Rome, 1991.
- [22] Ward JH., Hierarchical grouping to optimize an objective function. Journal of the American Statistical Association, 58 (1963) : 236-244. Disponible sur URL: <https://ecommons.cornell.edu/handle/1813/32841>
- [23] Chardon F., Virlon B., Moreau L., Falque M., Joets J, Decousset L., Murigneux A. and Charcosset A., Genetic architecture of flowering time in maize as inferred from QTL meta-analysis and synteny conservation with the rice genome. Genetics 168 (2004): 2169-2185. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.032375>
- [24] Buckler E.S., Holland JB., Bradbury PJ., Acharya CB., Brown PJ., Browne C. *et al.*, The genetic architecture of maize flowering time. Science 325 (2009): 714-718. <https://doi.org/10.1126/science.1174276>
- [25] Bouchet S., Servin B., Bertin P., Madur D., Combes V., Dumas F., Brunel D., Laborde J., Charcosset A., Nicolas S., Adaptation of maize to temperate climates: mid-density genome-wide association genetics and diversity patterns reveal key genomic regions, with a major contribution of the Vgt2 (ZCN8): locus. PLoS ONE 8(2013): e71377. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071377>

- [26] Shi ZS., Zhang SH., Li FH., Wang ZP., Zhang XH., Zhang YL., Zhu M., Comparison and analysis on maize yield performance of mid-maturing, mid-late maturing and late maturing varieties in Liaoning areas. *Maize Sci.*, 16 (2008): 6-10.
- [27] Khan K., Sher H., Iqbal M. and Al-Qurainy F., Development and release of indigenous maize hybrids to enhance maize yield in Khyber-Pakhtoonkhwa province of Pakistan. *Afr. J. Agric. Res.* 6(2011): 3789-3792. <https://doi.org/10.5897/AJAR10.792>
- [28] Wang X., Chang J., Qin G., Zhang S., Cheng X. and Li C., Analysis on yield components of elite maize variety Xundan 20 with super high yield potential. *Afr. J. Agric. Res.* 6(2011): 5490-5495. <https://doi.org/10.5897/AJAR11.675>
- [29] Bello O. B., Abdulmalik S. Y., Ige S. A., Mahmood J., Oluleye F., Azeez M. A., Afolabi M. S., Evaluation of early and late/intermediate maize varieties for grain yield potential and adaptation to a southern guinea savanna agro-ecology of Nigeria. *Intern. J. Plant Res.* 2 (2012) : 14-21. Disponible en ligne : <http://eprints.lmu.edu.ng/2663/>
- [30] Troyer A. F., Larkins J. R., Selection for early flowering in corn: 10 late synthetics. *Crop Sci.* 25(1985): 695-697. <https://doi.org/10.2135/cropsci1985.0011183X002500040029x>
- [31] Nazir H., Zaman Q., Amjad M. and Aziz NA., Response of maize varieties under agro-ecological conditions of Dera Ismail Khan. *J. Agric. Res.*, 48 (2010): 59-63. Disponible en ligne : https://apply.jar.punjab.gov.pk/upload/1374660262_81_34_59P_aper-No.7.pdf
- [32] Nzuve F., Githiri S., Mukunya M. and Goethi J., Genetic variability and correlation studies of grain yield and related agronomic traits in maize. *Journal of Agricultural Science* 6 (2014): 166-176. <https://doi.org/10.5539/jas.v6n9p166>
- [33] Bello OB., Abdulmalik SY., Afolabi MS and Ige SA., Correlation and path coefficient analysis of yield and agronomic characters among open pollinated maize varieties and their F1 hybrids in a diallel cross. *Afri. J. Biotech.*, 9 (2010): 2633-2639. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1360>
- [34] Bello OB and Olaoye G., Combining ability for maize grain yield and other agronomic characters in a typical southern guinea savanna ecology of Nigeria. *Afr. J. Biotech.*, 8(2009): 2518-2522. <https://doi.org/10.5897/AJB09.296>
- [35] Ngugi K., Cheserek J., Muchira C., Chemining'wa G., Anthesis to Silking Interval Usefulness in Developing Drought Tolerant Maize. *Journal of Renewable Agriculture*, 1(2013): 84-90. DOI: [10.12966/jra.08.03.2013](https://doi.org/10.12966/jra.08.03.2013)
- [36] Aslam M., Maqbool MA., Cengiz R., Drought stress in Maize (*Zea mays* L.): Resistance Mechanisms, Global Achievement and Biological Strategies for Improvement. *Springer Briefs Agric, Swetlan* (2015): 1-74
- [37] Bolaños J., Edmeades GO., The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. *Field Crop Res* 48(1996): 65-80. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(96\):00036-6](https://doi.org/10.1016/0378-4290(96):00036-6)
- [38] Mijangos-Cortés JO., Corona-Torresv, Espinosa- Victoria D., Muñoz-Orozco A., Romero-Peñaloza J., Santacruz-Varela A., Differentiation among maize (*Zea mays* L.): landraces from the Tarasca Mountain Chain, Michoacan, Mexico and the Chalqueno complex. *Genet. Resour. Crop. Ev.* 54(2007): 309-325. <https://doi.org/10.1007/s10722-005-4775-y>
- [39] Cömertpay G., Baloch FS., Kilian B., Ülger AC., Özkan H., Inter-primer binding site retrotransposon and inter-simple sequence repeat diversity among wild *Lens* species. *Plant. Mol. Biol. Rep* 30 (2012): 261-274. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2014.12.002>
- [40] Iqbal J., Shinwari ZK., Rabbani MA. Maize (*Zea mays* L.): germplasm agro-morphological characterization based on descriptive, cluster and principal component analysis. *Pak J Bot.* 47 (2015) : 255-264. Disponible en ligne : [https://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/47\(SI\)/33.pdf](https://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/47(SI)/33.pdf)
- [41] Yücel C., Hizli H., Firincioglu HK., Cil A., Anlarsal AE., Forage yield stability of common vetch (*Vicia sativa* L.): genotypes in the Cukurova and GAP Regions of Turkey. *Turk. J. Agric. For.* 33 (2009): 119-125.
- [42] Sanchez J.J., Goodman M. M., and Rawlings J. O., Appropriate characters for racial classification in maize. *Econ. Bot.* 47 (1993): 44-59. <https://doi.org/10.1007/BF02862205>
- [43] Beyene Y., Botha AM., Myburg AA., phenotypic diversity for morphological and agronomic traits in traditional Ethiopian highland maize accessions. *South Afr. J. Plant Soil*, 22 (2005): 100-105. <https://doi.org/10.1080/02571862.2005.10634689>
- [44] Hartings H., Berardo N., Mazzinelli G.F., Valoti P., Verderio A., Motto M., Assessment of genetic diversity and relationship among maize (*Zea mays* L.): Italian landraces by morphological traits and AFLP profiling. *Theor Appl Genet* 117 (2008): 831-842. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0823-2>
- [45] Kumari J., Kumar A., Singh TP., Bhatt KC., Mishra AK., Semwal DP., Sharma RK., Rana JC., Collection, evaluation and phenotypic diversity assessment of maize (*Zea mays*): germplasm from North Eastern Himalayan region. *Indian J. Agr. Sci.* 87 (2017): 727-733.
- [46] Jaric JK., Prodanovic S., Iwarsson M., Minina A., Diversity of maize (*Zea mays* L.): landraces in Eastern Serbia: Morphological and storage protein characterization, *Maydica*, 55 (2010): 231-238. Disponible en ligne : <https://www.slu.se/globalassets/ew/org/centrb/cbm/dokument/publikationer-cbm/masteruppsatser/knezevic-jaric-et-al-2010.pdf>
- [47] Sharma L., Prasanna BM., Ramesh B., Analysis of phenotypic and microsatellite-based diversity and population genetic structure of maize landraces in India, especially from the North East Himalayan region, *Genetica*, 138 (2010): 619-631.



Évolution de la fraction lipidique et protéique au cours de la maturation de la datte *Deglet-Nour*

Karima YAHIAOUI^{a,*}, Bouchenak OUAHIBA^b, Karim ARAB^c, Ahmed BENCHABANE^d

^a Laboratoire Technologie Alimentaire, Faculté de Technologie, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie

^b Laboratoire Bio-informatique, Microbiologie Appliquée et Biomolécules, Faculté des Sciences, Université M'hamed Bouguerra, Boumerdes, Algérie

^c Laboratoire Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques, Faculté des Sciences, Université M'hamed Bouguerra, Boumerdes, Algérie

Résumé

Les dattes de Deglet Nour à différents stades de maturation ont été analysées pour connaître leur principale composition chimique en lipides, acides gras, protéines et acides aminés. Les valeurs suivantes (sur la base du poids sec) ont été obtenues pour les cinq stades de maturation, respectivement pour lipides : de 1,25 % Ms au stade Loulou à 6,33 % de Ms au stade Kh'lal, 3,65 % Ms au stade B'sser, 2,56 % Ms pour le stade Martouba et 1,97 % Ms au stade T'mar. Les acides gras révélés sont surtout les acides myristique et palmitique. L'analyse des protéines indique des valeurs de 2,63 % Ms au stade Kh'lal pour atteindre 1,25 % Ms au stade T'mar. Parmi les acides aminés identifiés, seulement cinq s'avèrent être présents à des teneurs importantes (glycine, acide γ -amino butyrique, arginine, valine et lysine). Il s'avère difficile d'après ces résultats, de négliger l'importance de la fraction lipidique et protéique de la datte dans la formation de pigments et d'arômes spécifiques.

Mots-clés : Datte ; Maturation ; Lipide ; Protéines

Lipid and protein fraction evolution during the maturation of the Deglet-Nour date

Abstract

Deglet Nour dates at different stages of ripening were analyzed for their main chemical composition in lipids, fatty acids, proteins and amino acids. The following values (based on dry weight) were obtained for the five stages of ripening, respectively for lipids: from 1.25 % Ms at the Loulou stage to 6.33 % Ms at the Kh'lal stage, 3.65 % Ms at the B'sser stage, 2.56 % Ms at the Martouba stage and 1.97 % Ms at the T'mar stage. The fatty acids revealed are mainly myristic and palmitic acids. Protein analysis indicates values of 2.63 % Ms at the Kh'lal stage and 1.25 % Ms at the T'mar stage. Among the amino acids identified, only five were found to be present in significant amounts (glycine, γ -amino butyric acid, arginine, valine and lysine). From these results, it is difficult to overlook the importance of the lipid and protein fraction of the date in the formation of specific pigments and flavours.

Keywords: Dates; Maturation; Lipid; Protein

1. Introduction

La datte a toujours été, depuis des temps immémoriaux, un élément très important dans l'alimentation, tant pour les humains que pour les animaux, dans toutes les contrées du sud et de l'est de la Méditerranée.

Ainsi, le palmier dattier constitue à la fois le symbole et la charpente de l'écosystème Oasien. Il s'agit ici des Oasis où la température moyenne est suffisante pour assurer la maturité des dattes nobles telles que la datte

Deglet-Nour. En effet, c'est une datte de renommée mondiale, considérée comme un ambassadeur économique. Elle est très prisée par les fins connaisseurs, grâce à son aspect, son onctuosité et sa flaveur. De ce fait, elle constitue une ressource d'entrée de devises nettes pour le pays. Il est connu que la consommation de la datte est très répandue dans plusieurs pays suite à sa richesse en sucres et en sels minéraux [1, 2]. Cette consommation est influencée par les caractéristiques inhérentes à la matière première, traitements technologiques et culinaires. Sachant la nature glucidique



de la datte, il s'agit par ce travail de déterminer la composition de ce fruit en acides gras et en acides aminés au cours de la maturation. En effet, il est connu que l'oxydation des acides gras insaturés conduit à la formation d'hydroperoxydes considérés comme composés très réactifs [3], alors que les acides aminés peuvent intervenir dans le développement de la réaction de Maillard [4]. D'autre part, il est confirmé que le rancissement peut se développer dans les produits alimentaires, même pour des quantités très faibles de lipides et devient perceptible sensoriellement à partir d'un taux de lipides de 0,5 %, si ces derniers renferment des acides gras insaturés [5,6]. De leur côté, les acides aminés peuvent jouer un rôle déterminant à la fois sur la coloration et l'arôme [7]. Aussi, il paraît important d'évaluer ces deux fractions des points de vue quantitatif et qualitatif pour mieux maîtriser les opérations de préparation et préserver la qualité initiale du fruit.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les analyses ont porté sur la variété Deglet-Nour récoltée à différents stades de maturité, dans une palmeraie d'El-Oued. Les échantillons prélevés, au hasard, sont conservés à 4 °C jusqu'à analyse.

Chaque étape de la maturation de la datte a été identifiée nominalement, ce qui permet de suivre l'évolution du fruit au cours de son développement. Les stades de maturité sont les suivants [8].

- Stade I : Loulou, suit la pollinisation et dure environ cinq semaines
- Stade II : Kh'lal ou stade vert : est marqué par le grossissement des dattes, un taux d'humidité élevé, une forte acidité et une accumulation des sucres réducteurs ;
- Stade III : B'sser : est caractérisé par une augmentation de la teneur en sucres totaux, du saccharose et de la matière solide, alors que le taux d'humidité diminue ;
- Stade IV : Martouba : la datte perd son astringence et devient molle ;
- Stade V : T'mar ou stade mûr : correspond à l'étape finale de la maturation où le fruit a perdu beaucoup de son eau alors que le rapport sucre/eau reste assez élevé.

2.2. Teneurs en eau

Une dessiccation de la prise d'essai à une température de 103 ± 2 °C est effectuée dans une étuve isotherme durant trois heures [9].

2.3. Détermination des lipides totaux

Des dattes (20 g) sont broyées finement et introduites dans un appareil de type Soxhlet. Puis, la matière grasse est épuisée avec de l'éther diéthylique durant 3 heures. Le solvant est évaporé dans un évaporateur rotatif et le ballon d'épuisement est placé, légèrement incliné, dans une étuve pendant 45 mn. Refroidi jusqu'à atteindre la température ambiante, puis pesé jusqu'à poids constant (± 1 mg). La teneur en lipides totaux est exprimée en g/100g de produit sec

2.4. Détermination des acides gras

Les acides gras sont déterminés après méthylation sous forme d'esters. Pour cela, la matière grasse extraite (0,2g) précédemment est déposée dans des tubes contenant 0,5 mL de méthanol à 0,5 % d' H_2SO_4 . Les tubes sont scellés puis placés dans une étuve à 104 °C pendant 3 heures. Les analyses sont réalisées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Méga 2 (Fisons instruments), équipé d'une colonne capillaire DB-23, 30 m x 0,25 mm. Le gaz vecteur est l'azote ($2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$). L'injecteur est maintenu à 240 °C. La température du four est programmée de 80 °C à 220 °C à raison de $5 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$. Le détecteur FID est maintenu à 250 °C.

Les acides gras identifiés par comparaison avec le temps de rétention des standards appropriés. Leur teneur est déterminée en calculant les aires de pics correspondants.

2.5. Détermination de protéines totales

La teneur en azote total des dattes est dosée par la méthode Kjeldhal [9,10]. La teneur en protéine est obtenue en multipliant le taux d'azote par le coefficient de conversion qui correspond à 6,25.

2.6. Dosage des acides aminés

Un échantillon de 10 g de pulpe de datte est homogénéisé en présence de 50 mL de Méthanol puis à froid pendant 24 heures. En vue d'éliminer les pectines,

les sucres et les produits pouvant interférer avec les acides aminés lors de la séparation, le mélange est centrifugé pendant 30 min à 12 500 g puis filtré. Le résidu final, récupéré dans le HCl 6N conservé sous azote, est séché pendant 24 heures à 115 °C. Le HCl est ensuite évaporé à sec sous vide et le standard interne est ajouté en quantité suffisante (Norleucine). Après remise à sec du mélange, on procède à la préparation des dérivés iso amyl-hepta fluorobutyrys.

L'analyse a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse (Fisons Instruments, série 9000 G.C) équipée du détecteur FID (250 °C). La colonne (30 m×0,25 mm) est constituée d'une phase stationnaire D-B1 méthyl silicane. La température d'injection a été de 250 °C, alors que le débit du gaz vecteur (Azote) été de 2 mL.min⁻¹, et la vitesse de l'intégrateur 0,5 cm/mn. Les résultats sont exprimés après intégration et calibration externe des surfaces des pics du chromatogramme.

2.7. Analyses statistiques

Les résultats obtenus sont analysés par comparaison de moyennes ANOVA avec un niveau de signification $P < 0.05$. L'évaluation statistique est effectuée à l'aide du logiciel [Statistica 6.0](#)®

3. Résultats et discussion

3.1. Teneurs en eau

A priori, une diminution du taux d'humidité au cours de la maturation est remarquable (Figure 1).

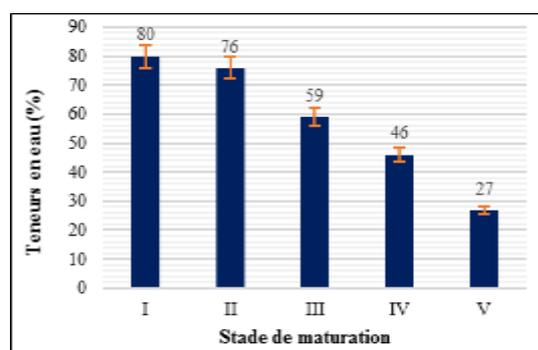


Figure 1. Evolution de la teneur en eau de la datte au cours de la maturation

Il est à noter que la chute maximale de la teneur en eau est atteinte lorsque les dattes passent du stade B'sser

au stade Martouba ($p < 0,05$). Une observation similaire est rapportée par Kanner *et al.* dont le travail a porté sur trois variétés de dattes irakiennes [11]. En effet, ce taux passe de 44 à 32 % MF, de 50 à 21 % MF et de 49 à 35 % MF, respectivement pour les variétés Halawi, Deglet-Nour et Khadraoui.

Généralement, pour les dattes demi-molles, cas de la variété Deglet-Nour, la teneur en eau varie entre 20 et 30 % [12].

3.2. Teneurs en lipides

La figure 2 montre l'évolution des lipides totaux de la datte au cours de la maturation. La teneur en lipides passe de 1,25 % Ms au stade Loulou à 6,33 % de Ms au stade Kh'lal. Cette quantité diminue au stade B'sser (3,65 % Ms) et au stade Martouba (2,56 % Ms) pour atteindre une valeur de 1,97 % Ms au stade T'mar ($p < 0,05$). Cette diminution serait probablement due à l'implication de ces lipides dans le brunissement non enzymatique avec les acides aminés. L'éventualité d'un début de rancissement est à retenir, sachant que ce dernier peut se développer à des taux de lipides qui soient supérieurs à 5 % [5].

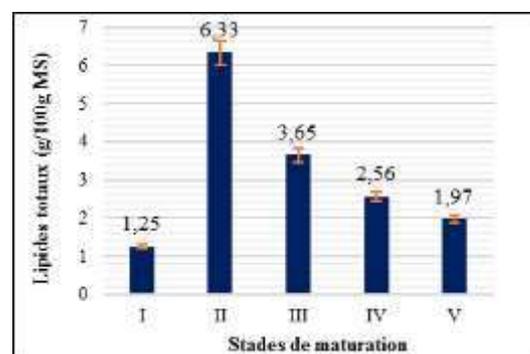


Figure 2 : Evolution de la teneur en lipides totaux de la datte au cours de la maturation.

3.3. Teneurs en acide gras

La comparaison des valeurs du tableau 1 montre la présence de plusieurs acides gras ; dont les plus importants sont : les acides myristique, palmitique, stéarique, oléique, linoléique et linoléinique, respectivement avec des teneurs moyennes de 5,66 % MG, 7,89 % MG, 10,47 % MG, 10,74 % MG, 11,47 % MG et 12,23 % MG au stade Tamar.

L'évolution des acides gras oléique, linoléique et linoléique au cours de la maturation est presque similaire : leurs teneurs sont respectivement de 10,89 % MG, 11,54 % MG et 12,32 % MG au stade Loulou, puis diminuent légèrement au stade T'mar (10,47 % MG, 11,47 % MG et 12,23 % MG).

Pour les autres acides gras (myristique, palmitique et stéarique), une élévation est observée lors du passage du stade Loulou vers le stade Kh'lal, suivie d'une faible diminution vers le stade Martouba et enfin un faible accroissement est remarqué au stade T'mar.

A priori, il faut retenir la présence des deux (2) acides gras essentiels : les acides linoléique et linoléique (Vit. F). Généralement, leur oxydation est assurée par la lipoxigénase.

Généralement, dans les fruits et légumes, la lipoxigénase initie la formation des aldéhydes. Ainsi, elle est la cause de la production de l'hexanal à partir des acides linoléique et linoléique [13].

Tableau 1
Teneurs des acides gras de la datte au cours de la maturation

Acide Gras (% MG)	Stade I	Stade II	Stade III	Stade IV	Stade V
Acide myristique	5,74	5,80	5,84	5,85	5,66
Acide palmitique	7,4	7,84	7,90	7,92	7,89
Acide stéarique	10,27	10,36	10,48	10,50	10,47
Acide oléique	10,89	10,84	10,81	10,80	10,74
Acide linoléique	11,54	11,54	11,52	11,50	11,47
Acide linoléique	12,32	12,32	12,31	12,30	12,23

En effet, il est connu que les acides gras polyinsaturés interviennent dans des réactions d'oxydo-réduction qui engendrent une diminution de la qualité nutritionnelle. Les vitesses d'oxydation des lipides les plus faibles sont observées lorsque l'eau ne forme qu'une monocouche sur les sites de fixation, c'est à dire pour des activités d'eau comprises entre 0,2 et 0,3 [14]. La vitesse croît rapidement pour des activités proches de zéro. Il faut veiller à ne pas dépasser trop loin la déshydratation ; or la datte Deglet-Nour a tendance à perdre beaucoup d'eau au cours de la maturation (un taux de chute moyen de l'humidité de 72,5 %). La plus grande part de l'oxygène est utilisée pour l'oxydation des deux acides gras linoléique et linoléique en hydroperoxydes (sous forme libre ou de monoglycérides) [15].

Aussi, dans le cas de la datte, il faut prendre en considération le cas des polyphénoloxydases, catalyseurs de l'oxydation des phénols qui, par leurs propriétés antioxygènes, exercent un effet inhibiteur sur la lipoxigénase et rentrent en compétition avec cette dernière pour l'utilisation de l'oxygène [16].

D'autres théories ont proposé que le brunissement non enzymatique augmente durant l'auto-oxydation des lipides, à partir de la polycondensation aldolique des aldéhydes avec la base de Schiff aldéhyde-amine [17]. Aussi la réactivité des hydroperoxydes est responsable de la détérioration des bio-membranes dans un système biologique [18]. On peut distinguer schématiquement les molécules qui en dérivent sous la rupture des chaînes hydrocarbonées ou après rupture de celles-ci. Les premières peuvent être responsables de la saveur particulière et les secondes d'odeurs, puisque leurs chaînes carbonées, plus courtes, les rendent volatiles. Les molécules dérivées, sans rupture de chaîne, sont formées par l'intermédiaire de divers enzymes (telle que la lipoxigénase) et sont souvent responsables de goûts amers [19].

L'oxydation enzymatique concerne surtout les acides gras libres polyinsaturés comme le linoléate et le linoléinate [20].

D'un autre côté, les molécules souvent volatiles, dérivées des hydroperoxydes après rupture de la chaîne carbonée et remaniement par réduction et isomérisation, ont une grande diversité de structure, et sont également susceptibles de réagir avec les chaînes latérales de certains résidus d'acides aminés : les aldéhydes avec le groupement aminé de la lysine, les époxydes avec les fonctions acides de l'aspartate et glutamate [21]

3.4. Teneurs en protéines

La teneur en protéines est évaluée au cours des quatre (4) stades de maturation (excepté le stade Loulou). Une diminution progressive des teneurs en protéines lors de la maturation du fruit est relevée (Figure 4).

En effet, la teneur en protéines passe de 2,63 % Ms au stade Kh'lal à 1,25 % Ms au stade T'mar ($p < 0.05$).

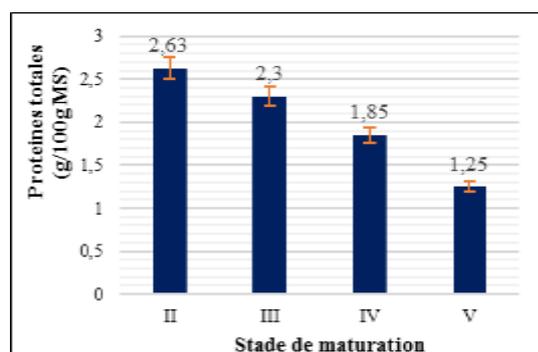


Figure 4 : Évolution de la teneur en protéines au cours de la maturation.

A titre comparatif, la teneur en protéines des pommes, des poires, des figes, des abricots, des cerises et des prunes varie entre 0,5 % Ms et 1,5 % Ms [15]. Ainsi, les péricarpes des fruits sont, d'une manière générale, pauvres en protéines. A ce titre, la littérature rapporte que les protéines végétales sont généralement moins bien pourvues en acides aminés indispensables que les protéines animales.

De plus, pour être disponibles, c'est à dire susceptibles d'être absorbés et utilisés par l'organisme afin de participer aux différentes synthèses protéiques, les acides aminés des protéines alimentaires doivent être rapidement libérés dans la partie antérieure du tube

digestif sous l'action des enzymes protéolytiques ; or la digestion et l'absorption peuvent être ralenties par différents facteurs. En effet et dans la datte, la présence de constituants glucidiques en serrant les macromolécules protéiques, peuvent freiner leur accessibilité aux enzymes digestives. Aussi, les tanins agissent avec les protéines par formation des liaisons covalentes, en donnant des complexes difficiles à hydrolyser par les protéases [16].

3.5. Teneurs en acides aminés

Le dosage a révélé l'existence de plusieurs acides aminés dans la datte (Tableau 2).

A priori, la baisse des taux d'acides aminés au cours de la maturation de la datte est confirmée

Tableau 2

Teneurs des acides aminés de la datte au cours de la maturation

Stade de maturation de la datte	Stade II	Stade III	Stade IV	Stade V
A. aminés totaux (mg/100g de matière sèche)	169,95	165,41	105,85	72,23
A. Gamma amino butyrique	106,02	70,65	68,13	28,44
Arginine	18,32	46	1,6	7,2
Glycine	15,85	19,48	12,21	15,46
Alanine	2,6	14,22	2,06	0,87
Valine	0,72	0	1,36	7,55
Leucine	7,04	0,46	7,7	0,85
Acide aspartique	8,7	2,65	2,52	0,78
Méthionine	0,32	6,07	2,5	0,38
Phényl alanine	2,34	0,39	4,6	2,12
Lysine	1,15	3,35	1,49	5,36
Isoleucine	0,64	0,09	0,57	0
Tyrosine	1,65	0,94	0	0,55
Acide glutamique	2,07	0,66	1,11	0,74
Sérine	2,53	1,12	0	1,98

Le taux d'acides aminés passe de 196,95 mg/100 g de M.S au stade Kh'lal à 72,23 mg/100 g de MS au stade T'mar. D'ailleurs, la teneur en acides aminés de la datte à ses différents stades de développement s'est révélée être très hétérogène quantitativement. En effet, parmi les acides aminés identifiés, seulement cinq (5) s'avèrent être présents à des teneurs importantes (glycine, acide γ -amino butyrique, arginine, valine et lysine). D'autre part, les acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont présents. Néanmoins, le taux de la phénylalanine seule est assez élevé comparée à la tyrosine, alors que le taux de la méthionine (acide aminé soufré) est faible.

Il faut rappeler que dans la datte, les acides aminés et les protéines sont des constituants peu importants sur le plan quantitatif, ils ne présentent pas un intérêt nutritionnel prépondérant, mais constituent souvent un critère de qualité intéressant car ils sont impliqués dans la réaction de Maillard. Il s'agit d'une réaction survenant habituellement lorsque les sucres réducteurs sont au contact avec les acides aminés, sous forme libre ou protidique. Elle se traduit immédiatement par un préjudice nutritionnel, étant donné que l'acide aminé engagé par une liaison d'addition avec un sucre est aussitôt rendu indisponible. Ce phénomène est redoutable dans tous les produits à humidité faible (surtout 5 à 15 % d'eau) [22].

Par ailleurs, les acides aminés de la datte sont principalement impliqués dans la glycolyse [23], les fonctions amines provenant d'acides aminés libres ou de chaînes latérales sur des protéines (lysine, arginine, glutamine) forment des liaisons covalentes avec la fonction aldéhydique ou cétonique terminale pour former une aldosamine ou une cétosamine. Les pertes en acides aminés peuvent être très considérables [24]. D'autre part, les produits résultants de ces réactions influent de façon très sensible sur l'évolution et la couleur du fruit (réaction de Maillard) [25].

Sur le plan pratique, la réaction étant équimoléculaire entre les sucres et les acides aminés, le facteur limitant en est indiscutablement la faible concentration en acides aminés et en peptides solubles. A titre d'exemple, la variété Tunisienne Kentichi présente une très faible teneur en acides aminés dénotant une bonne aptitude à la conservation et se caractérise par une coloration très claire [26].

Il a été suggéré que l'unique voie possible du brunissement non enzymatique dans la datte était la

condensation des acides aminés-sucres réducteurs qui produisent des composés carbonyles volatiles responsables de la saveur [27]. Ainsi, dans d'autres cultivars riches en sucres réducteurs, le brunissement non enzymatique développe un goût caramel plus intense que dans la Deglet-Nour [28]. Seulement, les interactions entre les lipides et les protéines dans les produits végétaux revêtent une grande diversité due à la multitude des lipides et des protéines impliquées, mais aussi à la variété des matières premières et des processus technologiques concernés [29]. D'ailleurs, lorsque le brunissement provenant de l'interaction acide aminé-sucres augmente, le brunissement induit par la polycondensation de la base de Schiff provoqué par les lipides, diminue [11].

4. Conclusion

Il n'existe pratiquement pas d'industrie agro-alimentaire qui ne soit, d'une manière ou d'une autre, concernée par la réaction de Maillard et ses conséquences nutritionnelles ou organoleptiques.

Selon les résultats, il s'avère difficile de négliger la fraction lipidique dans la datte vue son importance dans les phénomènes d'oxydoréduction. En effet, la plupart des constituants lipidiques sont oxydables à degré divers. Aussi, l'étude des acides aminés de la datte a été entreprise afin de connaître la composition analytique en acides aminés. Les résultats présentés ne sont pas évidemment suffisants pour conclure de façon formelle au développement des réactions de type Maillard.

En définitif, ces observations montrent que toutes les connaissances portant sur les lipides et les protéines de la datte, à savoir leur interaction, ainsi que leur réaction avec les quinones sont très souhaitables afin de mieux savoir maîtriser les paramètres technologiques et définir un processus idéal pour le stockage et la conservation de la datte.

Références

- [1] Reynes M., Bouabidi H., Piombo G. and Risterucci A. M., Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région du Djérid en Tunisie, *Fruits*, 49 (1994) 289-298.
- [2] Al-Shahib W. and Marshall R. J., The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future?. *International journal of food sciences and nutrition*, 54 (2003) 247-259. <https://doi.org/10.1080/09637480120091982>
- [3] Gargouri M., Akacha N. B., Kotti F. and Rejeb I. B. Voie de la lipoxygénase: valorisation d'huiles végétales et biosynthèse de

- flaveurs. (2008). BASE. B. [En ligne] disponible sur URL : <https://popups.uliege.be/443/1780-4507/index.php?id=2392>
- [4] Wautier M. P., Tessier F. J. and Wautier J. L., Les produits de glycation avancée: un risque pour la santé humaine, *Annales pharmaceutiques françaises*, 72 (2014) 400-408. elsevier Masson. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2014.05.002>
- [5] Fritsch C.W., Lipid oxidation – the other dimensions , *Inform*, 5 (1994) 423–436.
- [6] Benchabane A., « *Composition biochimique de la datte (Deglet-nour)* », Doctoral dissertation, INA.(2007). Disponible sur URL : http://dspace.ensa.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/189/1/benchabane_a.pdf
- [7] Crouzet J., *Arômes alimentaires*. Ed. Techniques Ingénieur. 2004
- [8] Harrak H. and Boujnah M., Valorisation technologique des dattes au Maroc. (2012). INRA édition. Disponible sur URL : https://www.inra.org.ma/sites/default/files/publications/ouvrages/v_alorisdattes12.pdf
- [9] Lecoq R., *Manuel d'analyses alimentaires et d'expertises usuelles*, 938p. Ed. Doin, Deren et Cie, Paris. (1965)
- [10] Audigie P., Figarella A. and Zonzain N., Manipulation d'analyses biochimiques, éd. Doin, Paris, (1984) 274p.
- [11] Kanner J., El Maleh, Reveni O. and Ben-gera I., Ivertase (*B*-fructosidase) activity in three dates cultivars, *J. Agric. Food Chem.*, 26 (1978) 1238-1240. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf60219a025>
- [12] Mustafa A.B., Harper D.B. and Johnson D.E., Biochemical changes during ripening some Sudanese date varieties, *J. Sci. Food Agric.*, 37 (1986): 43-53. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740370107>
- [13] Acar N. and Lecerf J. M., Peroxydation in vivo et in vitro des acides gras polyinsaturés, *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 42 (2007) : 260-265. [https://doi.org/10.1016/S0007-9960\(07\)73935-4](https://doi.org/10.1016/S0007-9960(07)73935-4)
- [14] Labuza M. and Bolin D., Stability of intermediate moisture foods. 1. Lipid oxidation, *J. Food. Sci.*, 37 (1972) 54-159. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1972.tb03408.x>
- [15] Vivas N., Bourgeois G., Glories Y. and Vitry C., Identification par spectrométrie de masse des produits formés par autoxydation de l'acide linoléique en milieu hydroalcoolique, *Sci. des aliments*, 15 (1995) 49-58. Disponible en ligne : <https://www.demptos.fr/app/uploads/2018/04/ART026.pdf>
- [16] Nicolas J. and Drapon R., Nordihydroguaiaretic acid and butylated hydroxytoluene as inhibitors of purified lipoxygenase from horse bean (*vicia faba* L.), *Rivista Italiana dell Sostanza Grasse*, 54 (1977): 284-288.
- [17] Godon F. Protéine végétale, *APRIA*, (1982) 502.
- [18] Norman M.S. and Fousse C.D., Changes in total volatile aldehyde content with storage of *Deglet-Nour* dates, *Agric. Chem.*, 25 (1977): 686-688. <https://doi.org/10.1021/jf60211a047>
- [19] Gardner H.W., Lipid Hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids: Areviov symposium of lipoxygenase, *J. agri. Food chem.*, 27 (1978): 129-135. <https://doi.org/10.1021/jf60222a034>
- [20] Ould Hamouda H., « *Impact de la qualité des protéines et des lipides du régime de renutrition sur la composition en acides gras, la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation, chez les rats âgés Wistar souffrant de malnutrition* » Thèse de Doctorat.(2015) : Disponible en ligne : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01297046/document>
- [21] Collin, S. and Crouzet J., Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire, (2011) : Lavoisier.
- [22] El Kadiri I., « *Contribution à l'amélioration de l'utilisation alimentaire du tourteau de canola : Décoloration par du peroxyde d'hydrogène et impact sur le produit* » (2012) : Thèse de Doctorat Laval. Laval. (2012) : Disponible sur URL : <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.428.2151&rep=rep1&type=pdf>
- [23] Kalonji E., Dumas C. and Berta J. L., Acides gras de la famille oméga 3 et système cardiovasculaire : intérêt nutritionnel et allégations. France : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. (2003). Disponible sur URL personnel : <https://cprv.pagesperso-orange.fr/omega3.pdf>
- [24] Delacharlerie S., de Biourge S., Chèné C., Sindic M. et Deroanne C., *HACCP organoleptique : Guide pratique*. Presses Agronomiques de Gembloux. (2008).
- [25] Ben Thabet I., Francis F., de Pauw E., Besbes S., Attia H., Deroanne C. & Blecker C., Characterisation of proteins from date palm sap (*Phoenix dactylifera* L.): by a proteomic approach, *Food chemistry*. 123 (2010): 765-770. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.024>
- [26] Schlienger J.L., *Médicale courante : 55 fiches repas téléchargeables*. 3e édition Elsevier Health Sciences. (2020) : ISBN 13 : 9782294769764
- [27] Adrian J., Rabache M. et Frangne R., Eventualité d'une réaction de Maillard dans les boissons, *Sci. Aliments*, 2 (hors-série 1), (1982) : 1-11.
- [28] Reynes M., Bouabid H., Piombo G., Risterucci A.M., Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région de Djerid en Tunisie, *Fruits*, 49 (1994)289-298.
- [29] Elodé K.E., Dornseifer T.P., Keith E.S., Powers J. J., In: Norman M.S. & Fousse C.D., Changes in total volatil Aldehyde content with storage of *Deglet-Nour* dates, *J. Agric. Food Chem.*, 25 (1977): 686-688. <https://doi.org/10.1021/jf60211a047>

Soumis le: 04/10/2019

Forme révisée acceptée le: 21/01/2021

Correspondant: meziani_samira@yahoo.fr



**Revue
Nature et Technologie**

<http://www.univ-chlef.dz/revuenatec>

ISSN : 1112-9778 – EISSN : 2437-0312

Inhibition de l'oxydation de l'huile de Tournesol produite en Algérie par les produits de Maillard

MEZIANI Samira^{a,*}, MENADI Noureddine^a, HAOUD Khadidja^a, MEHIDDA Hayet^a,
BENATTOUCHE Zouaoui^b, BENALI Mohammed^a

^a Laboratoire de Biotoxicologie, faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Djillali-Liabès. Sidi Bel Abbès. Algérie

^b Laboratoire de Biochimie. Université de Mascara

Résumé

Depuis sa mise en évidence, la réaction de Maillard a été utilisée depuis de très nombreuses années pour produire des aliments qui paraissent attractifs pour les consommateurs ; elle peut conduire à la formation de couleur, favoriser la formation de saveurs agréables ou bien devenir rance et produire de composés antioxydants ou de composés toxiques. L'objectif de ce travail est de synthétiser les produits de Maillard, d'étudier le pouvoir antioxydant de ses produits dans la lutte contre l'oxydation des lipides dans l'huile de Tournesol, de contrôler l'évolution de l'oxydation produite lors de stockage et finalement de comparer l'effet des produits de synthèse obtenus par l'effet antioxydant de l'acide citrique. Pour ce, on a comparé l'effet protecteur de l'acide citrique et les produits de la réaction de Maillard, issus des solutions aqueuses Glucose/AC Aminé chauffées dans différentes conditions de température, de la durée et de la concentration des solutions. Le développement de la réaction de Maillard est évalué par spectrophotométrie à 420 nm. Nous avons remarqué que plus la couleur est importante et plus intense, plus la réaction est avancée. L'analyse de l'acidité et l'indice de peroxyde, nous a permis d'évaluer l'oxydation des lipides de l'huile additionnée de différents modèles de produits de Maillard. L'oxydation des lipides évolue différemment en fonction des couples Glucose/acide aminé (Substrats de Maillard), dont certains possèdent une activité antioxydante vis-à-vis des lipides dans les huiles végétales. Ainsi, le traitement appliqué à l'huile de tournesol, a provoqué une détérioration de haut niveau avec développement de la rancidité oxydante et ce qui met en relief l'avantage que peuvent présenter les produits de Maillard et élucident leur potentiel antioxydant. Des pertes significatives dans l'acide gras essentiel étaient également évidentes dans l'huile de tournesol soumise à un traitement thermique.

Mots-clés : Huile végétale ; Réaction de Maillard ; Capacité antioxydante ; Oxydation des lipides

Inhibition of Sunflower oil oxidation produced in Algeria by Maillard's products

Abstract

Since its discovery, The Maillard reaction was used since many years to produce foods which seem attractive to consumers; it can lead to the formation of colour, support the training of pleasant flavours or to become rancid and produce antioxidant compounds or toxic compounds. The aim of this work is to synthesize Maillard products, to study their antioxidant activity of against lipid oxidation of sunflower oil, and to control the evolution of oxidation during storage and compare the effect of synthetic products by the antioxidant effect of citric acid. We compare the protective effect of the citric acid with Maillard reaction products, resulting from the aqueous solutions Glucose/Amino acid heated under various conditions of temperature, Aw, incubation time and the concentration of the solutions used. The development of the reaction of Maillard was evaluated by spectrophotometry at 420 nm. Thus, the more important the colour is and more intense, plus the reaction is advanced. The analysis of acidity and the peroxide index, enabled us to evaluate the oxidation of the lipids of the oil added with different model of the Maillard products. It seems that the lipid oxidation products evolution depends on the Glucose/amino acid couples/ (Substrates of Maillard), in which some may exhibit antioxidant activity on lipid oxidation in vegetable oils. The treatment applied to sunflower oil, has caused a deterioration of high level with development of oxidative rancidity and allow in relief the advantage that can present the products of Maillard and elucidate their antioxidant potential. Significant losses in the essential fatty acid were also evident in sunflower oil subjected to heat treatment.

Keywords: Vegetable oil; Reaction of Maillard; antioxidant Capacity; Oxidation of the lipids.



Ceci est un document en libre accès selon les termes de [Creative Commons Attribution License CC-BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), ce qui permet de le partager, copier, reproduire, distribuer, communiquer, réutiliser ou de l'adapter avec l'obligation de créditer son auteur.

1. Introduction

Les huiles végétales jouent un rôle essentiel dans notre alimentation. Elles assurent tout d'abord une fonction nutritionnelle : elles contribuent à l'apport d'énergie, sont sources d'acides gras indispensables, en particulier d'acide linoléique (et participent à l'apport et au transport de vitamines liposolubles (dont E, D) et d'autres constituants d'intérêt nutritionnel comme des phytostérols ou des composés phénoliques [1]. Le principal type d'huile à l'échelle mondiale est l'huile de tournesol, représentent 80 % de la production mondiale dont une teneur élevée en acides gras mais sensibles à l'oxydation [2]. L'huile de tournesol est une huile comestible de haute qualité, il présente un bon profil nutritionnel, avec une mauvaise stabilité à l'oxydation et est donc sujet à une détérioration des arômes en raison de leur forte proportion d'acides gras insaturés, en particulier l'acide linoléique [3]. Il est utilisé dans la cuisson, la friture et dans la fabrication de la margarine. L'huile de tournesol a été choisie dans cette étude en raison de son utilisation élevée dans les aliments, car il est une riche source d'acide linoléique [4]. De plus, il présente un goût et une apparence légers et présente une teneur élevée en vitamine E par rapport aux autres huiles végétales [5]. L'oxydation des lipides est responsable d'une diminution progressive nutritionnelle et sensorielle des lipides [6]. L'oxydation des acides gras non saturés est l'une des principales causes du développement de composés non aromatisants et de la réduction de la valeur nutritive des produits alimentaires [7]. L'huile de Tournesol, comme la plupart des huiles végétales, se compose de triacylglycérols (98-99%) et une faible fraction de phospholipides, tocophérols, caroténoïdes, stérols, et des cires. Elle se caractérise par une forte concentration d'acide linoléique, suivie d'acide oléique [8]. L'oxydation des lipides (dans les aliments de nature lipidique), constitue toujours un risque majeur et un problème répandu dans les industries agro-alimentaires, pour la conservation de ces aliments, que ce soit pendant le transport pour la commercialisation ou au cours du stockage de ces derniers obtenus pendant une période (grasse) pour les utiliser en période (maigre). Les antioxydants naturels et synthétiques sont utilisés pour retarder la détérioration oxydative des lipides surtout des huiles végétales raffinées sensibles à l'oxydation [9].

En ce sens différents travaux rapportent, très récemment que la réaction de Maillard (RM) qui contribue à l'arôme appréciable de nombreux produits alimentaires, a la particularité avantageuse d'être source de produits munis d'un pouvoir antioxydants vis-à-vis des lipides. Sa capacité de former des composés antioxydants et antimicrobiens d'un côté et d'un autre côté, les produits de la réaction de Maillard (PRM) comporteraient des composés susceptibles d'être mutagènes ou cancérigènes à forte dose [10]. Ces produits confèrent aux aliments des propriétés, le plus souvent intéressantes, telles que la couleur, l'arôme, la valeur nutritionnelle, et une certaine stabilité au cours de la conservation grâce à leur pouvoir antioxydant [11]. En réalité, L'auto-oxydation lipidique et le stockage non adéquat favorisent la détérioration et la réduction des de la durée de conservation des huiles végétales, entraînant ainsi des changements organoleptiques (couleur, texture, odeur et des pertes de saveur) et certains composés tel que les vitamines [12]. La réaction de Maillard est un ensemble complexe de réactions se produisant lors du chauffage et initiée par l'addition d'une fonction amine sur une fonction carbonyle. Cet ensemble de réactions, appelé encore « brunissement non-enzymatique », conduit à la formation d'une multitude de composés aux propriétés aromatiques et colorantes. Ce phénomène, influencé par un certain paramètre tel que, la teneur en eau, le pH, la concentration des réactifs, la température et le temps de chauffage peuvent avoir des effets néfastes notamment sur la qualité nutritionnelle de l'huile au cours de leur stockage [13]. Ce travail a pour objectif de synthétiser d'abord les produits de Maillard, d'étudier ensuite le pouvoir antioxydant de ses produits dans la lutte contre l'oxydation des lipides de l'huile de Tournesol, de contrôler l'évolution de l'oxydation produite lors de stockage et enfin de comparer l'effet des produits de synthèse par l'effet antioxydant de l'acide citrique.

2. Matériel et Méthodes

L'huile végétale raffinée commerciale issue des graines de Tournesol à 100 (%), est traitée technologiquement à l'unité de Sig (Filière de l'Entreprise Nationale des Corps Gras ENCG à Mascara, Algérie. L'objectif de cette première étape est de mettre en évidence le pouvoir antioxydant des produits de la

réaction de Maillard issus de plusieurs modèles ose/acide aminé, en remplacement de l'acide citrique utilisé à l'industrie. Pour réaliser ce travail, nous étions amenés à la synthèse de mélanges selon les Modèles (ose/acide aminé) en suivant certaines conditions (température, pH et temps). Ces modèles ont été choisis selon la nature et la fonction des acides aminés : Glycine (Gly), valine (Val), histidine (His), tryptophane (Trp), lysine (Lys), cystéine (Cys), acide aspartique (Asp) et le sucre réducteur (glucose). L'avancement de la réaction s'effectue par la mesure de densité optique. Les produits synthétisés dans des conditions favorables au déroulement de la réaction de Maillard sont destinés pour l'inhibition de l'oxydation de l'huile de Tournesol utilisée sans antioxydant en comparant cet effet par l'effet inhibiteur de l'acide citrique.

2.1. Les différents modèles des produits de la réaction de Maillard

Toutes les manipulations ont été effectués au niveau de laboratoire de Biochimie du Département de Biologie à l'Université de Sidi Bel Abbés. Algérie. Dans la première étape on contribue à la synthèse des produits de la réaction de Maillard, Selon la disponibilité des acides aminés, on a pu effectuer 07 Modèles de la synthèse de Maillard pour notre étude. Ces Modèles ont été obtenus par la combinaison des acides aminés avec le sucre réducteur (Glucose) dans des conditions favorables à cette réaction. Modèle 1 : Glucose/Glycine. Modèle 2 : Glucose/Valine. Modèle 3 : Glucose/Histidine. Modèle 4 : Glucose/Tryptophane. Modèle 5 : Glucose/Lysine. Modèle 6 : Glucose/Cystéine. Modèle 7 : Glucose/Ac Aspartique. La nature et les fonctions des acides aminés utilisés pour chaque modèle peuvent entraîner la synthèse des différents produits de Maillard (différents prémélanoidines).

2.2. Méthode de synthèse des produits de la réaction de Maillard

Le choix de la quantité des produits obtenus est basé sur des essais préliminaires dans lesquels nous avons utilisé plusieurs doses pour maintenir les conditions favorables au déroulement de la réaction. Dans la première étape, On prépare pour chaque modèle, de même volume des quantités équimoléculaires d'un

mélange composé de 0,1 mole de glucose et de l'acide aminé. Une solution tampon de pH 8est ajoutée afin d'assurer l'activité optimale pour le déroulement de la réaction de Maillard ($a_w = 0.7$). Placer les échantillons dans l'étuve à 120 °C pendant 120 mn. Pendant ce temps, l'avancement de la réaction de Maillard a était évalué par la mesure du pH, mesure de l'absorbances à 420 nm et par la détection de la couleur pour chaque Modèle en fonction du temps, à partir de 30 mn et pendant 120 mn. La réaction est beaucoup plus rapide à 120 °C. L'élévation de température est donc favorable à la réaction de Maillard. Selon une étude de [15], La réaction peut avoir lieu entre 0 et 150 °C, La vitesse du brunissement non enzymatique est au maximum à une activité de l'eau comprise entre 0.55 et 0.75 et le pH est de 6 à 8 pour la condensation de Maillard. Après un séchage à 120 °C pendant 120 mn, les échantillons sont ensuite refroidis. Dans la deuxième étape on mesure la densité optique de chaque modèle dilué à 1/10 effectués dans un intervalle de longueurs d'onde de 400 à 500 nm, afin de qualifier les produits de Maillard.

2.3. Préparation des échantillons

Les produits synthétisés dans des conditions favorables au déroulement de la réaction de Maillard sont destinés pour l'inhibition de l'oxydation de l'huile de Tournesol utilisée sans antioxydant. Un volume de 2 ml qui a été estimé d'une solution de chaque modèle dans 1 litre d'huile de Tournesol sans antioxydant. Les échantillons sont présentés comme suite :

- Échantillon A : Huile ajouté du produit de Maillard issus du modèle 1 ;
- Échantillon B : Huile ajouté du produit de Maillard issus du modèle 2 ;
- Échantillon C : Huile ajouté du produit de Maillard issus du modèle 3 ;
- Échantillon D : Huile ajouté du produit de Maillard issus du modèle 4 ;
- Échantillon E : Huile ajouté du produit de Maillard issus du modèle 5 ;
- Échantillon F : Huile ajouté du produit de Maillard issus du modèle 6 ;
- Échantillon G : Huile ajouté du produit de Maillard issus du modèle 7.

En favorisant les conditions expérimentales pour déclencher l'oxydation des lipides (l'air, la lumière et la

chaleur à 150 °C), les échantillons ont été homogénéisés pendant 10 min, refroidi et sont soumis à être analysés. Au cours de stockage de l'huile, la mesure des indices a été réalisée tous les sept jours pendant 21 jours afin de poursuivre l'évolution de l'huile.

2.4. Détermination des paramètres chimiques

La valeur de peroxyde a été estimée iodométriquement utilisant du thiosulfate de sodium et exprimé selon Afnor des corps gras et graines oléagineuses qui est de 5 milliéquivalents d'O₂ actif/kg, (1988). L'indice d'acide a été étudié par Titration alcalimétrique et exprimé en mg KOH.g⁻¹ d'huile (AOCS Official Method Cd 3d-63 1993).

3. Résultats

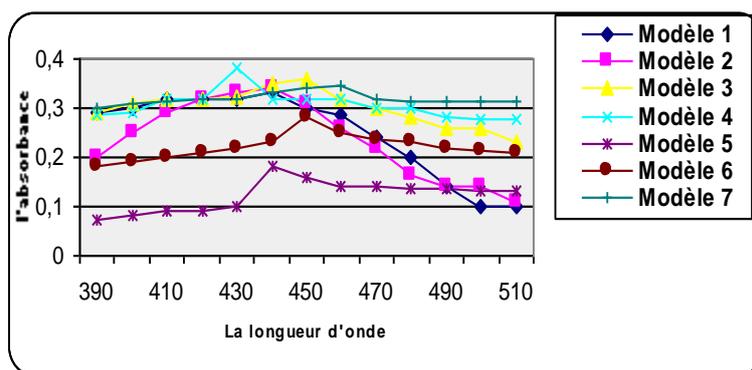
3.1. La synthèse des produits de la réaction de Maillard

Pendant le déroulement et au stade final de la réaction, nous observons que les Modèles (01, 02, 03, 07) représentent une couleur brune peu intense, un arôme proche du caramel et à l'apparition de composés insolubles qui peuvent être des mélanoidines caractéristiques de la réaction de Maillard. La couleur des produits issus du modèle (Glucose/Lysine) est plus intense, Cette caractéristique est spécifique pour ce type

de réaction de brunissement non enzymatique. Plus elle est importante, plus la réaction est avancée. Les produits de la réaction issus des modèles (Glucose/Ac Aspartique) et le (Glucose/Cystéine) présentent une couleur orange moins intense.

3.2. L'analyse qualitative des produits de la réaction de Maillard

Les produits issus du modèle Glucose/Lysine et du modèle Glucose/tryptophane enregistrent des densités optiques respectivement, de 0,38 et 0,36 à des longueurs respectives de 430 et 470 nm. Ces valeurs sont considérées comme des densités optiques élevées et remarquables. La densité optique du modèle Glucose/Histidine est moins élevée qui est de l'ordre de 0,345 à la longueur d'onde 460 nm suivie par le modèle Glucose/Valine qui enregistre une absorbance de 0,34 à la longueur d'onde 440 nm puis par le modèle Glucose/glycine qui enregistre à 440 nm, une absorbance de l'ordre 0,33. Par contre la densité optique du modèle Glucose/cystine affiche une valeur de 0,28 à une longueur d'onde 450 nm suivi par le Modèle Glucose/Ac aspartique qui enregistre une absorbance de 0,18 à une longueur d'onde 440 nm (Figure 2). La formation des substances aromatisantes dépendent de la nature des acides aminés entrant dans la réaction.



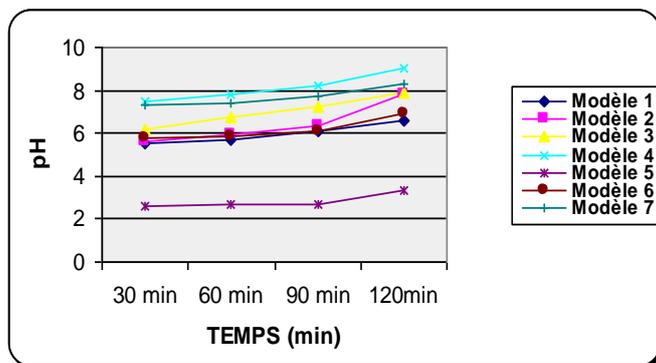
Modèle 1 : Glucose/Glycine ; Modèle 2 : Glucose/Valine ; Modèle 3 : Glucose/Tryptophane ;
Modèle 4 : Glucose/Lysine ; Modèle 5 : Glucose/Ac Aspartique ; Modèle 6 : Glucose/Cystéine ; Modèle 7 : Glucose/Histidine.

Figure 02 : Résultats de l'avancement des Produits de la réaction de Maillard en fonction des longueurs d'ondes.

3.3. L'analyse de pH

L'affichage de la forte valeur maximale en pH selon la (Figure 3) a été observé par le modèle Glucose/Lysine et qui est de l'ordre 9 à 120 mn. Par

contre les moindres valeurs en pH ont été remarquées par le modèle glucose/Ac Aspartique, et qui sont indiqués entre des pH 2,6 à 3,3.



Modèle 1 : Glucose/Glycine ; Modèle 2 : Glucose/Valine ; Modèle 3 : Glucose/Tryptophane ;
Modèle 4 : Glucose/Lysine ; Modèle 5 : Glucose/Ac Aspartique ; Modèle 6 : Glucose/Cystéine ; Modèle 7 : Glucose/Histidine.

Figure 03 : Résultats de l'analyse du pH des Différents Modèles en fonction de Temps.

3.4. Évaluation de l'indice d'acidité

Après un suivi effectué tous les 07 jours, les résultats révèlent au départ une augmentation progressive au cours de la conservation de l'huile. Après le 14^{ème} jours du stockage, l'acidité enregistre une diminution importante pour le témoin et pour les échantillons additionnés des modèles 1, 2, 3, 6, 7.

3.5. Évaluation de l'indice de peroxyde

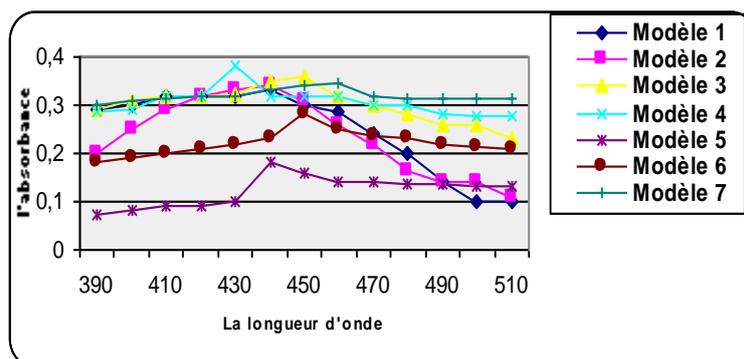
Les résultats illustrés dans la (Figure 04), montrent que dans le 1^{er} jour, que l'échantillon témoin présente un indice de peroxyde de 3,1 milliéquivalents d'O₂ actif/kg de l'huile. Cette valeur semble respectée par l'intervalle des normes exigées par AFNOR des corps gras et graines oléagineuses qui sont de 5 milliéquivalents d'O₂ actif/kg. Au départ, l'indice de peroxyde des échantillons de l'huile additionnée de produit de Maillard est presque similaire et ne diffère que légèrement par rapport au témoin, les valeurs sont aux normes et qui sont estimées entre 3 à 5 milliéquivalents d'O₂ actif/kg. Pour le modèle Glucose/Ac Aspartique qui marque une valeur importante dépasse les normes de cet indice.

4. Discussion

Dans la première approche, des essais préliminaires ont été basés par la synthèse des produits de Maillard issus des différents modèles (Glucose/ Ac Aminé), avec des conditions favorables aux mécanismes réactionnels. La valeur du pH, puis la mesure de l'absorbance de ces produits par le spectrophotomètre en fonction du temps sont nécessaires dans cette partie. Dans la deuxième approche, l'ensemble de ces mesures nous a permis d'appliquer sur l'huile végétale Tournesol dès la fabrication et au cours de sa conservation dans des conditions accélérées de l'oxydation, le suivi et l'évaluation avec précision en fonction du temps l'état d'oxydation des lipides de l'huile additionnées de produits des Maillard qui sont comparés par l'efficacité d'un agent anti-oxydant très utilisé qui est l'acide citrique. D'après [14], indique que la réaction de Maillard provoque la formation des substances aromatisantes qui dépendent de la nature des acides aminés entrant dans la réaction. Chaque acide aminé est susceptible de fournir de nombreux aspects favorables ou préjudiciables sur le plan organoleptique. On constate pour ce dernier paramètre, une évolution remarquable avec le temps et de température à 120 °C de différents produits de la réaction de Maillard qui apparaît évident avec l'apparition de la couleur

caractéristique de ces produits. [15], indiquent que le brunissement non enzymatique est d'autant plus important que la température est plus élevée et que la durée de la réaction est longue. Donc Les facteurs (Temps, Température, le mode de chauffage et le pH du milieu) constituent des paramètres importants pour le déroulement de la réaction. Le mécanisme réactionnel

des produits issus des modèles (01, 02, 03, 04, 07) était parfaitement évolué par l'avancement de l'absorbance à 420 nm en fonction du temps. Nous remarquons qu'à partir de 90 mn, le brunissement non enzymatique des produits issus du modèle (Glucose/lysine) est stable. Cette stabilité peut être expliquée par la réactivité particulière de l'un de ces composés (Figure 1).



Modèle 1 : Glucose/Glycine ; Modèle 2 : Glucose/Valine ; Modèle 3 : Glucose/Tryptophane ;
Modèle 4 : Glucose/Lysine ; Modèle 5 : Glucose/Ac Aspartique ; Modèle 6 : Glucose/Cystéine ; Modèle 7 : Glucose/Histidine.

Figure 01 : Résultats de l'avancement des Produits de la réaction de Maillard en fonction du temps.

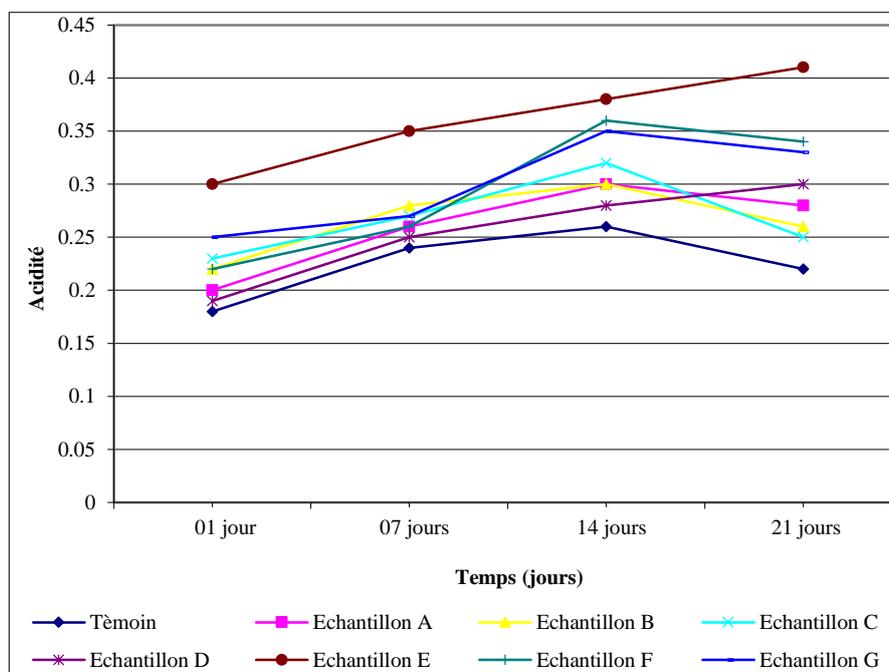
On peut expliquer, plus la couleur est importante et plus intense, plus la réaction est avancée. D'après nos résultats, chaque Modèle diffère par les densités optiques qui sont spécifiques des longueurs d'ondes bien précises, cette différenciation est probablement due à la composition chimique des substrats utilisés et/ou à la réactivité de l'un de ses composés. La composition chimique de la lysine, qui est l'acide aminé le plus facilement dégradé grâce à la présence de deux groupements aminés réactifs (acide amine basique) à contribuer au déroulement parfait de la réaction de Maillard plus particulièrement au mécanisme de la coloration (plus intense) de Maillard et à l'absorption remarquable à la longueur d'onde 430 (nm). La réactivité particulière de la lysine se trouve dans la plupart des réactions impliquant d'autres sucres réducteurs. Par contre le modèle Glucose/ac Aspartique affiche la moindre densité optique, et la faible intensité de la réaction observée au cours de la première étape, signifie son effet d'inhibition de la réaction. Ce qui indique que la plupart d'entre eux peuvent être engagés dans une réaction de Maillard [14]. Les différences de réactivité observées proviennent notamment de l'effet inhibiteur du groupement carboxylique sur le

groupement aminé qui augmente quand la distance entre ces deux groupements diminue. En plus, la différenciation des courbes indique que chaque milieu réactionnel dépend du couple (Glucose/Acide Aminé) qui est mis en jeu dans la condensation de Maillard, et montre aussi que le pH compris entre 6 et 8 favorisant la réaction de Maillard. Plus le pH est élevé, plus l'avancement de la réaction est important. En effet, une simple modification du pH peut facilement freiner ou accroître une réaction de Maillard et qui selon [6] indique que le milieu basique ($\text{pH} > 7$) favorise la réaction de Maillard. Si l'on modifie le pH, il est possible de freiner ou d'accroître cette réaction.

Concernant les indices, la plupart des huiles végétales de type huile de tournesol se composent principalement de triacylglycérols (98 à 99%) et d'une petite fraction de phospholipides, de tocophérols, de stérols. L'huile de tournesol se caractérise par une forte concentration en acide linoléique [4]. La diminution de la teneur en acide linoléique est utilisée comme indicateur d'oxydation des lipides. Le mécanisme d'oxydation des lipides change significativement et dépend fortement de la disponibilité en oxygène.

L'augmentation est due probablement à la présence des acides gras libres formés par l'hydrolyse des triglycérides. Le seuil d'acidité permettant d'affirmer qu'une matière grasse est lipolysée, car selon Sadoudi *et al.* [4], a montré que l'hydrolyse des corps

gras conduit à l'apparition d'acides gras libres et de glycérides partiels (Figure 4). Plusieurs travaux indiquent que les huiles qui sont plus insaturées, son oxydation plus facilement que moins insaturés [12].



Échantillon A : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 1 ; Échantillon B : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 2. Échantillon C : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 3 ; Échantillon D : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 4. Échantillon E : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 5 ; Échantillon F : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 6. Échantillon G : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle

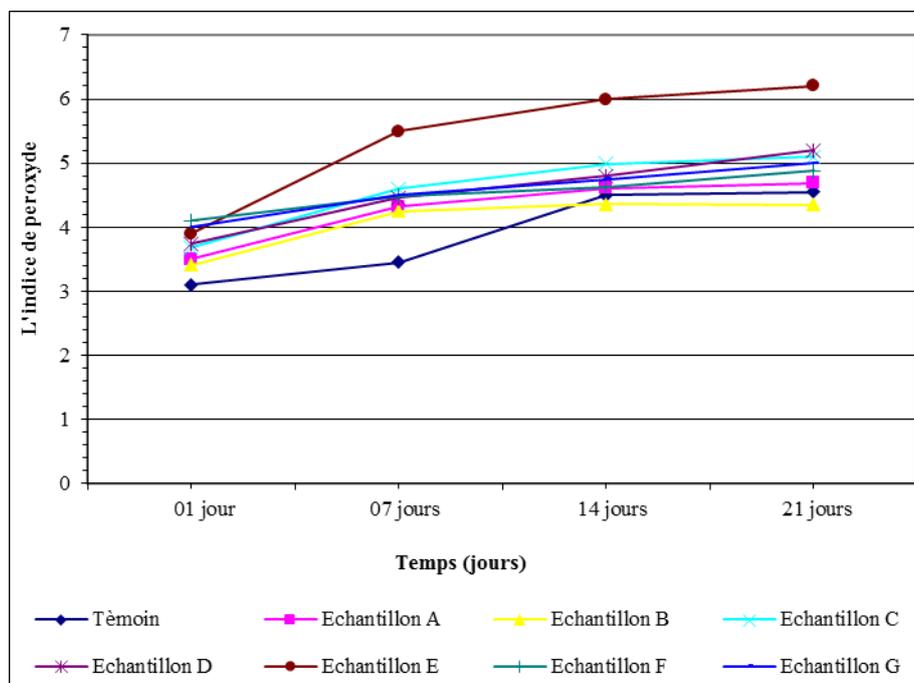
Figure 04 : Résultats de l'évolution de l'acidité (en % d'acide oléique) en fonctions de temps dans les échantillons de l'huile de tournesol Additionnée des différents modèles des produits de Maillard.

Les normes AFNOR, spécifiques aux corps gras et aux graines oléagineuses, exigent des taux d'acidité (acide oléique) de 0,2 %. Après le 14^{ème} jours du stockage, L'acidité enregistre une diminution importante pour le témoin et pour les échantillons additionnés des modèles 1, 2, 3, 6, 7. Bien que l'acide citrique utilisé comme antioxydant dans l'échantillon témoin, il apparaît évident de considérer les échantillons de l'huile de Tournesol issus des modèles Glucose/Glycine, Glucose/Valine, Glucose/Tryptophan, Glucose/Cystéine et Glucose/Histidine ont un rôle similaire que celui du témoin. Pour l'indice de peroxyde, Les résultats illustrés dans la (Figure 04), montrent que dans le 1^{er} jour, que l'échantillon témoin présente un indice de peroxyde de 3,1 milliéquivalents d'O₂ actif/kg de l'huile. Cette valeur semble respectée par l'intervalle des normes exigées par AFNOR qui sont de

5 milliéquivalents d'O₂ actif/kg. Dans nos résultats, au départ, l'indice de peroxyde des échantillons de l'huile additionnée de produit de Maillard est presque similaire et ne diffère que légèrement par rapport au témoin, les valeurs sont aux normes et qui sont estimées entre 3 à 5 milliéquivalents d'O₂ actif/kg. Contrairement à l'échantillon de l'huile additionnée du modèle Glucose/Ac Aspartique qui marque une valeur importante dépasse les normes de cet indice. Après le 14^{ème} jours de stockage, on remarque la diminution de cet indice presque dans tous les échantillons qui peuvent être expliqué par la transformation des peroxydes en aldéhydes et cétones volatiles (Figure 5). Dans une étude de [9] montre que, le produit de la réaction de Maillard est un antioxydant synthétique très puissant capable de supprimer la formation des peroxydes lors du stockage des huiles et de prolonger

leur durée de vie. On conclut de cette interprétation, que nos résultats mettent en relief l'avantage que peuvent présenter les produits de Maillard et élucident leur potentiel antioxydant, ce qui a été observé pour

l'échantillons de l'huile additionnée du modèle Glucose/Lysine.



E

Échantillon A : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 1 ; Échantillon B : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 2. Échantillon C : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 3 ; Échantillon D : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 4. Échantillon E : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 5 ; Échantillon F : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 6. Échantillon G : Huile ajoutée des produits de Maillard issus du modèle 7

Figure 05 : Résultats de l'évolution de l'indice de peroxyde (en meq d'O₂ / kg de l'huile) en fonctions de temps dans les échantillons de l'huile de tournesol additionnée des différents modèles des produits de Maillard

5. Conclusion

Dans cette étude, le traitement thermique et les conditions de stockage appliqués à l'huile de tournesol, a provoqué une détérioration de haut niveau avec développement de la rancidité oxydante. Il nous apparaît aussi que les produits de réactions de Maillard (PRM) sont des substances qui permettent de limiter l'évolution de l'acidité de l'huile et permettent en relief l'avantage que peuvent présenter ses produits et élucident leur potentiel antioxydant.

Références

- [1] Cuvelier M E., Maillard MN. Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. OCL, 19 (2) (2012) : 125-132. <http://dx.doi.org/10.1051/ocl.2012.0440>
- [2] AFNOR. Corps Gras, graines oléagineuses. Dans : produits dérivés-recueil de Normes Françaises, 4^{ème} édition. Tec et Doc 1988, Paris.
- [3] White JP. Fatty Acids in Oilseeds. In: C K Chow (Ed.): Fatty Acids in Foods and Their Health Implications. New York: Marcel Dekker Inc. 2000. 209-238.
- [4] Sadoudi R., Ammouche A. and Ahmed A., Thermal oxidative alteration of sunflower oil, African Journal of Food Science, 8 (3) (2014): 116-121. <https://doi.org/10.5897/ajfs12.112>
- [5] Shahidi F., Janitha PK. and Wanasundara PD., Phenolic antioxidants. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 32 (1992): 67-103. <http://dx.doi.org/10.1080/10408399209527581>

- [6] Hrádková I., Merkl R., Šmidrkal J., Kyselka J. and Filip V., Antioxidant effect of mono- and dihydroxyphenols in sunflower oil with different levels of naturally present tocopherols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115 (2013): 747–755. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201200293>
- [7] Hemalatha G. and Ghafoorunissa S., Sesame lignans enhance the thermal stability of edible vegetable oils, *Food Chemistry*, 105 (2007): 1076-1085. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.023>
- [8] Grompone MA. Sunflower oil. In: Shahidi F. (ed.): *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Edible Oil and Fat Products: Edible Oils*. 6th Ed. Vol. 2. John Wiley Sons, Inc., New York: 655–730.
- [9] Van Aardt M, Duncan SE, Long TE, O'Keefe SF, Marcy JE and Sims SR., Effect of antioxidants on oxidative stability of edible fats and oils: thermogravimetric analysis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2004) 52 (3) (2004): 587-591. <https://doi.org/10.1021/jf030304f>
- [10] Roux E., DEA Sciences Alimentaires, « Etude de l'inhibition de l'activité de la polyphénoloxydase », *Journal of biochemistry*, 2000, Paris. URL : <http://iaa.cnam.fr/recherche/roux-dea-466994.kjsp?RH=biochrechmem>
- [11] Cheftel JC., *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*. Volume1, technique et documentation, Lavoisier 1984, 82-83, Paris.
- [12] Milanez KD. and Pontes MJC., Classification of edible vegetable oil using digital image and pattern recognition techniques, *Microchemical Journal*, 113 (2014): 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.10.011>
- [13] Aladedunyea F. and Przybylski R., Frying stability of high oleic sunflower oils as affected by composition of tocopherol isomers and linoleic acid content, *Food Chemistry*, 141 (3) (2013): 2373–2378. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.061>
- [14] Perrin JL. Détermination de l'altération. Dans : *Manuel des corps gras*, Tec et Doc, Lavoisier 1992, 1198-1200, Paris.
- [15] Alais C. and Linden CJ., *Biochimie Alimentaire* : Dunod., 5^{ème} édition d'abrégé 2004, 60-226, Paris
-

Soumis le: 16/04/2018

Forme révisée acceptée le: 14/09/2020

Auteur correspondant: imanehamzaoui@live.fr



Revue
Nature et Technology

<http://www.univ-chlef.dz/revuenatec>

ISSN : 1112-9778 – E-ISSN : 2437-0312

La mise en culture des terres de parcours : Quantification d'une menace à la durabilité des écosystèmes forestiers du Moyen Atlas Central (cas de la province d'Ifrane, Maroc)

Imane HAMZAOUI^{a,*}, Najib GMIRA^a, Mohammed QARRO^b

^a Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences, Laboratoire de Biodiversité et Ressources Naturelles, Kénitra, 14000, Maroc.

^b Ecole Nationale Forestière d'Ingénieurs, Département de Développement Forestier, Salé, Maroc.

Résumé

La province d'Ifrane connaît une extension accélérée de la mise en culture des terres de parcours. Ce phénomène menace la durabilité des ressources forestières de cette zone, abritant la cédraie la plus étendue du Maroc. Malgré la reconnaissance des impacts négatifs du phénomène de la mise en culture sur les espaces forestiers de la province (dépérissement des arbres par écimage et ébranchage effectués par les bergers, dégradation du tapis herbacé des espaces forestiers, *etc.*), l'ampleur de ce phénomène reste à démontrer. Le présent article se propose de quantifier l'extension de la mise en culture aux dépens des terres de parcours, et d'analyser l'évolution et la dynamique de ce phénomène au cours du temps. La méthodologie adoptée s'appuie sur l'analyse diachronique de l'occupation du sol sur l'ensemble de la province d'Ifrane entre 1987 et 2012 sur la base des données satellitaires (images Landsat et Spot). Les cartes d'occupation du sol ont été produites à travers une classification supervisée par arbre de décision. Elles permettent, suite au calcul des superficies des occupations « parcours » et « terres cultivées », de mettre en évidence une réduction de la superficie des terres de parcours de 94446 ha, face à une augmentation des superficies occupées par les cultures de 94461 ha. La mise en culture s'étend avec un rythme moyen annuel de 3778,4 ha/an aux dépens des terres à usage pastoral collectif, conduisant à une perte annuelle de 616241,26 unités fourragères. Ces dernières sont compensées par la surexploitation du tapis herbacé et arbustif des parcours forestiers, mais aussi du feuillage des arbres forestiers par émondages, effectués par les bergers en période de disette (entre octobre et décembre).

Mots-clés : Mise en culture ; Parcours ; Moyen Atlas ; Analyse diachronique ; Dynamique ; Durabilité ; Ressources forestières.

Cultivation of rangelands: quantification of a threat to the sustainability of forest ecosystems in the Central Middle Atlas (case of Ifrane province, Morocco)

Abstract

The province of Ifrane is experiencing an accelerated extension of the cultivation of rangelands. This phenomenon threatens the sustainability of the forest resources of this area, where the most extensive cedar forest in Morocco. Despite the recognition of the negative impacts of cultivation in the forested areas of this province (dieback of trees by lopping and delimiting by shepherds, degradation of the grassy vegetation of forest areas, *etc.*), the extent of this phenomenon remains to be demonstrated. The main aim of this research was to estimate the extension of cultivation in the rangelands, and to analyze the evolution and dynamics of this phenomenon over time. The adopted methodology was based on diachronic analysis of land cover in Ifrane province between 1987 and 2012, using satellite data (Landsat and Spot images). Land cover maps were made through a decision tree-supervised classification, which allow following the calculation of "rangeland" and "cultivated land" occupations' areas, that highlighted a reduction in the area of rangelands of 94 446 ha, and an increase of 94 461 ha in the areas occupied by the crops. Cultivation extends at an annual average rate of 3778.4 ha / year in the expense of collective pastoral land, leading to an annual loss of 616 241.26 of forage units. Those units were compensated by an overexploitation of grassy and shrubby vegetation of the forests, but also the foliage of forest's trees by pruning, which are carried out by shepherds in times of scarcity (between October and December).

Keywords: Cultivation; Rangelands; Middle Atlas; Diachronic analysis; Dynamics; Sustainability; Forest resources.



Ceci est un document en libre accès selon les termes de [Creative Commons Attribution License CC-BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), ce qui permet de le partager, copier, reproduire, distribuer, communiquer, réutiliser ou de l'adapter avec l'obligation de créditer son auteur.

1. Introduction

La province d'Ifrane est une zone pastorale par excellence. L'élevage y est basé sur l'exploitation saisonnière des parcours de basse altitude (*Azaghar*¹) et d'altitude (*Jbel*²), mais aussi sur la complémentarité des parcours forestiers et hors forêt. L'équilibre agro-sylvo-pastoral était maintenu grâce à un mode de vie transhumant et un système rigoureux de gestion communautaire des ressources naturelles, sous la supervision de l'institution « *Jmaâ* »³. [1-3].

Cependant, cette zone a connu une tendance évolutive favorisant la sédentarisation des éleveurs et l'érosion progressive des règles et pratiques du système de gestion communautaire [2,4-7]. Cette situation a conduit au développement de stratégies individualistes dont la mise en culture des terres réservées à l'usage pastoral collectif.

La réduction de la superficie des parcours hors forêt qui en résulte constitue une perte en unités fourragères, qui contraint les éleveurs à combler le déficit par une exploitation continue dans le temps et dans l'espace des parcours forestiers. Par conséquent, l'exploitation des parcours forestiers dépasse de plus en plus la production annuelle. La recherche des unités fourragères supplémentaires par rapport au potentiel de la forêt se manifeste par l'écimage et l'ébranchage des arbres, dont les feuilles et les petits rameaux sont consommés par les troupeaux. [2, 3, 8-10].

Actuellement, les parcours forestiers de la province connaissent un pâturage excessif, exprimé par un degré de surpâturage de 48 %. La charge réelle est trois fois la charge d'équilibre. Cette situation se répercute sur l'état des parcours, caractérisés par l'homogénéisation du tapis herbacé, la régression des espèces climaciques pastorales au profit des espèces résistantes, dites de "surpâturage" et des envahissantes (espèces annuelles et toxiques) [8, 9].

Les prélèvements tirés sur les réserves fourragères sur pied par ébranchage et écimage varient du simple au triple [8, 9]. Ils ont lieu en période de neige qui dure en général 2 mois avec 5 jours en moyenne de couverture totale du sol.

De nombreuses études montrent la relation entre les pratiques d'ébranchage et écimage et le dépérissement des arbres forestiers ...etc. [11-13]. Ces pratiques sont considérées comme facteur de mortalité sur pied et sont prises en compte par les réseaux de surveillance et suivi de la santé des forêts au Maroc. Elles ont pour effets la provocation des blessures, entraînant des stress physiologiques qui prédisposent les arbres aux attaques parasitaires, au dépérissement et à la mortalité.

Cette surexploitation des différentes strates de la végétation constitue une menace à la durabilité des forêts de la province, dont la cédraie qui constitue 38 % de ses peuplements forestiers [3].

Cependant, et malgré l'importance des impacts négatifs du phénomène de la mise en culture sur les ressources forestières, l'ampleur de ce dernier n'est toujours pas quantifiée et démontrée scientifiquement.

Ainsi, l'objectif de la présente étude est de quantifier l'extension de la mise en culture sur les terres de parcours et d'analyser l'évolution et la dynamique de l'occupation du sol au niveau de la province d'Ifrane entre 1987 et 2012. Il s'agit de mettre en évidence, de manière indirecte, l'ampleur de la menace à la durabilité des ressources forestières de la province d'Ifrane et d'en tirer la sonnette d'alarme.

Pour répondre à cet objectif, le présent article se propose de réaliser une analyse diachronique de l'occupation du sol de la province entre 1987 et 2012. Cette analyse met l'accent sur l'évolution de la superficie des occupations « parcours » et « terres cultivées ». Ainsi, l'évolution et l'ampleur du phénomène de mise en culture des parcours à usage collectif sont mises en évidence à travers la réalisation des cartes d'occupation du sol, et l'analyse des superficies calculées.

2. Matériel et méthodes

2.1. Zone d'étude

2.1.1. Milieu naturel

D'une superficie de 3 573 km², la province d'Ifrane se situe au Moyen Atlas Central. Elle est limitée au

¹ Mot Amazigh désignant les parcours de basse altitude.

² Mot arabe qui veut dire montagne. Désigne les parcours d'altitude.

³ Assemblée des représentants d'une collectivité ethnique, ayant à sa tête un chef.

Nord par les Provinces de Sefrou et d'El Hajeb, au Sud-Ouest par la Province de Khénifra, au Sud-Est par la province de Midelt et à l'Est par la Province de Boulemane (Figure 1).

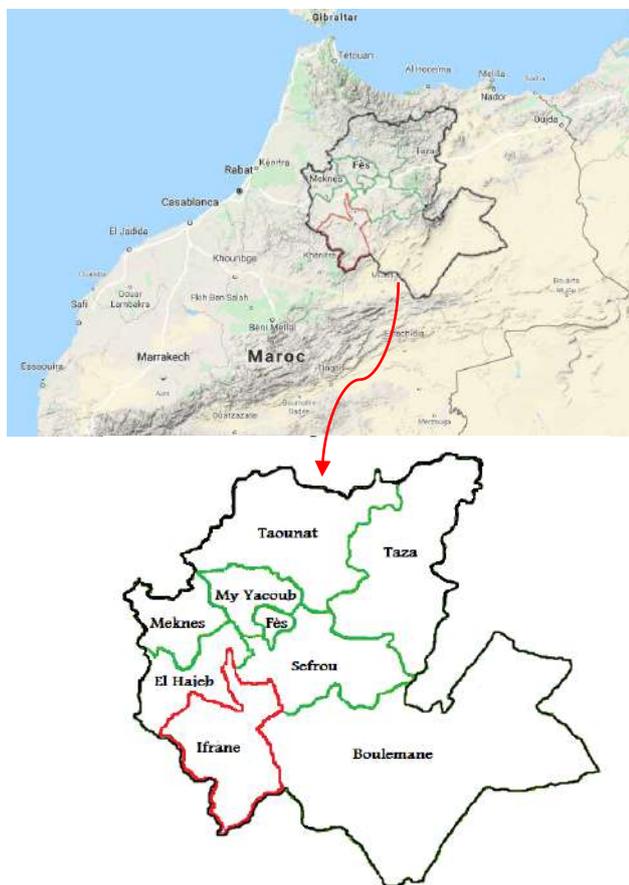


Figure 1. Situation géographique et administrative de la province d'Ifrane selon le découpage administratif de 2015 [14].

- Limite de la région Fès-Meknès
- Limite des provinces ou préfectures
- Limite de la province d'Ifrane

2.1.1.1. Géomorphologie

La zone d'étude est située entièrement au Moyen Atlas Central. Elle est composée de trois grandes unités géomorphologiques. Il s'agit du :

- Plateau Central : C'est l'avant pays ou « Azaghar », situé au Nord-Ouest de la province et est caractérisé par des collines dont les altitudes peuvent atteindre 1300 m.
- Causse Moyen Atlasique : il présente une ligne de séparation avec le Plateau Central.
- Moyen Atlas plissé : Il présente les points culminants de la province, atteignant 2409 m pour le Jbel Hayane.

Les deux dernières unités forment la partie montagneuse, supportant l'essentiel de la forêt de la province. Ils sont appelés communément « Jbel » [8].

2.1.1.2. Climat

Le climat de la province est de type Méditerranéen, caractérisé par un hiver rigoureux et un été frais. Toutefois, la différence d'altitude entraîne de grandes nuances entre le « Jbel » et « l'Azaghar ». Les ambiances bioclimatiques régnant dans la zone d'étude varient du semi-aride tempéré au niveau du plateau central à l'humide froid, voire très froid en haute altitude et en zones asylvatiques.

La sécheresse estivale dure en moyenne un peu plus longtemps au plateau central qu'en altitude, et inversement les périodes et la quantité de neige en hiver sont plus importantes sur les sommets. Les couches de neige peuvent atteindre un à deux mètres en altitude et rarement vingt centimètres dans « l'Azaghar » [8].

- Précipitations pour la période d'observation (1982-2012)

Les précipitations sont concentrées entre Novembre et Avril. Les mois de Juillet et Août sont les mois les plus secs. Les précipitations annuelles sont de 779 mm/an au niveau de la station d'Azrou et de 843 mm/an pour la station d'Ifrane [15].

Au niveau de la station d'Ifrane, les précipitations moyennes mensuelles varient entre 08 mm en Juillet (le mois le plus sec) et 122 mm en mois de Décembre (le mois le plus humide).

Les données de la station d'Azrou montrent une variation de 108 mm entre les précipitations du mois le plus humide (115 mm) et celles du mois le plus sec (7 mm).

- Températures pour la période d'observation (1982-2012)

Pour la station d'Ifrane, la température moyenne annuelle minimale est de 3,62 °C. La moyenne des températures minimales mensuelles varie entre -4 °C en janvier et 12,5 °C pour Juillet et Août. La température moyenne annuelle maximale est de 18,48 °C. Elle varie entre 9,4 °C pour les mois de Décembre et Janvier et 30,3 °C pour le mois d'Août.

Pour la station d'Azrou, La température moyenne annuelle minimale atteint 7,04 °C. La moyenne des températures minimales mensuelles varie entre 0 °C en mois de janvier et 15,6 °C pour le mois d'Août. La température moyenne annuelle maximale est de 21,4 °C. Elle varie entre 13 °C pour les mois de

Décembre et Janvier et 33,6 °C pour les mois de Juillet et Août [15].

- Vents

Deux types de vents caractérisent la zone d'étude :

- Les vents d'ouest, Sud-ouest et Nord-ouest (gharbi) qui accentuent la gelée en hiver. Chargés d'humidité d'origine océanique, ils sont généralement responsables des perturbations atmosphériques que connaît la région.
- Les vents d'Est et de Sud (chergui) qui sont le plus souvent des vents chauds et secs [15].

2.1.1.3. Formations forestières

Les forêts de la province d'Ifrane occupent une superficie totale de près de 116 000 ha. La superficie des peuplements forestiers y est répartie comme suit (Tableau 1).

Tableau 1
Répartition des superficies des peuplements forestiers de la province d'Ifrane [3]

Peuplements forestiers	Superficie (ha)	Pourcentage par rapport à la superficie totale des forêts
Cèdre pur et en mélange	43 848,53	38 %
Chêne vert pur et en mélange	47 559,17	41 %
Pin maritime	2 924	2,5 %
Chêne zeen pur	271,51	0,2 %
Autres	20 645,36	18

2.1.1.4. Occupation du sol

La superficie de la province se répartit selon les occupations du sol suivantes (Tableau 2).

Tableau 2
Superficie des principales occupations du sol de la province d'Ifrane [2]

Occupation du sol	Superficie en (ha)	Pourcentage de la superficie de la province
Parcours	157 212	44 %
Forêts	116 000	33 %
SAU ⁴	82 179	23 %

⁴ Superficie agricole utile

2.1.1.5. Milieu humain

Selon le dernier recensement de la population du Maroc, la population totale de la province est de 155221 habitants. Le nombre de ménages est de 35859 avec une moyenne de 4,3 personnes par foyer. La population rurale est de 70629 habitants, soit 45,5 % de la population totale. Le nombre de ménages ruraux étant de 14524, soit 40,5 % des ménages de la province, avec une moyenne de 4,9 personnes par ménage [16].

2.1.1.6. Activités socio-économiques de la population de la province

Les chefs de ménage des communes rurales se répartissent selon les catégories socio - professionnelles suivantes (Figure 2).

- Exploitants agricoles,
- Ouvriers agricoles,
- Ouvriers non agricoles,
- Employés,
- Commerçants,
- Artisans.

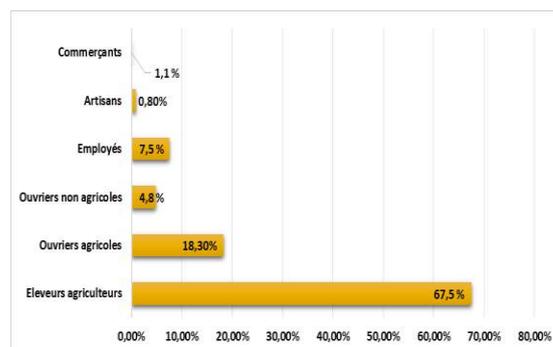


Figure 2. Répartition des catégories socio professionnelles des chefs de ménage en milieu rural de la province d'Ifrane [17]

Ainsi, les activités agricoles constituent la source de revenus de 86 % des chefs de ménages ruraux de la zone d'étude. Ces activités incluent deux composantes :

- L'élevage extensif à base d'ovins : principale activité socio-économique.
- Les cultures : céréaliculture, maraichage, arboriculture fruitière, etc.

Il est à noter qu'au niveau de la province d'Ifrane, le taux de pauvreté en milieu rural est de 16,4 %, avec un indice de sévérité de 3,4 [18].

L'effectif total du cheptel est de 562 100 têtes, soit 623 520 unité petit bétail (UPB). Ce cheptel constitue 18 % du cheptel de la région Fès-Meknès (Tableau 3).

Tableau 3
Effectifs du cheptel de la province en 2015 [19]

Caprins	Bovins	Ovins	Total en UPB*
62 900	18 500	480 700	623 520

* : Unité petit bétail

Les ovins dominent avec un total de 480 700 têtes, et constituent près de 18 % des têtes ovines de la région [19].

La superficie agricole utile (SAU) de la province d'Ifrane est de plus de 86 000 ha [20]. Elle se répartit comme suit (Tableau 4).

Tableau 4
Répartition des cultures pratiquées au niveau de la province d'Ifrane [20]

Spéculation	Superficie (ha)	Pourcentage
Céréales	50 000	58,01
Fourrages	12 300	14,27
Arboriculture	10 800	12,53
Olivier	1 280	1,49
Cultures maraichères	1 400	1,62
Légumineuses	1 100	1,28
Jachère	9 315	10,81
Total	86 195	100

Cette répartition montre la dominance de la céréaliculture (blés, orge, maïs), qui occupe 58 % de la SAU totale.

2.2. Méthodologie

1.2.2. Données utilisées

L'interprétation des images satellitaires permet d'identifier des classes d'occupation du sol et d'extraire les informations recherchées [21].

L'orientation du choix de la période à étudier pour la présente analyse, et par conséquent des données à utiliser, est issue des entretiens semi-structurés réalisés avec la population locale. Ces entretiens mentionnent les années 80 comme début des changements d'occupation du sol au niveau de la province. Une durée de 20 ans est jugée suffisante pour mettre en relief l'ampleur de ces changements. Les images satellitaires disponibles et répondant à ces exigences sont les suivantes :

- Image satellitaire Landsat de l'année 1987 : Il s'agit d'une image multi-spectrale d'une résolution de 30m, prise en Avril 1987. Cette image a fait l'objet des corrections géométriques et radiométriques. Ensuite, pour pouvoir comparer les résultats issus des images Landsat et Spot, l'image Landsat a été ré-échantillonnée pour avoir des images à 10 m de résolution.

- Images satellitaires SPOT de l'année 2012 : Quatre images SPOT orthorectifiées et corrigées à l'origine ont été utilisées. Elles ont une résolution de 10 m en mode multi spectral, prises en Avril 2012.

Ces images satellitaires ont été mosaïquées. Un masque a été appliqué pour extraire la zone d'étude.

D'autres données ont été nécessaires à la réalisation de la présente analyse, il s'agit de :

- La carte topographique d'une échelle de 1/50000 de la province d'Ifrane.
- Le modèle numérique de terrain (MNT).

1.2.3. Outils utilisés

Les outils de travail qui ont permis de manipuler les données utilisées sont essentiellement des logiciels de traitement numérique d'images de télédétection (ENVI 4.7.) et SIG (Système d'Information Géographique).

- Logiciel ENVI 4.7 : Ce logiciel a été utilisé pour les corrections de l'image Landsat, le ré-échantillonnage, la classification supervisée des images satellitaires et l'évaluation de la classification à travers les matrices de confusion et le calcul du NDVI.

- Logiciel ARCGis 10.1 : Il a servi pour la réalisation des cartes d'occupation du sol et la réalisation des calculs des superficies des classes d'occupation étudiées.

1.2.4. Méthodes

La méthode de comparaison diachronique des classifications a été choisie pour détecter les changements d'occupation du sol [22,23]. Elle est basée sur la classification des occupations du sol à des dates différentes. Elle assigne d'abord des classes, et permet par la suite la détection et l'analyse des changements spatiaux survenus au cours d'une période de temps [24].

L'analyse diachronique de l'occupation du sol s'est déroulée en quatre étapes, à savoir :

a) Réalisation des cartes d'occupation du sol à partir des images satellitaires :

Elle a été effectuée via la classification supervisée par arbre de décision. Les paramètres retenus pour classer les deux images sont respectivement : la Réflectance ; le NDVI et le MNT.

b) Evaluation de la classification :

Elle a été effectuée à tr10 avec la matrice de confusion. Cette matrice renseigne sur deux types d'erreurs, celles de commission ou de l'utilisateur, et celles d'omission ou du producteur [25]. Elle permet aussi de calculer l'indice Kappa, permettant d'évaluer la précision d'une classification [26]. Les points vérifiés-terrain observés pour chaque classe et les études antérieures concernant la zone d'étude ont constitué une base de validation des résultats obtenus.

c) Calcul des superficies des classes d'occupation du sol analysées (parcours et cultures) en Hectare (ha).

d) Détection des changements par comparaison des superficies des classes d'occupations du sol étudiées.

L'analyse des changements d'occupation du sol a été effectuée en comparant d'une part, l'évolution des superficies des parcours et des terres cultivées et d'autre part en mettant en évidence l'évolution de la superficie des parcours collectifs mise en culture.

3. Résultats et discussions

3.1. Evolution de la mise en culture à l'échelle de la province

Le calcul des superficies des occupations du sol analysées a permis de retracer l'évolution quantitative de ces dernières sur la période étudiée de 25 ans (Figure 3 et tableau 5).

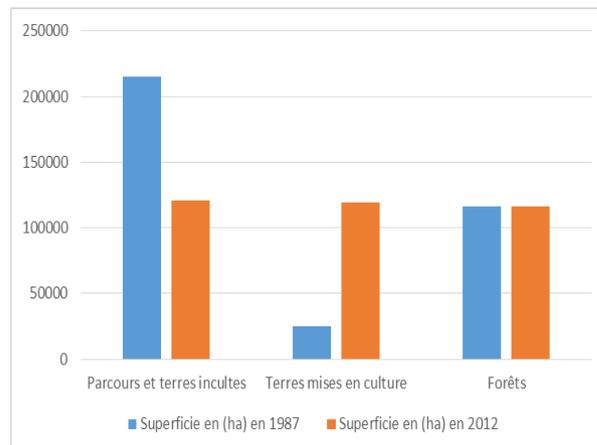


Figure 3. Evolution des superficies des unités d'occupation du sol analysées entre 1987 et 2012.

L'analyse quantitative de l'occupation du sol en 1987 permet de ressortir que, comparativement aux terres mises en culture, les parcours couvrent la plus grande part de la province (60,30 %), avec une superficie totale de 215 443 ha, par contre, les terrains mis en culture couvrent 24902 ha, soit 6,97 % de la superficie totale de la province.

Les résultats obtenus pour l'année 2012 montrent une évolution croissante des terres mises en culture et une régression de la superficie réservée à la vaine pâture.

Ainsi, la superficie occupée par les terres de parcours est passée à 120 997 ha, soit une réduction de 94 946 ha. Les parcours ne couvraient que 33,86 % de la province en 2012. Comparativement à la situation en 1987 où cette superficie a connu une diminution de plus de 43 %, avec une régression annuelle de 3 777,84 ha.

La superficie des terres mises en culture a connu quant à elle une augmentation passant de 24 902 ha en 1987 à 119 363 ha en 2012, occupant alors 33,40 % de la province. Le taux d'évolution de cette superficie a dépassé les 100 %. Cette superficie a presque quadruplé en l'espace de 25 ans, avec un rythme annuel de 3778,44 ha.an⁻¹.

Tableau 5 Superficie et taux de couverture des unités d'occupation du sol analysées pour les années 1987 et 2012

Classes d'occupation du sol	1987		2012		Evolution		Rythme moyen annuel (ha.an ⁻¹)
	Superficie (ha)	Taux de couverture (%)	Superficie (ha)	Taux de couverture (%)	En (ha)	En (%)	
Parcours et terres incultes	215 443	60,30	120 997	33,86	-94 446	-43,84	-3 777,84
Terres mises en culture	24 902	06,97	119 363	33,40	+94 461	379,33	3 778,44
Forêts	115 989	32,46	115 980	32,46	-9	-0,007	-0,36

Selon la situation en 1987 la mise en culture s’étalait sur les terres de basse altitude des fractions de la tribu Irklaouen (Ait Yahia Oualla, Ait Hamou Oubouhou, Ait

Faska et Ait Arfa de Tigrigra), en plus des tribus Ait Meroual et Ait Mouli (Figure 4). Il s’agit des zones initialement à usage agricole [27].

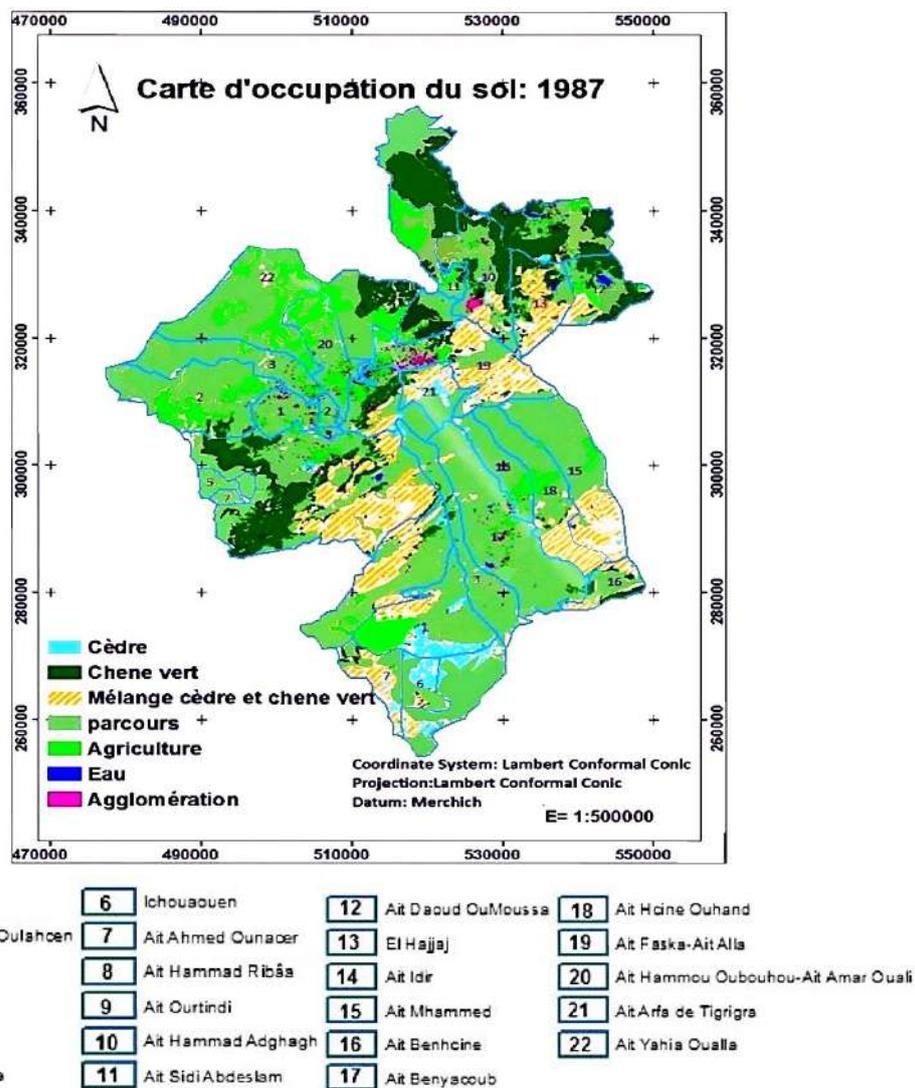


Figure 4 : Carte de l'occupation du sol de la province d'Ifrane en 1987

En moyenne altitude, les cultures s’étendent sur les terres des collectivités des Ait Ourtindi et Ait Sidi Abdeslam. Ces terres initialement à usage pastoral collectif ont fait l’objet de partage et privatisation anciens, ayant facilité une mise en valeur individuelle par la mise en culture [27].

Sur les terres d’altitude, les cultures s’étalent sur la vallée de Guigou (relevant de la tribu Ait Arfa de Guigou), autour des lacs (chez les Ait Idir et Ait Daoud

Oumoussa), et sur les terres privées des Ait Mhammed Oulahcen. Toutes ces étendues constituent les zones anciennes de culture des collectivités concernées (Figure 4).

En 2012, les cultures se sont étendues sur les terres de parcs en basse et moyenne altitude, mais aussi sur les parcs d’altitude (tribus Ait Seghrouchen, Béni Mtir, et Ait Meroual), (Figure 5).

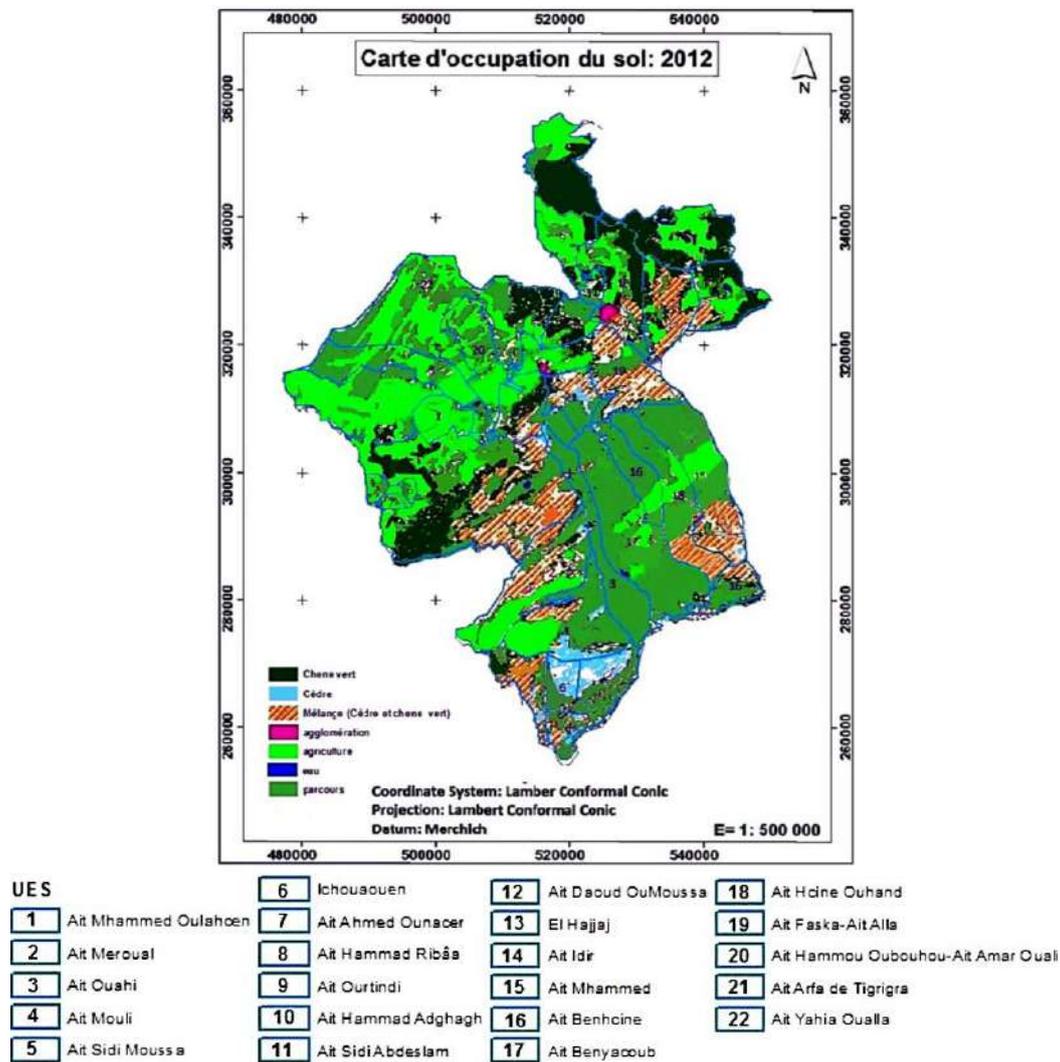


Figure 5 : Carte de l'occupation du sol de la province d'Ifrane en 2012

Cette extension étant la conséquence de la réduction de l'espace pastoral de basse et moyenne altitude, contraignant les éleveurs à se sédentariser sur les parcours d'altitude par construction d'abris et habitats en dur [27]. Cette sédentarisation constitue aussi un facteur de réduction de l'espace pastoral en altitude, faisant émerger de nouveaux consensus sociaux, en faveur du partage et privatisation des espaces à usage collectif et d'une mise en valeur individuelle par la mise en culture ou la vente illégale des lots de terrains aux agriculteurs citadins [27, 28].

L'introduction de l'arboriculture à base de rosacées par les investisseurs citadins et la monétarisation du foncier qui s'en est suivie, ont induit, surtout sur le

territoire de la collectivité El Hajjaj, l'extension des plantations sur tout l'espace pastoral collectif [28].

En effet, la rentabilité de l'activité arboricole a augmenté l'intérêt porté aux espaces de plantation par les investisseurs citadins. La forte demande a encouragé le partage des terres collectives et l'introduction des plantations fruitières par ces investisseurs. Ensuite, l'extension des vergers a induit la monétarisation du foncier.

Cette situation a eu pour conséquence d'abord la réduction drastique de la superficie des parcours hors forêt, ensuite, l'augmentation de la pression sur les parcours forestiers [28].

Ainsi, en plus des facteurs socio-économiques ayant causé le bouleversement du système de gestion des

ressources naturelles, conduisant à la sédentarisation, mise en culture, partage et privatisation des parcours à usage collectif, *etc.*, le désengagement de la tutelle des terres à usage collectif (Ministère de l'Intérieur) du contrôle de l'application de la réglementation encourage l'expansion du partage, privatisation et la mise en culture des terres de parcours [27,28]. Ces pratiques constituent une infraction à la loi interdisant toute vente du droit de jouissance, achat, appropriation, ou construction.

Actuellement, les nouveaux consensus sociaux priment en matière d'exploitation de l'espace et de ses ressources. Ces consensus répondent aux intérêts individualistes et portent préjudice à la gestion durable des parcours forestiers qui subissent les contrechocs de la réduction des parcours hors forêt [27].

En effet, la réduction des superficies des parcours hors forêt constitue une perte d'unités fourragères, dont la compensation se fait au détriment des ressources forestières. Selon les études réalisées dans le cadre du projet AFD⁵, la production fourragère des parcours hors forêt de la province est de 163,12 UF.ha⁻¹.an⁻¹, contribuant à 23,5 % dans le bilan fourrager [2].

Par conséquent, avec une perte annuelle de 3777,84 ha de parcours hors forêt au profit des cultures, 616 241,26 UF sont soustraites annuellement du bilan fourrager des troupeaux de la province. Ces unités fourragères sont tirées des parcours forestiers qui subissent une pression continue et des charges réelles dépassant les charges d'équilibre, en plus d'une généralisation des pratiques d'ébranchage et écimages en périodes de disette. Ces pratiques répétées conduisent à l'affaiblissement physiologique des arbres, ce qui entraînera à la longue, une dédensification et à une réduction du couvert forestier de la province [11-13].

4. Conclusions

L'analyse diachronique de l'extension des terres cultivées aux dépens des terres de parcours à l'échelle de la province d'Ifrane a montré une augmentation des superficies cultivées avec un rythme moyen annuel de

⁵Projet d'aménagement concerté des forêts et des parcours collectifs de la province d'Ifrane, cofinancé par l'Agence Française de Développement (AFD).

plus de 3778 ha/an. Par contre les terres réservées au parcours régressent annuellement de 3777 ha. Ces dernières ne couvrent que 33,86 % de la province en 2012, comparativement à une couverture de plus de 60 % en 1987.

Cette réduction des parcours hors forêt entraîne une perte annuelle de l'ordre 616 241,26 UF et expose les parcours forestiers à une forte pression, mettant en péril la durabilité des peuplements forestiers. En effet, ces derniers constituent pour les éleveurs une réserve fourragère sur pied, persistante et mobilisable tout au long de l'année. Ainsi, les unités fourragères perdues sont tirées de l'exploitation de toutes les strates de la végétation forestière, conduisant à un appauvrissement du cortège floristique, en plus de l'exposition des arbres forestiers (Cèdre de l'Atlas, Chêne vert, Genévrier thurifère) aux ébranchages et écimages dont les produits servent de fourrage d'appoint pour le cheptel. Ces pratiques ont pour effet l'affaiblissement des arbres, les exposant au dépérissement et aux mortalités sur-pied.

Ainsi, les résultats obtenus montrent bien l'ampleur du phénomène de la mise en culture des parcours au niveau de la province d'Ifrane et ses répercussions sur les espaces forestiers. Il s'agit bien d'une menace pressante qui compromet l'avenir des écosystèmes forestiers du Moyen Atlas Central et la durabilité de leurs rôles écologiques et économiques à l'échelle locale et globale.

Références

- [1] Hamzaoui I., Qarro M., Gmira N., Basics of common resources' management by the institution of "Jmaâ" in the Central Middle Atlas, Province of Ifrane (MOROCCO). *International Journal for Latest Research in Science and Technology*, 5 (2) (2016) : 35-39. https://www.mnkjournals.com/journal/ijlrst/Article.php?paper_id=10634
- [2] HCEFLCD/SOGREAH/R4, Etudes d'Aménagement Concerté des Forêts et Parcours Collectifs de la Province d'Ifrane. Rapport 4. Etudes Pastorales de base, 2005. [Texte imprimé].
- [3] HCEFLCD/SOGREAH/R7, Etudes d'aménagement concerté des forêts et parcours collectifs de la province d'Ifrane, Rapport 7, Enjeux pastoraux, 2005. [Texte imprimé]
- [4] Beudet G., Les Béni Guild du nord : Etude géographique de l'évolution récente d'une confédération semi-nomade. *Revue Géographique du Maroc*, 15 1969 : 3-80, [Texte imprimé] / Association nationale des géographes marocains. <http://www.sudoc.abes.fr/cbs/xslt/DB=2.1//SRCH?IKT=12&TRM=096269308>
- [5] Bourbouze A., Gestion de la mobilité et résistance des organisations pastorales des éleveurs du Haut Atlas marocain face aux transformations du contexte pastoral maghrébin, In M. Niamir-Fuller (coord.), *Managing mobility in african rangeland: The legitimization of transhumance* (London: IT publications: FAO and Beijer Intern. Instit. Ecol. Economics), pp. 236-265.

- <http://www.museum.agropolis.fr/pages/savoirs/agdal/maryam.pdf>
- [6] Hamzaoui I., Gmira N., Qarro M., Analysis of land cover changes within the territory of "El Hajjaj", Central Middle Atlas (Morocco). International Journal of latest research in science and technology, 2018.
- [7] Maurer G., L'homme et les montagnes atlasiques au Maghreb. In: Annales de Géographie, 105 (587) (1996) : 47-72. <https://doi.org/10.3406/geo.1996.20726>
- [8] HCEFLCD/SOGREAH/R5, Etudes d'aménagement concerté des forêts et parcours collectifs de la province d'Ifrane, Rapport 5, Etudes pastorale zone Nord, 2005. [Texte imprimé]
- [9] HCEFLCD/SOGREAH/R6, Etudes d'aménagement concerté des forêts et parcours collectifs de la province d'Ifrane, Rapport 6, Etudes pastorales zone sud, 2005. [Texte imprimé]
- [10] HCEFLCD/SOGREAH/R11, Etudes d'aménagement concerté des forêts et parcours collectifs de la province d'Ifrane, Rapport 11, Enjeux forestiers, 2005. [Texte imprimé]
- [11] Azemri M., *Evaluation des facteurs de dégradation de la subéraie de la Maâmora (cantons A et B)*, Mémoire de 3ème cycle, Ecole Nationale Forestière d'Ingénieurs, 84 p, 2011.
- [12] HCEFLCD/FAO, Caractérisation des agents et causes la déforestation et de la dégradation forestière dans le site de la Maâmora au Maroc, 2015. [Texte imprimé]
- [13] Nabaha A., *Evaluation des facteurs de dégradation de la subéraie de la Maâmora (canton C et D)*, Mémoire de 3ème cycle, Ecole Nationale Forestière d'Ingénieurs, 80 p, 2010.
- [14] <http://www.pncl.gov.ma/fr/Pages/decoupage.aspx>
- [15] <https://fr.climate-data.org/afrique/maroc-181/> (consulté le 11/06/2019).
- [16] https://www.hcp.ma/region-meknes/Rapports-Provinciaux-RGPH-2014_a121.html (Consulté le 11/06/2019)
- [17] HCEFLCD/SOGREAH/R3, Etudes d'aménagement concerté des forêts et parcours collectifs de la province d'Ifrane, Rapport 3, Etudes socio-économiques de base, 2004. [Texte imprimé]
- [10] HCEFLCD/SOGREAH/R11, Etudes d'aménagement concerté des forêts et parcours collectifs de la province d'Ifrane, Rapport 11, Enjeux forestiers, 2005. [Texte imprimé]
- [18] https://www.hcp.ma/Indicateurs-provinciaux-de-la-pauvrete-et-de-la-vulnerabilite_a648.html, consulté le 11/06/2019.
- [19] https://www.hcp.ma/Bookcases-des-Annuaire-Statistiques-du-HCP_a2071.html, consulté le 20/06/2019.
- [20] <http://www.agri-mag.com/2017/06/agriculture-de-maghreb-n85/>, consulté le 20/06/2019.
- [21] Pouchin T., Cours de télédétection, Université le Havre. France p.44 (2001) In Guerinial A., « *Analyse spatio-temporelle par télédétection de la région de Djelfa* ». Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach-Alger. Mémoire, 2012. http://dspace.ensa.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/245/1/guerinial_a.pdf
- [22] Lu D., Mausel P., Brondizio E. and Moran E.. Change detection techniques. International Journal of Remote Sensing, 25 (12) (2004) : 2365-2407. <https://doi.org/10.1080/0143116031000139863>
- [23] Mas J.F., Une revue des méthodes et des techniques de télédétection du changement. Journal Canadien de Télédétection, 26 (4) (2000) : 349-362. <https://doi.org/10.1080/07038992.2000.10874785>
- [24] Yuan F., Sawaya K.E., Loefflholz B.C. and Bauer M.E., Land cover classification and change analysis of the TwinCities (Minnesota) Metropolitan Area by multitemporal Landsat remotesensing. Remote Sensing of Environment, 98 (2-3) (2005) : 317-328. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2005.08.006>
- [25] Chikhaoui M., *Apport des données ASTER et d'un réseau de neurones à rétropropagation à la modélisation de la dégradation du sol d'un bassin marneux du Rif marocain* ». Thèse présentée pour l'obtention du grade de PhD en télédétection, Université de Sherbrooke), 2005. Disponible en ligne sur URL : <http://savoirs.usherbrooke.ca/handle/11143/2747>
- [26] Bennari A., He D.C. and Anys H., Analyse de l'apport de deux indices de végétation à la classification dans les milieux hétérogènes. Journal canadien de télédétection, 24 (1998) : 233-239. <https://doi.org/10.1080/07038992.1998.10855244>
- [27] Hamzaoui I., Gmira N. and Qarro M., Sédentarisation des éleveurs et impacts sur la durabilité des écosystèmes forestiers au Moyen Atlas Central (cas de la province d'Ifrane, Maroc). Nature & Technology, 22 (2020) : 38-46. https://www.univ-chlef.dz/revuenatec/Issue22_C.html
- [28] Hamzaoui I., Qarro M. and Gmira N., Analysis of Land cover changes within the territory of "El Hajjaj", Central Middle Atlas (Morocco). International Journal for Latest Research in Science and Technology, 7 (1) (2018) : 1-4. https://www.mnkjournals.com/journal/ijlrst/pdf/Volume_7_1_2018/10766.pdf

Soumis le : 03/06/2020

Forme révisée acceptée le : 23/08/2020

Auteur Correspondant : richard.nomel@yahoo.fr



**Revue
Nature et Technologie**

<http://www.univ-chlef.dz/revuenatec>

ISSN : 1112-9778 – E-ISSN : 2437-0312

Étude de la végétation des jardins privés de la ville de Yamoussoukro (Centre, Côte d'Ivoire)

Gnagne Jules Richard NOMEL^{a,*}, Roland Hervé KOUASSI^b, Alain Serge Augustin AMBE^b,
Mada DOUMBIA^a, Kouakou Edouard N'GUESSAN^b

^a UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

^b Laboratoire de Biologie Végétale, Département des Sciences et Technologies, École Normale Supérieure d'Abidjan, 08 BP 10 Abidjan 08, Côte d'Ivoire

Résumé

La ville de Yamoussoukro comprend de nombreux jardins privés. Elle compte plus d'une trentaine de jardins privés avec une biodiversité conséquente. La présente étude a permis d'évaluer l'aménagement des jardins privés de Yamoussoukro. Pour atteindre ce but, un inventaire floristique a été réalisé à partir de deux méthodes complémentaires. Au cours de l'inventaire, des placettes ont été installées. Aussi, la mesure des arbres de diamètre à hauteur de poitrine supérieur à 2,5 cm a été notée. Les densités, les aires basales, les biomasses et stocks de carbones et les indices de diversité ont été calculées. Au total, 5269 individus ont été dénombrés dont 2184 ont un DHP \geq 2,5 cm. *Senna siamea* est l'espèce la plus représentative avec 10 % des effectifs. Les espèces à statut particulier recensées et la forte biomasse montrent qu'un regard doit être porté sur les jardins privés qui peuvent être des milieux pour la conservation de la biodiversité.

Mots-clés : Jardins privés ; Biodiversité ; Biomasse ; Espèces à statut particulier ; Yamoussoukro ; Côte d'Ivoire

Study of the vegetation of private gardens of Yamoussoukro city (Central Ivory Coast)

Abstract

The city of Yamoussoukro includes many private gardens. It has more than thirty private gardens with a consequent biodiversity. The present study made it possible to evaluate the layout of the private gardens of Yamoussoukro. To achieve this goal, a floristic inventory was carried out using two complementary methods. During the inventory, plots were installed. Also, the measurement of trees with a diameter at breast height greater than 2.5 cm was noted. Densities, basal areas, biomass and carbon stocks and diversity indices were calculated. A total of 5269 individuals were counted, of which 2184 have a DBH \geq 2.5 cm. *Senna siamea* is the most representative species with 10% of the population. The species of special status identified and the high biomass show that a look must be given to private gardens that can be environments for biodiversity conservation.

Keywords: Private gardens; Biodiversity; Biomass; Special status species; Yamoussoukro; Ivory Coast

1. Introduction

Les forêts urbaines désignent une forêt ou des boisements poussant dans une aire urbaine. Cette notion est née au 20^e siècle [1]. Elle a fait son apparition principalement au Canada dans les villes abritant de vastes étendues boisées telles que Bruxelles, Oslo, Londres, Berlin, Stuttgart, Stockholm ou Zich [2].

Selon des recherches, les forêts urbaines offrent plusieurs avantages connus sous le nom de services

écosystémiques [3]. Les Services écosystémiques fournis par les forêts urbaines sont entre autres la réduction des îlots de chaleur, des polluants atmosphériques, l'approvisionnement en ressources, la purification de l'air et l'embellissement des villes [4-8]. De ce fait, elles sont développées de plus en plus en milieu urbain par l'homme en vue de profiter des aménités qu'elles offrent. Cependant, malgré leurs bienfaits démontrés à travers ces études, les forêts urbaines régressent ou même disparaissent peu à peu partout dans le monde et



Ceci est un document en libre accès selon les termes de [Creative Commons Attribution License CC-BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), ce qui permet de le partager, copier, reproduire, distribuer, communiquer, réutiliser ou de l'adapter avec l'obligation de créditer son auteur.

particulièrement en Afrique. La cause principale de cette régression est l'urbanisation. En effet, plus de la moitié de la population vit en ville [9] et cette proportion atteindra 70 % en 2050 selon la FAO [10]. Ainsi, face à cette concentration de la population dans les villes, le besoin d'espace se fait de plus en plus pressant. Les forêts urbaines qui occupent des surfaces plus ou moins importantes selon les villes sont détruites au détriment du développement des infrastructures (routes et logements) en Afrique. C'est à la suite de cette situation alarmante que des études sont menées en Afrique pour montrer l'importance de ces forêts en milieu urbain [11-13]. La Côte d'Ivoire en particulier ne reste pas en marge de ces études sur les forêts urbaines [14-16]. Toutes ces études ont la particularité d'être concentrées dans la ville d'Abidjan, capitale économique de la Côte d'Ivoire. Tandis qu'à Yamoussoukro, capitale politique, rares sont les travaux réalisés sur les forêts urbaines. A Yamoussoukro, les forêts urbaines sont constituées d'arbres d'alignement, de réserves naturelles, d'espaces délaissés et de jardins privés. Cette dernière forme de forêt urbaine fait l'objet de cette étude. En effet, Yamoussoukro regorge quelques jardins privés qui conservent d'étonnantes grandes portions de forêts à l'arrière-cour de certaines concessions. Une autre raison est le peu d'études sur les jardins privés qui restent documentés. La raison réside primo dans le caractère privatif de ces jardins et secundo dans le désintérêt des chercheurs du milieu urbain à utiliser ces espaces comme site d'étude.

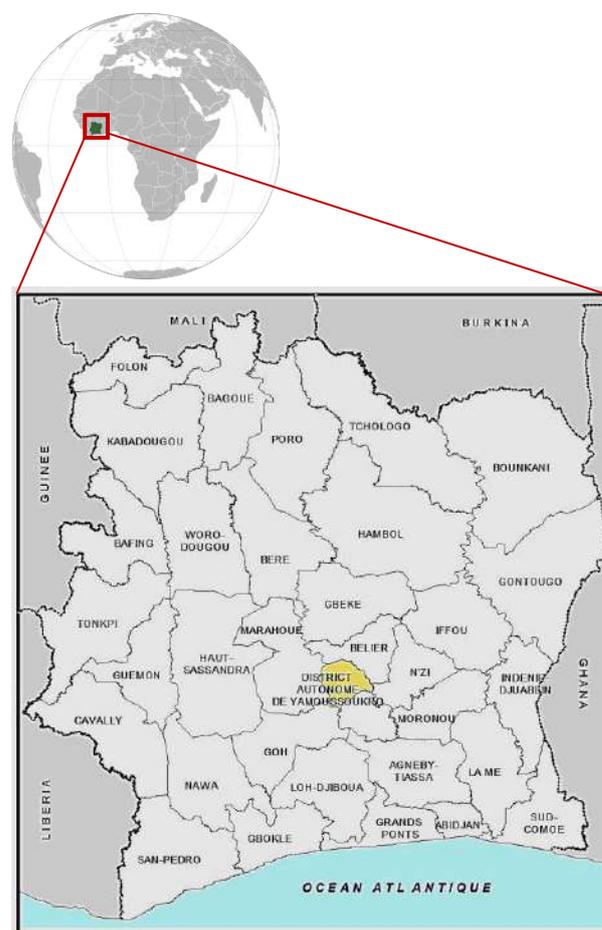
Ces jardins privés étudiés sont ceux détenus par des habitants, des hôtels, des établissements scolaires et administratifs locaux de la ville de Yamoussoukro. Le caractère privatif du jardin a été pris en compte.

Ainsi, cette étude vise à évaluer la diversité des espèces végétales des jardins privés. Plus spécifiquement, il s'agit de déterminer la richesse et la composition floristique des espèces végétales, de caractériser la structure de la végétation qui en résulte et d'estimer la biomasse végétale des arbres des jardins privés.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Zone d'étude

Yamoussoukro, capitale politique de la Côte d'Ivoire, se trouve entre 6°15 et 7°35 de latitude nord et 4°40 et 5°40 de longitude ouest et est située à 250 km au Nord-Ouest de la ville d'Abidjan, capitale économique (Figure 1). Elle a une superficie de 9300 ha. Le climat de Yamoussoukro est de type tropical humide de transition caractérisé par 2 saisons : une saison sèche et une saison de pluie. La saison de pluie s'étend sur 8 mois allant de mars à octobre et la saison sèche sur 4 mois allant de novembre à février. Les températures diurnes sont souvent proches de 35 °C [17].



©INS, JUIN 2015

Figure 1 : Localisation de la ville de Yamoussoukro

2.2. Collecte de données

Pour mener à bien cette étude, nous avons eu recours à deux méthodes complémentaires. La méthode de surface consiste à délimiter des placettes de surface fixe (400 m² dans cette étude). Dans chaque placette, le nom des espèces, le nombre d'espèces et le nombre

d'individus par espèce ont été déterminés. Pour les espèces non encore identifiées et hors des placettes, elles ont été prises en compte par la méthode itinérante qui consiste à recenser les espèces en parcourant le site dans toutes les directions. Le dénombrement des espèces arborescentes dont le diamètre à hauteur de poitrine supérieur ou égale à 2,5 cm ($DHP \geq 2,5$ cm) a été effectué. Pour les espèces non identifiées sur le terrain, des échantillons ont été prélevés et comparés avec les spécimens de l'Herbier National de Côte d'Ivoire, logé au Centre National de Floristique (CNE)¹ de l'Université Félix Houphouët-Boigny. Cela a permis d'identifier nos échantillons. Au total, 9 jardins privés ont été visités pour lesquels une autorisation d'accès nous a été accordée. Il s'agit de 2 établissements scolaires, de 4 hôtels, de la mairie et de 2 domiciles pour 128 placettes installées. Il est à noter qu'un jardin privé est un espace vert généralement clos et non ouvert au public. L'étude s'est déroulée de juillet 2017 à novembre 2017.

2.3. Analyse de données

Des listes floristiques ont servi de base pour la détermination de la richesse et composition floristique [18-20]. Il s'agit de déterminer pour chaque espèce, la famille, le genre, les types biologiques et chorologiques et le type morphologique. La classification APG IV [21] a été utilisée. La détermination des espèces à statut particulier a pour but de montrer la valeur de conservation des jardins privés. Pour ce faire, nous nous sommes appuyés sur les listes floristiques des espèces menacées [22, 23]. Pour l'endémisme des espèces, les travaux de J.L. Guillaumet [24] et L. Aké-Assi [25] nous ont servi de base.

On distingue trois types d'indices de diversité² [26] qui prennent en compte non seulement le nombre d'espèces, mais également la distribution des individus au sein de ces espèces

- Les descripteurs statistiques, abondamment utilisés et permettant de décrire de manière quantitative les peuplements (Richesse Spécifique (S), Biomasse (B), Abondance (A), Dominance...);

- Les indices de diversité, basés sur des formules plus complexes et illustrant la complexité des peuplements (Indice de Shannon Wiener (H'), indice d'équitabilité de Pielou (J'), Indice de Simpson, série d'indices de Hill...);
- Les indices basés sur des représentations graphiques et distributionnelles, permettant, à partir de l'analyse de la forme de courbes, d'étudier la structure des populations (courbes de dominance k, courbes de Comparaison Abondance/ Biomasse).

Pour notre part, nous avons utilisé, d'une part, l'indice de Shannon-Wiener (H'), donné par la formule : $H' = -\sum (N_i/N) \times \log_2(N_i/N)$, N_i étant le nombre d'individus d'une espèce donnée, i allant de 1 à S (nombre total des espèces) et N le nombre total d'individus, et d'autre part, l'indice qui lui est souvent accompagné, celui de Pielou qui représente le rapport de H' à l'indice maximal théorique dans le peuplement (H_{max}). Ont été aussi calculés, la densité des tiges par hectares ($t.ha^{-1}$) et les aires basales.

La distribution des classes de diamètres a permis de montrer la variation du diamètre des espèces arborescentes dans les jardins privés. Pour le calcul de la biomasse, des équations allométriques³ [27] ont été utilisées dans le souci de la préservation et conservation des arbres contrairement à la méthode dite destructive, qui consiste à récolter l'arbre, à le couper y compris les feuilles en petits morceaux, à les passer au four puis le peser après séchage. Il s'agit des équations de Chave *et al.* [28] pour les arbres des forêts semi-décidues, les équations de Arifin [29] pour les bananiers et les caféiers, l'équation de Brown [30] pour les palmiers et l'équation de Shin *et al.* [31] pour les bambous. La biomasse est convertie en stock de carbone en la multipliant par le coefficient 0,5 [32].

3. Résultats

3.1. Richesse et composition floristique

Au total, 5269 individus dénombrés dont 2184 individus $\geq 2,5$ cm. Tous ces individus représentent 378 espèces réparties en 255 genres et 81 familles

l'échantillon et sur la façon dont les individus y sont répartis entre diverses espèces.

³ Equations destinées à évaluer, à partir d'échantillons, la biomasse d'une forêt en fonction de paramètres simples à mesurer, tel que le diamètre, la hauteur et la densité du bois des arbres qui la composent

¹ <http://ci.chm-cbd.net/liens/liens/cote-d-ivoire/centres-de-recherches/centre-national-de-floristique>

² L'indice de diversité est la quantité d'information apportée par un échantillon sur les structures du peuplement dont provient

(Tableau 1). Le nombre moyen d'espèces est égale à $12,80 \pm 5,83$. Les espèces les plus représentées en termes d'individus ($DBH \geq 2,5$ cm) sont *Senna siamea* avec 219 individus (10 %), *Bambusa vulgaris* avec 176 individus (8,1 %) et *Gmelina arborea* avec 170 individus (7,9 %). Les genres les plus représentés sont les genres *Ficus*, *Euphorbia*, *Citrus* et *Cassia*. Les familles botaniques les plus représentées sont les Fabaceae avec 50 espèces soit 13,2 %, les Apocynaceae avec 27 espèces soit 7,1 % et les Poaceae avec 23 espèces soit 6,1 %. Au niveau de la diversité des espèces, l'indice moyen de Shannon est égal $2,61 \pm 0,53$ bits et l'indice d'équitabilité de Piélou est de $0,79 \pm 0,13$ (Tableau 1). 4 types phytogéographiques ont été recensés.

Tableau 1

Récapitulatif de la richesse floristique, la composition floristique et les indices de diversité des jardins privés

	Nombre
Individus	5269
Individus à $DHP \geq 2,5$ cm	2184
Espèces	378
Genres	255
Familles	81
Shannon	$2,61 \pm 0,53$
Équitabilité	$0,79 \pm 0,13$

Il s'agit des espèces de la région Guinéo-congolaise (GC), les espèces de la région Soudano-Zambézienne (SZ), les espèces appartenant à la fois à ces 2 régions (GC-SZ) et les espèces introduites (i). Ainsi, les espèces introduites avec 41,5 % sont les plus abondantes. Les espèces de la région soudanaise sont les moins représentées avec 3 % (Figure 2). 11 types biologiques ont été recensés. Les microphanérophytes sont les plus représentées avec 37 %. Tandis que les stolons et les rhizomes ont les proportions les plus faibles avec 1 % (Figure 3).

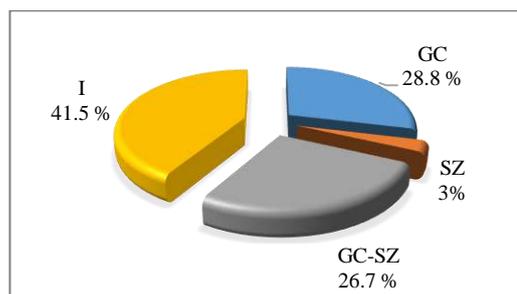


Figure 2 : Spectre des types phytogéographiques des jardins privés
Légende : GC : Taxon de la région Guinéo-Congolaise ; SZ : Taxon de la région Soudano-Zambézienne ; GC-SZ : Taxon de la transition entre GC et SZ ; i : Taxon exotique.

Concernant les types morphologiques, les arbustes sont les plus nombreux avec 32,5 % et les sarmenteux, les moins nombreux avec 0,3 % (Figure 3).

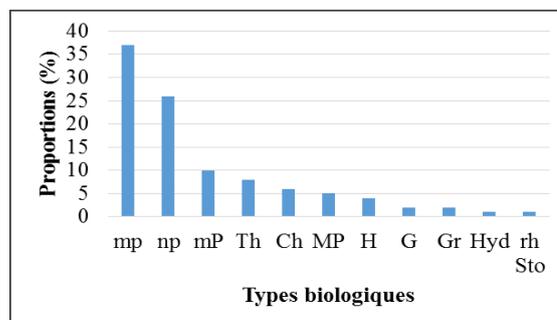


Figure 3 : Histogrammes des types biologiques des jardins privés
Légende : mp : macrophanérophyte ; np : nanophanérophyte ; mP : mésophanérophyte ; Th : Thérophyte ; Ch : Chamaephyte ; MP : Mégaphanérophyte ; H : Hémicryptophyte ; Hyd : Hydrophyte ; G : Géophyte ; rh : rhizome ; Sto : Stolon.

3.2. Espèces à statut particulier

Dans tous les jardins privés, 11 espèces à statut particulier dont 2 espèces endémiques et 9 espèces rares et/ou menacées d'extinctions ont été recensées. Il s'agit de *Hypocratea vignei* (*Hippocrateaceae*) et *Solenostemon monostachyus* (*Lamiaceae*), espèces endémiques toutes issues du bloc forestier de l'Afrique de l'ouest (GCW). Concernant les espèces rares et/ou menacées d'extinction, 6 espèces appartiennent à la liste rouge des espèces menacées établis par l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN)⁴ [33]. Il s'agit de *Azalia africana* (*Fabaceae*), *Albizia ferruginea* (*Fabaceae*), *Entandrophragma cylindricum* (*Meliaceae*), *Khaya grandifolia* (*Meliaceae*) *Khaya*

⁴ <https://www.iucn.org/fr>

senegalensis et *Pterygota macrocarpa* (Malvaceae) toutes vulnérables (Vu). Trois espèces appartenant à la liste d'Aké-Assi [34] ont été rencontrées dans la zone d'étude. Il s'agit de *Detarium microcarpum* (Fabaceae) et de *Milicia excelsa* (Moraceae) qui sont des espèces rares, devenues rares et menacées d'extinction (PRE) et *Lannea nigritana* qui est une espèce en danger.

3.3. Structure des peuplements

Dans l'ensemble des jardins privés, 2184 individus à $DHP \geq 2,5$ cm. Ce qui nous donne une densité de 426,56 ind.ha⁻¹. Quand on considère les individus dans les parcelles, la densité moyenne s'élève à $415,15 \pm 307,83$ ind.ha⁻¹. L'aire basale des individus est égale à 57,67 m².ha⁻¹ pour une moyenne de $61,89 \pm 43,97$ m².ha⁻¹ (Tableau2).

Dans les jardins privés, La classe de diamètre comportant le plus grand nombre d'individus est la classe]20-30] avec 76,75 t.ha⁻¹. Elle est suivie par la classe]10-20] 74,02 t.ha⁻¹. Les classes les moins représentées sont les classes]80-90] et]90-100] avec des proportions respectives de 9,76 et 7,4 t.ha⁻¹.

Les histogrammes obtenus pour la distribution des tiges par classe de diamètre, ont une forme en cloche (Figure 4).

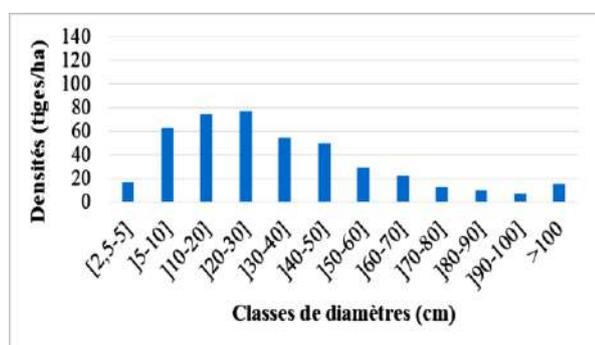


Figure 4 : Nombre d'individus recensés par classes de diamètres dans les jardins privés

3.4. Biomasse et stock de carbone

La biomasse végétale dans les jardins privés est de 1764,43 t.ha⁻¹. Le stock de carbone équivalent est de 882,21 t.ha⁻¹. Quand on considère les placettes, la biomasse moyenne est égale à $1051,83 \pm 816,27$ t.ha⁻¹. Le stock de carbone équivalent est égal à $525,91 \pm 408,13$ t.ha⁻¹ (Tableau 2). Les espèces

arborescentes prépondérantes en termes de biomasse sont *Terminalia mantaly* (122,68 t.ha⁻¹), *Ficus benjamina* (112 t.ha⁻¹) et *Delonix regia* (111,81 t.ha⁻¹)

Tableau 2
Paramètres structuraux, biomasse et stock de carbone dans les jardins privés

Variables	Moyenne ± Ecart-type
Densités (t.ha ⁻¹)	415,15 ± 307,83
Aires basales (m ² .ha ⁻¹)	61,89 ± 43,97
Biomasse (t.ha ⁻¹)	1051,83 ± 816,27
Stock de carbone (tC.ha ⁻¹)	525,91 ± 408,13

4. Discussion

Quoique peu de jardins privés (9) sur la trentaine que compte la ville de Yamoussoukro aient été visités, l'étude a montré qu'ils contiennent une biodiversité assez conséquente. Ainsi, le nombre relativement élevé d'espèces est dû aux portions de forêts laissées volontairement à l'arrière-cour de certaines concessions en plus des espèces ornementales présentes à leur devanture. Ces parcelles conservées volontairement augmentent la richesse floristique. C'est dans ce cadre que certains auteurs [35-37] ont affirmé que les jardins privés sont des milieux fortement investis et qui pourraient constituer des réservoirs potentiels d'espèces et de milieux intéressants. Ce nombre d'espèces recensées dans les jardins privés de Yamoussoukro est supérieur à celui de tous les espaces verts de la ville de Lomé au Togo avec 93 espèces recensées par Polorigni *et al.* [38]. Il est aussi supérieur à celui recensé par Nomel *et al.* [16] avec 42 espèces sur les espaces aménagés boisés des échangeurs de l'autoroute d'Abidjan. Cette différence s'expliquerait par le fait que dans l'étude à Abidjan, seules les espèces dont le $DHP \geq 2,5$ cm ont été prises en compte. Ainsi, les herbacées et les lianes entre autres n'ont pas été recensées. C'est pourquoi, certains auteurs [39] ont affirmé que, plus le DHP choisi pour le recensement des espèces est bas, plus il y a de chance de trouver un maximum d'espèces. Les Fabaceae sont la famille la plus représentées. Cela montre que cette Famille s'est adaptée aux conditions environnementales de la ville comme l'ont souligné certains auteurs [40,41]. L'abondance des espèces exotiques dans les jardins privés de Yamoussoukro pourrait s'expliquer par le fait que ces espèces ont un apport décoratif comme l'a signifié

E. Aké-Assi [40]. En effet, par ses variétés de couleurs au niveau du feuillage et des fleurs, les espèces exotiques sont très prisées par les propriétaires de jardins privés. Ainsi, la recherche de l'esthétique influence fortement le choix des espèces. Cependant, cet attrait pour les espèces exotiques à potentialité ornementale n'est pas sans conséquence pour les espèces locales. Certaines de ces espèces exotiques ont un caractère invasif et peuvent entrer en concurrence avec les espèces natives pour l'espace. C'est dans cette optique que Nomel *et al.* ont affirmé qu'un grand nombre d'espèces exotiques peut modifier la structure et le fonctionnement des écosystèmes originels [16]. L'indice de Shannon relativement faible est le fait du choix des espèces végétales plantées par les propriétaires de jardins privés. Toujours dans cette même veine, le choix volontaire des espèces végétales présentes dans les jardins privés de Yamoussoukro est à la base de la présence des espèces à statut particulier.

Ces espèces à statut particulier montrent l'importance des jardins privés dans la conservation de la biodiversité. Ces endroits qui ne sont pas ouverts au public, servent de protection aux espèces dites vulnérables, menacées d'extinction, rares, en danger et endémiques. D'autres études [35,36] ont montré l'importance des jardins dans la conservation de la biodiversité. La valeur de la densité des jardins privés de Yamoussoukro est de $415,15 \pm 307,83 \text{ t.ha}^{-1}$. Cette forte densité est le fait des portions de forêts et des nombreuses plantations d'arbres laissées volontairement à l'arrière-cour des concessions. Ces plantations d'arbres sont des teckeraies, des plantations à *Gmelina arborea*, d'*Eucalyptus camaldulensis*, en majorité peu entretenus. Ces arbres sont plantés les uns pratiquement près des autres donnant lieu à des formations forestières dont la canopée est pratiquement fermée. Cette densité est grande comparée à la densité des espaces verts non aménagés de la ville de Strasbourg en France qui est de $70 \text{ arbres.ha}^{-1}$ [41]. Cette différence pourrait être due aux activités agricoles menées sur ces espaces. En effet, lors de l'installation des plantations agricoles, les arbres sont détruits au profit des cultures dans le but d'éviter les effets de l'ombrage sur le rendement. L'aire basale relativement élevée dans les jardins privés de la ville de Yamoussoukro est due à la volonté de leurs propriétaires

d'avoir de grands et de gros arbres pour profiter d'un maximum d'ombrage et surtout par le caractère privatif de ces jardins évitant toute exploitation de la ressource en bois. Cette valeur élevée de l'aire basale est supérieure à celle du Parc National du Banco (PNB), qualifié de réservoir hydraulique et poumon vert de la ville d'Abidjan⁵, qui est de $49,27 \text{ m}^2.\text{ha}^{-1}$ [42]. Cette différence s'expliquerait par le fait que malgré son statut de zone protégée, certains individus réussissent à tromper la vigilance des gardes forestiers pour couper les gros arbres et même des cultures agricoles ont été découvertes dans le PNB. La biomasse et le stock de carbone élevés des jardins privés de Yamoussoukro seraient dus à la forte proportion d'arbres de gros diamètre et donc à une aire basale élevée [43]. Elles sont dues aussi à la forte proportion d'espèces introduites à croissance rapide [44,45]. Cette valeur de la biomasse est supérieure à la biomasse des espèces arborescentes des échangeurs de l'autoroute du Nord [16] qui est égale à $79,15 \text{ t.ha}^{-1}$ et à la biomasse dans les espaces verts des communes de Cocody et du Plateau (Côte d'Ivoire) [15] qui est de $562,33 \pm 819,39 \text{ t.ha}^{-1}$.

Cette différence est due à la faible proportion d'arbres de gros diamètre dans la ville d'Abidjan. Ainsi, les jardins privés peuvent se révéler de gros puits à carbone comparés à des forêts plus ou moins naturelles et sont des abris pour des espèces à valeur de conservation.

5. Conclusion

Les résultats de cette étude sur les jardins privés ont montré qu'ils sont riches de 378 espèces réparties en 255 genres et 81 familles pour un total de 5269 individus dont 2184 individus $\geq 2,5 \text{ cm}$. Les microphanérophytes et les espèces introduites sont les plus abondantes. *Senna siamea*, *Bambusa vulgaris* et *Gmelina arborea* sont les espèces qui ont le plus grand nombre d'individus. *Terminalia mantaly*, *Ficus benjamina* et *Delonix regia* sont les espèces qui enregistrent les plus grandes biomasses et stock de carbone. Ces espèces sont des espèces à croissance rapide et sont aussi à la base de la forte biomasse des jardins privés.

Les jardins privés sont des espaces verts peu documentés. La difficulté réside dans leur accessibilité du fait de leur caractère privatif et de la méfiance de leurs

⁵ <https://www.oipr.ci/index.php/parcs-reserves/parcs-nationaux/parc-national-du-banco>

propriétaires. Cette étude a montré que les jardins privés constituent un réservoir à biodiversité végétale et une « zone protégée » pour les espèces à statut particulier. Cependant, la plantation des espèces végétales dans les jardins privés ne fait l'objet d'aucun suivi et peut entraîner l'introduction des espèces à caractère invasif. Ce qui se manifeste par la forte proportion d'espèces introduites recensées dans cette étude. Ainsi, il faudrait encourager plutôt la plantation des espèces locales à travers une formation et une sensibilisation à l'endroit des pépiniéristes et des propriétaires de jardins privés. Encourager les propriétaires de jardins privés à rechercher les espèces à grande valeur notamment les espèces à statut particulier.

Références

- [1] De Turkheim B. et Bruciamacchie M., La futaie irrégulière, Ed. Edisud, (2005) 2. 286 pages, ISBN13 : 978-2-7449-0553-7
- [2] Nilsson K. et Randrup T.B., Forêt urbaine et périurbaine. Dans Actes du XI^e Congrès forestier mondial, Antalya, Turquie, 13-22 octobre 1997, Vol. 1, Forest and tree resources, p. 97-110. Bakanlikar, Ankara, Turquie, Orman Bakanligi.
- [3] Millennium Ecosystem Assessment, Ecosystems and Human Well-being. Island Press, Washington DC (USA), 2 (2005) 2917.
- [4] Heisler G.M., Energy savings with trees. Journal of Arboriculture, 12, 5 (1986) 113-125. Disponible sur URL : <https://www.fs.usda.gov/treesearch/pubs/34773> (Consulté le 05/06/2020)
- [5] Nowak D.J., Crane D.E and Stevens J.C, Air pollution removal by urban trees and shrubs in the United States. Urban Forestry and Urban Greening, 4 (3-4) (2006) : 115-123. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2006.01.007>
- [6] Lessard G. et Boulfroy E., Les rôles de l'arbre en ville, Centre collégial de transfert de technologie en foresterie de Sainte-Foy (CERFO), Québec, (2008) 21. Disponible sur URL : https://afsq.org/wp-content/uploads/2017/10/les_roles_de_larbre_en_ville.pdf (Consulté le 07/05/2020)
- [7] Li Z.X., Bogdanova S.V., Collins A.S., Davidson A., De Waele B., Ernst R.E., Fitzsimons I.C.W, Fuck R.A., Gladkochub D.P., Jacobs J., Karlstrom K.E., Lu S., Natapov L.M., Pease V., Pisarevsky S.A., Thrane K. and Vernikovskiy V., Assembly, configuration, and break-up history of Rodinia : A synthesis. Precambrian Res., 160 (1-2) (2008) : 179-210. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2007.04.021>
- [8] Miller J.R., Urban Forestry, Planning and management of green space. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey (USA), (1997) 22-67.
- [9] UN, World Urbanization Prospects: The 2007 Revision. United Nations, New York, (2008) 22. Disponible sur URL : https://www.electroluxgroup.com/en/wp-content/uploads/sites/2/2010/07/2007WUP_ExecSum_web.pdf (Consulté le 05/05/2020)
- [10] FAO, Directives sur la foresterie urbaine et périurbaine. Études FAO : Forêts. ISBN (2017) 189.
- [11] Dovonon A.L.M., « Contribution à l'étude de la foresterie urbaine d'Abomey », Mémoire de Maîtrise, DGAT, UAC, (2008) 100.
- [12] Houinsou A., « Forêt Urbaine à Cotonou : Diagnostic et Approches de solution pour une Gestion intégrée ». Mémoire DEA FLASH/UAC, Bénin, (2009) p. 71.
- [13] Ali-Khodja A., Aménagement urbain : la problématique de l'espace vert public dans la ville de Constantine, Algérie, Sciences & Technologie D (32) (2010) : 9-18. Disponible sur URL : <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/58149> (Consulté le 19/03/2020)
- [14] Nassa D.D.A, Crise de la nature dans l'agglomération abidjanaise : l'exemple de la colonisation, des espaces verts par l'habitat et les commerces dans la commune de Cocody, Halshs, 1 (2009) : 1-10. Disponible sur URL : <https://ha-1shs.archives-ouvertes.fr/ha-1shs-00352541> (Consulté le 24/02/2020)
- [15] Kouadio Y.J.C., Vroh B.T.A., Goné Bi Z.B., Adou Yao C.Y. et N'Guessan K.E., Évaluation de la diversité et estimation de la biomasse des arbres d'alignement des communes du plateau et de Cocody (Abidjan-Côte d'Ivoire), Journal of Applied Biosciences, 97 (2016) : 9141-9151. <https://doi.org/10.4314/jab.v97i1.1>
- [16] Nomel G.J.R., Vroh B.T.A., Gone Bi Z.B., Adou C.Y. Yao, N'guessan K.E., Caractéristiques floristiques et structurales des espaces aménagés au niveau des échangeurs de la ville d'Abidjan (Côte d'Ivoire), Journal de la Recherche Scientifique Univ. Lomé (Togo), 19 (3) (2017) : 119-131. Disponible sur URL : <https://www.ajol.info/index.php/jrsul/article/view/167476> (Consulté le 26/02/2018)
- [17] Nomel G.J.R., Kouassi R.H., Ambé A.S.A., Kouadio Y.J.C., Doumbia M. et N'Guessan K.E., Diversité et stock de carbone des arbres d'alignement : Cas d'Assabou et Dioulakro de la ville de Yamoussoukro (Centre de la Côte d'Ivoire). IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR- JESTFT), 13 (4 Ser. I) (2019) : 84-89. DOI : [10.9790/2402-1304018489](https://doi.org/10.9790/2402-1304018489)
- [18] Aké-Assi L., Flore de la Côte d'Ivoire 1, Catalogue, systématique, biogéographie, écologie. Boisera 57, Conservatoire et jardin botanique de Genève, Suisse, (2001) 396p.
- [19] Aké-Assi L., Flore de la Côte d'Ivoire 2, Catalogue, systématique, biogéographie et écologie. Conservatoire et Jardin Botanique, Genève, Suisse, (2002) 441p.
- [20] Raunkier C., The Life Forms of Plants and Statistical Plant of Geography, Oxford Londres, Angleterre, (1934) 632p.
- [21] APG VI (Angiosperm Phylogeny Group), Classification of the Orders and Families of Flowering Plants, Botanical Journal of the Linnean Society, 31 (2) (2016) : 71-80. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- [22] Aké-Assi L., Impact de l'exploitation forestière et du développement agricole sur la conservation de la biodiversité biologique en Côte d'Ivoire, Le flamboyant, 46 (1998) 20-21.
- [23] IUCN, IUCN Red List of Threatened Species. Version 2018.1. Disponible sur URL : <http://www.iucnredlist.org> consulté le 15 Janvier 2019.
- [24] Guillaumet J.L., « Recherche sur la végétation et la flore de la région du Bas Cavally (Côte d'Ivoire) ». Mémoire ORSTOM, 20, Paris (France), (1967) 200p. Disponible sur URL : <https://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:11623> (Consulté le 14/12/2019)
- [25] Aké-Assi L., Espèces rares et en voie d'extinction de la flore de la Côte d'Ivoire, Monographies Systématique Botanique. Missouri Botanical Garden, 25 (1988) : 461-463.
- [26] DAGET, J. 1976. Les modèles mathématiques en écologie. Masson, Paris. 172 p. 90F.
- [27] Picard N., Saint-André L., Henry M. 2012. Manuel de construction d'équations allométriques pour l'estimation du volume et la biomasse des arbres : de la mesure de terrain à la prédiction. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, et Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Rome, Montpellier, 220 pp. E-ISBN 978-92-5-207347-5. <http://www.fao.org/3/i3058f/i3058f.pdf>

- [28*] Shannon C.E., A mathematical theory of communications, Bell System Technical Journal, 27 (3) (1948) : 379-423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- [29*] E.C. Pielou, The measurement of diversity in different types of biological collections, Journal of Theoretical Biology, 13 (1966): 131-144. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(66\)90013-0](https://doi.org/10.1016/0022-5193(66)90013-0)
Errata: Pielou, E. C., The: measurement of diversity in different types of biological collections. Journal of Theoretical Biology, 15 (1) (1967) 177.
- [28] Chave J., Brown S., Cairns M.A., Chambers J.Q., Eamus D., Folster H., Fromard F., Higuchi N., Kira T., Lescuyer J.P., Nelson B., Ogawa H., Puig H., Reira B. and Yamakura T., Tree allometry and improved estimation of carbon stock and balance in tropical forest, Oecologia, 145 (2005) : 87-99. <https://doi.org/10.1007/s00442-005-0100-x>
- [29] Arifin J., Estimasi cadangan C pada berbagai sistem penggunaan lahan di Kecamatan Ngantang, Malang. Skripsi-S1. Unibraw, Malang, (2001) 25.
- [30] Brown S. 1997. Estimating Biomass and Biomass Change of Tropical Forests: A Primer. For the Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 1997. FAO Forestry Paper – 134. ISBN 92-5-103955-0.
- [31] M.Y. Shin, M.D. Miah, K. Lee, Potential contribution of the forestry sector in Bangladesh to carbon sequestration. Journal of Environment and Management, 82, (2007) 260-276.
- [32] Chow P. and Rolfe G.L., Carbon and hydrogen contents of short-rotation biomass of five hardwood species, Wood and Fiber Science, 21 (1989): 30-36. Disponible sur URL : <https://wfs.swst.org/index.php/wfs/article/view/188> (Consulté le 05/01/2020)
- [35] Marco A., Barthelemy C., Dutoit T. and Bertaudière-Montes V., Bridging human and natural sciences for a better understanding of urban floral patterns: The role of planting practices in Mediterranean gardens, Ecology and Society, 15 (2) (2010): 2. [HTML version* <https://www.ecologyandsociety.org/vol15/iss2/art2/>]
- [36] Loram A., Warren P., Thompson K. and Gaston K., Urban domestic gardens: the effects of human interventions on garden composition, Environmental Management, 48 (2011): 808-824. <https://doi.org/10.1007/s00267-011-9723-3>
- [35] Marc J.V. et Martouzet D., Les jardins créoles et ornementaux comme indicateurs sociospatiaux : Analyse du cas de Fort-de-France, Vertigo, la revue électronique en sciences de l'environnement [En ligne* Hors-série 14. <https://doi.org/10.4000/vertigo.12526>
- [38] Polorigini B., Radji R. et Kokou K., Perceptions, tendances et préférences en foresterie urbaine : cas de la ville de Lomé au Togo, European Scientific Journal, 10 (5) (2014) : 261-277. Disponible sur URL : <https://core.ac.uk/download/pdf/236405542.pdf> (consulté le 17/01/2020)
- [39] Vroh B.T.A, Adou Yao C.Y., Kouamé D., N'Da D.H. et N'Guessan K.E., Diversités Floristique et Structurale sur le Site d'une Réserve Naturelle Volontaire à Azaguié, Sud- est de la Côte d'Ivoire, European Journal of Scientific Research, 45 (3) (2010) : 411-421.
- [40] Bekkouch I., Kouddane N., Darouia E., Boukroute A. et Berrichi A., Inventaire des arbres d'alignement de la ville d'Oujda, Nature et Technologie, 05 (2011) 87-91. Disponible sur URL : <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/41261> (Consulté le 9/01/2020)
- [41] M. Dardour, E. Daroui, A. Boukroute, N. Kouddane, A. Berrichi, "Inventaire et état sanitaire des arbres d'alignement de la ville de Saïdia, Maroc oriental". Revue Nature et Technologie, Sciences de l'Environnement, 10 (2014) 2-9.
- [42] Aké-Assi E., « *Plantes à potentialité décorative de la flore du sud de la Côte d'Ivoire : études taxinomiques, ethnobotanique et essai de domestication de Thunbergia atacorensis Akoegninou & Lisowski (Acanthaceae), une espèce nouvellement introduite* » Thèse de Doctorat, Université Félix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire, (2015) 216.
- [43] Selmi W., « *Services écosystémiques rendus par la végétation urbaine. Application d'approches d'évaluation à la ville de Strasbourg* » Thèse de Doctorat, Université de Strasbourg, France, (2014) 343.
- [44] N'Guessan K E., « *Évaluation Biophysique et des Services écosystémiques du Parc National du Banco* » Rapport d'études d'impact environnemental et social, Abidjan (Côte d'Ivoire), (2013) 65.
- [45] Dubé A.D.S.L. et Sénécal G., Penser le renouvellement des politiques de conservation de la forêt urbaine à l'ère du réchauffement climatique. Institut National de la Recherche Scientifique-Urbanisation, culture et société, (2006) 51.
- [46] Bell R. et Wheeler J., Local Governments for Sustainability: Talking Trees, An Urban Forestry Toolkit for Local Governments. Toronto (2006).
- [47] Georgi N.J. and Zafiriadis K., The impact of park trees on microclimate in Urban Areas, Urban Ecosystem, 9 (2006) 195-209. <https://doi.org/10.1007/s11252-006-8590-9>

Chapitre III : Soumission d'article

Article 08 : Les articles soumis à la revue doivent être en langue anglaise ou française.

Article 09 : La soumission d'articles à la revue se fait exclusivement par voie électronique sur le compte ASJP de la revue à l'adresse : <https://www.asjp.cerist.dz/en/submission/47>.

Article 10 : À la réception de l'article par l'éditeur-en-chef qui, après une première lecture, prend l'une des décisions suivantes :

1. Accepter l'article pour évaluation ;
2. Rejeter l'article pour :
 - a. Non-conformité aux thématiques de la revue ;
 - b. Non-originalité ;
 - c. Non consistance ;
 - d. Non-conformité au Template de la revue ;
 - e. Plagiat avéré.

En cas de rejet, la décision motivée peut être envoyée sur simple demande, par voie électronique, à l'auteur et aux éventuels co-auteurs.

Article 11 : Il est entendu par « plagiat » l'appropriation de publication, de résultats, de phrases ou de passages déjà publiés par une autre personne, sans reconnaissance explicite de sa paternité.

Article 12 : Il est entendu par « auto-plagiat » le fait qu'un auteur publie un article contenant des résultats, des passages ou des paragraphes déjà publiés par lui-même, sans en indiquer la source.

Article 13 : En cas de constatation avérée par l'éditeur-en-chef ou l'éditeur-associé d'un « plagiat » ou d'un « auto-plagiat » au niveau d'un article, l'une des deux décisions suivantes doit être prise :

1. Si l'article est en cours d'évaluation, une notification de rejet motivé est signifiée aux auteurs responsables.
2. Si l'article a déjà été publié dans la revue, une mention spéciale « Plagiat » doit être portée au regard de la version électronique de l'article, sur le site web de la revue.

Chapitre IV : Procédure d'évaluation

Article 14 : Après la première lecture, l'éditeur-en-chef affecte l'article à évaluer à un éditeur-associé pour sa prise en charge. L'article est soumis à une double évaluation, de façon anonyme, à au moins deux experts (referees) du Comité de Lecture en rapport avec le domaine et spécialité de l'article.

Article 14 : Le Comité de Rédaction doit s'assurer que les experts désignés aient confirmé que l'article relève bien de leur spécialité et qu'ils aient accepté de l'évaluer dans les délais impartis (1 mois). Dans le cas contraire, le Comité de Rédaction désignera d'autres experts de sorte que le principe de la double évaluation soit toujours respecté.

Article 15 : Après évaluation, l'expert fait parvenir sa fiche d'évaluation au Comité de Rédaction contenant notamment :

- Ses appréciations sur les différents aspects d'évaluation ;
- Ses remarques, critiques et observations sur l'article évalué ;
- Sa recommandation générale sur la décision à prendre au sujet de l'article. Cette recommandation peut avoir l'une des quatre issues suivantes :
 1. Article accepté en l'état
 2. Article accepté avec modification mineure
 3. Article accepté avec modification majeure
 4. Article rejet

Article 17 : Dès réception des avis des deux experts, le rédacteur-en-chef prendra l'une des décisions suivantes :

1. Si les deux avis des experts correspondent à une « acceptation », l'article est accepté pour une éventuelle publication dans la revue.
2. Si les deux avis des experts correspondent à des « rejets », l'article est rejeté.
3. Si les deux avis sont contradictoires, l'article doit être soumis à une troisième évaluation dont l'issue définira la suite à réserver à l'article.

Article 18 : Si l'article est accepté sous réserve de modifications - mineures ou majeures- les auteurs sont tenus de renvoyer une version modifiée de leur article, dans un délai n'excédant pas un mois à compter de la date de notification. Ils sont tenus de préciser clairement, sur fichier à part, les modifications portées sur la version corrigée de l'article et répondre aux remarques et questions des reviewers.

Article 19 : Si l'article est accepté sous réserve de modifications, la version corrigée de l'article doit être soumise à une seconde évaluation par les mêmes experts, si possible, ayant réalisé la première évaluation.

Article 20 : Les avis recommandant une acceptation en l'état ou un rejet, non motivés par l'expert, sont considérées comme nulles et ne sont pas prises en compte.

Article 21 : Si après une deuxième lecture, les deux avis sont contradictoires, l'article doit être soumis à une troisième évaluation dont l'issue définira la suite à réserver à l'article.

Dans ce dernier cas, une explication peut être envoyée par le rédacteur-en-chef aux experts concernés pour justifier la décision finale

Chapitre V : Cession des droits d'auteur

Article 22 : Après acceptation d'un l'article, l'auteur principal est invité à signer une déclaration de cession des droits d'auteur à la revue selon les termes de la licence CC-BY de [Creative Commons Attributions 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) avant son impression et sa mise en ligne.

Chapitre VI : Confidentialité

Article 23 : Tous les membres du Comité de Lecture et du Comité de Rédaction sont soumis à l'obligation de la confidentialité des articles. Il leur est strictement interdit de divulguer le contenu, total ou partiel, même du résumé, des articles en cours d'évaluation par la revue. Cette interdiction reste valable même pour les articles définitivement rejetés.

Chapitre VII : Anonymat

Article 24 : Pendant toute la procédure d'évaluation, le Comité de Rédaction est tenu de garantir l'anonymat des experts et des auteurs. Les articles doivent être soumis aux experts de façon anonyme. Les fiches d'évaluations envoyées aux auteurs doivent aussi être anonymes.

Revue Nature et Technologie

Academic Journal with an International Dissemination

Vol. 13 – Issue 01
January 2021

