

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

ISSN 2170-1318

ADRESSE DE LA DIRECTION DE LA PUBLICATION

Algerian Journal of Arid Environment

Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides

Faculté des sciences de la nature et de la vie

BP 511, Université Kasdi Merbah Ouargla

30000 Ouargla, Algérie

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

Web: www.ouargla-univ.dz E-mail: ecosys.infos@yahoo.fr

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



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

Algerian Journal of Arid Environment

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

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

ISSN 2170-1318

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

Volume 4, numéro 2, Décembre 2014



ALGERIAN JOURNAL OF ARID ENVIRONMENT

REVUE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
LABORATOIRE DE PROTECTION DES ECOSYSTEMES EN ZONES ARIDES ET SEMI ARIDES
UNIVERSITE KASDI MABAH OUARGLA
ISSN 2170-1318



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

Algerian Journal of Arid Environment

“AJAE”

vol. 4, n°2 - 2014

Sommaire

Activité antilevurienne d'une souche d'actinobactérie appartenant au genre <i>Streptosporangium</i> et isolée d'un sol saharien	BOUDJELLA Hadjira, LAMARI Lynda, BOUTI Karima et SABAOU Nasserline.....	3
Analyse de la situation sanitaire mammaire sur lait de quartier et estimation des pertes laitières engendrées chez des unités bovines hors sol en Tunisie	M'SADAK Youssef*, MAKHLOUF Marwa et HAMED Ibtihel.....	19
Production laitière, croissance et comportement des agneaux chez le mouton Rembi en période d'allaitement	BENCHOHRA Mokhtar, BOULKABOUL Aboud, AGGAD Hebib, AMARA Karim, KALBAZA Ahmad Yacine et HÉMIDA Houari.....	31
Sur l'origine des croûtes gypseuses du Sahara septentrional Algérien: cas de la région de Ouargla	YOUCEF Fouzia*, HAMDIAÏSSA Baelhadj, BOUHADJA Meghnia, LAMINI Khadidja.....	42
Évaluations technologique, technique et hygiénique de la traite mécanique des vaches en pot dans la Tunisie littorale semi-aride	M'SADAK Youssef*, MAKHLOUF Marwa, HAMED Ibtihel.....	50
Influence de quelques souches bactériennes d'origine saharienne sur l'expression de la fusariose du lin et du palmier dattier	LAMARI Lynda, BOURAS Nouredine, BOUDJELLA Hadjira, OULD EL HADJ-KHELIL Aminata, OULD EL HADJ Mohamed Didi et SABAOU Nasserline.....	65
Importance des ressources hydriques et leurs impacts sur le développement durable dans le bassin de Timgad (Algérie Nord orientale)	DJAIZ Fouad*, ATHAMENA Malika, ATHAMENA Ali.....	78
Niveaux périphériques de progestérone chez la chamelle Chaambi	ADAMOUCHE Abdelkader et BAIRI Abdelmadjid.....	88
Effet de la pollution atmosphérique par les hydrocarbures sur le lichen <i>Xanthoria parietina</i> (L.) Th (Teloschistaceae) dans la zone de Hassi Messaoud (sahara septentrional est algerien)	KHELIL Rahma, OULD EL HADJ-KHELIL Aminata, DADAMOUCHE Belkeir, CABELLO-HURTADO Francisco et ESNAULT Marie-Andrée.....	98
Caractérisation phytochimique de deux extraits de <i>Brocchia cinerea</i> Vis. (Asteraceae) par GC-MS: activité anti-Clostridium	BOUZIANE Mebarka, MAHFOUD HADJ-Mahammed, BADJAH-HADJ-AHMED Ahmed Yacine et OULD-ELHADJ-Mohamed Didi.....	107

ACTIVITE ANTILEVURIENNE D'UNE SOUCHE D'ACTINOBACTERIE APPARTENANT AU GENRE *STREPTOSPORANGIUM* ET ISOLEE D'UN SOL SAHARIEN

BOUDJELLA Hadjira^{*}, LAMARI Lynda, BOUTI Karima et SABAOU Nasserline
Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM)
Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie. E-mail: h-boudjella@live.fr

Résumé.- Une nouvelle souche d'actinobactérie isolée d'un sol saharien, appartenant au genre *Streptosporangium* et désignée Sg163 présente une activité antilevurienne dirigée principalement contre *Candida albicans*. Cette activité est évaluée dans différents milieux de culture. Les composés bioactifs sont ensuite extraits et purifiés par chromatographie sur colonne de gel de Séphadex LH-20 et par HPLC, puis caractérisés partiellement par des révélations chimiques et par des analyses spectroscopiques. Les résultats indiquent que la souche de *Streptosporangium* Sg163 produit trois complexes antibiotiques rattachés au groupe des aminoglycosides.

Mots clés: Actinobactérie, *Streptosporangium*, activité antilevurienne, production, caractérisation d'antifongiques.

ANTIYEAST ACTIVITY FROM AN ACTINOBACTERIAL STRAIN OF THE GENUS *STREPTOSPORANGIUM* ISOLATED FROM A SAHARAN SOIL

Abstract.- A new strain of actinobacteria isolated from a Saharan soil, belonging to the genus *Streptosporangium* and designated Sg163 produced an antiyeast activity directed mainly against *Candida albicans*. The production of the antiyeast activity was evaluated in different culture media. The bioactive compounds were then extracted and purified by column chromatography on LH-20 Sephadex gel and by HPLC, and partially characterized by chemical revelations and spectroscopic analyzes. The results indicate that the strain of *Streptosporangium* Sg163 produces three antibiotic complexes related to the aminoglycosides group.

Key words: Actinobacteria, *Streptosporangium*, antiyeast activity, production, characterization of antifungals.

Introduction

La recherche de nouveaux agents antifongiques ne cesse de se développer. Elle est stimulée principalement par l'acquisition de la résistance des microorganismes pathogènes aux agents antifongiques utilisés, comme les dérivés azolés, la 5-fluorocytosine et l'Amphotéricine B [1,2,3]. Elle est également justifiée par l'émergence massive des infections fongiques associées aux maladies (SIDA, cancer, diabète, transplantation d'organes, etc.) et la hausse de la fréquence des mycoses mortelles dues à l'emploi de protocoles thérapeutiques immunosuppresseurs [4,5]. Dans ce cas, les champignons peuvent se révéler opportunistes et causer divers types de mycoses, allant des formes localisées superficielles aux atteintes profondes invasives mettant en jeu le pronostic vital [6]. Parmi les infections fongiques impliquées en pathologie humaine, l'agent étiologique le plus courant est la levure *Candida albicans*. Les candidoses sont les infections opportunistes les plus fréquentes [7,8] et la quatrième cause d'infection nosocomiale [9].

En conséquence, le contrôle de la colonisation fongique par l'utilisation de nouveaux antifongiques peut s'avérer une piste incontournable.

Dans un tel contexte, et pour être en mesure de réduire l'incidence et les conséquences des candidoses, il est nécessaire de rechercher de nouvelles molécules antifongiques innovantes. Les antibiotiques en général, sont élaborés par divers organismes vivants notamment les microorganismes (bactéries et champignons). Parmi ceux-ci, les actinobactéries, appelés aussi actinomycètes, constituent l'un des groupes les plus étudiés pour le dépistage de nouvelles molécules bioactives [10,11]. Ces bactéries sont retrouvées dans divers habitats, même les plus hostiles, et principalement dans les sols. Le genre *Streptomyces* est le principal pourvoyeur en antibiotiques, mais d'autres genres sont également producteurs. L'une des stratégies pour augmenter la probabilité d'obtenir de nouveaux antibiotiques d'origine actinobactérienne est d'explorer des environnements extrêmes (sols arides, salés, etc.) et des habitats les moins exploités et également viser des actinobactéries dites 'rares' [12,13]. Ainsi, Les bioprospections de tels environnements ont été d'un succès remarquable. En effet, plusieurs actinobactéries rares ont été isolées et sont à l'origine de nouveaux antibiotiques [14,15,10,13,11].

Les sols sahariens d'Algérie représentent des écosystèmes particuliers. Leur exploration a permis de mettre en évidence leur richesse et leur biodiversité en actinobactéries rares [16]. De nombreux travaux ont été réalisés dans le but de rechercher des souches productrices d'antibiotiques. Plusieurs souches isolées sont de nouvelles espèces et produisent de nouvelles molécules antimicrobiennes [17-22].

A ce propos, une souche d'actinobactérie rare identifiée au genre *Streptosporangium* et isolée d'un échantillon de sol saharien, a présenté une activité antifongique à action dirigée essentiellement contre la levure *Candida albicans*. Dans ce travail, la production des antibiotiques antilevuriens, leur extraction, leur purification et leur caractérisation sont rapportées.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Origine de la souche

La souche Sg163 de *Streptosporangium* sp. a été isolée par la méthode des suspensions-dilutions [23] à partir d'un échantillon de sol de la palmeraie d'Adrar (Sahara central algérien), prétraité à 120°C pendant 1 h [24] et sur milieu «chitine-vitamines-agar» [25] additionné de cycloheximide (50 µg/ml).

1.2.- Détermination des propriétés antilevuriennes de la souche

La souche Sg163 a été évaluée pour ses propriétés antilevuriennes par la méthode des stries croisées [26] sur milieu ISP2 solide contre les souches de levures suivantes: *Candida albicans* IPA 200, *Candida albicans* IPA 224, *Kluyveromyces lactis* K231, *Rhodotorula mucilaginosa* R254 et *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4226.

Cette méthode consiste à ensemercer la souche Sg163 en un seul trait à la surface du milieu et en bordure de la boîte de Pétri (diamètre = 9 cm). Après incubation à 30°C pendant 10 jours, les souches de levures sont ensemençées perpendiculairement à l'actinobactérie. Chaque souche-cible est ensemençée 3 fois. La lecture des résultats se fait

en mesurant, après 24 h d'incubation, la distance d'inhibition entre les bordures de la souche-cible et de la souche Sg163.

1.3.- Cinétiques de production d'antibiotiques en milieux de culture agités

1.3.1.- Recherche d'un milieu de culture de production optimale

Afin de déterminer le milieu de culture de production optimale, cinq milieux de complexes préconisés pour la production d'antibiotiques sont testés. Les milieux sélectionnés sont: le milieu ISP2 [27] à base de glucose, d'extrait de levure et d'extrait de malt; le milieu Bennett [28] à base de glucose, d'extrait de viande, d'extrait de levure et de peptone; le milieu ISP4 [27] à base d'amidon et de sels inorganiques; le milieu désigné M4 [29] à base de glycérol, d'extrait de levure, d'extrait de malt et de peptone of soja, et le milieu M5 [30] à base de glucose, d'extrait de viande, de levure sèche et de peptone. Chaque expérience est réalisée en triple.

Les milieux sont préparés dans des fioles d'Erlenmeyer de 500 ml contenant 100 ml de milieu. Le pH est ajusté à 7,3 avant autoclavage. Pour les précultures, la souche Sg163 est cultivée sur le milieu ISP2 solide pendant 7 jours à 30°C. Le mycélium est ensuite raclé à l'aide d'une anse et inoculé dans des fioles d'Erlenmeyer de 250 ml contenant 50 ml de chaque milieu testé. Après 4 jours d'incubation dans un agitateur rotatif (250 rpm) à 30°C, des aliquotes (5%, v/v) de la préculture sont transférés dans des fioles d'Erlenmeyer de 500 ml contenant 100 ml de milieu. Ces cultures de production sont incubées en agitation rotative (250 rpm) à 30°C. Les cinétiques sont suivies pendant 13 jours. La production des antibiotiques antilevuriens est mesurée par la méthode de diffusion des puits [31] contre *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4226. Vingt millilitres (20 ml) de milieu Sabouraud (à 12 g/l d'agar) sont inoculés avec 100 µl de suspension levurienne contenant 10⁸ UFC/ml, puis coulés en boîtes de Pétri et laissés se solidifier à la température de laboratoire. Des puits de 10 mm sont confectionnés stérilement à l'aide d'un emporte-pièce. Chaque puits reçoit 200 µl de filtrat de culture. Les prélèvements sont effectués toutes les 24 h pendant 13 jours. Les boîtes sont mises 2 h à 4°C pour permettre la diffusion des substances actives tout en arrêtant momentanément la croissance des germes, puis incubées à 30°C. La lecture des résultats se fait en mesurant le diamètre de l'auréole d'inhibition autour du puits après 24 h d'incubation.

1.3.2.- Cinétique de production en milieu ISP2

Les précultures, les cultures, les prélèvements et la mesure de la production sont effectués dans les mêmes conditions que l'expérience précédente. Au cours de cette cinétique, la croissance et le pH sont également mesurés.

La croissance est calculée par la mesure du poids sec de la biomasse selon la méthode de PFEFFERLE *et al.* (1997) [32]. Chaque jour une aliquote de 2 ml de la culture homogénéisée est prélevée stérilement dans un tube Eppendorf de 2 ml préalablement taré. Après centrifugation à 13 000 rpm pendant 10 min, le surnageant est récupéré séparément pour mesurer le pH (pH mètre HANNA instruments). L'Eppendorf contenant le culot servira pour la mesure de la croissance. Il est déposé dans un four à 105°C pendant 24 h. Le poids sec obtenu est rapporté en gramme de matière sèche par litre de milieu de culture.

1.4.- Extraction et purification des composés antilevuriens

Une fois le jour de production optimale déterminé lors de la cinétique en milieu de culture ISP2, des cultures de production sont réalisées. Le jour de production optimale, la culture est arrêtée pour faire l'extraction puis la purification des composés antilevuriens.

1.4.1.- Extraction de l'activité antilevurienne

L'extraction des antibiotiques est réalisée à partir du filtrat de culture en ampoules à décanter et en utilisant le *n*-butanol. Ce solvant a été choisi parmi 4 solvants dans un test préliminaire. La culture est centrifugée puis filtrée. Le filtrat est mélangé dans une ampoule à décanter, avec un volume égal en solvant. Les phases organique et aqueuse sont récupérées séparément et testés pour leur activité antilevurienne.

1.4.2.- Traitement de la phase aqueuse au charbon actif

L'activité antilevurienne n'étant pas extractible par le *n*-butanol, elle reste dans la phase aqueuse. Sa purification s'est avérée difficile à cause des pigments bruns issus du filtrat de culture. Un traitement au charbon actif permet d'adsorber les pigments et les éliminer de la phase aqueuse. Pour cela, la phase aqueuse est additionnée de charbon à raison de 20 g/l. Le tout est mis en agitation magnétique pendant 2 h à température ambiante, puis centrifugé. Le surnageant est filtré sous vide avec des filtres membranes de 0,45 µm. La phase aqueuse, initialement brune foncée, devient alors nettement plus claire. Cette phase aqueuse décolorée est concentrée à sec au rotavapeur, puis récupérée dans un minimum d'eau bi-distillée.

1.4.3.- Semi-purification des antibiotiques par chromatographie sur colonne

Du gel de Séphadex LH-20 (Fluka) est utilisé comme phase stationnaire pour la purification des substances antilevuriennes. Ce gel a été préalablement gonflé et coulé dans une colonne en verre (dimensions 50 cm × 2 cm) et équilibré avec de l'eau bi-distillée. Des aliquotes de 1 à 2 ml du concentré de l'extrait aqueux sont par la suite déposées en surface et passées à travers ce gel. L'élution est faite en mode isocratique à 25% de méthanol dans l'eau avec un débit de 1,2 ml/min. Des fractions de 5 ml sont récupérées en tubes à essai, concentrées et testées par antibiographie contre *Saccharomyces cerevisiae* pour détecter les fractions actives.

1.4.4.- Purification par HPLC

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a été utilisée comme dernière étape de purification des substances antilevuriennes. L'appareil de type Waters, comprend un contrôleur 600, une pompe 600 à 4 voies, un détecteur UV 2487 et un enregistreur Linear. La colonne contient une phase inverse C18 (250 mm × 7,8 mm UP ODS, granulométrie 5 µm). Elle est précédée d'une pré-colonne contenant la même phase stationnaire. La phase mobile est un mélange d'eau et de méthanol. Le programme utilisé consiste en un gradient linéaire continu de 0 à 15% MeOH-eau pendant 20 min (débit 0,6 ml/min) puis en mode isocratique à 25% MeOH-eau (débit 1,5 ml/min). La détection en UV est faite à 220 nm. Ces conditions de purification ont été déterminées après plusieurs expériences préliminaires. Les différentes fractions récoltées séparément sont concentrées puis testées par antibiographie. La purification finale est obtenue après 3 ré-injections.

1.5.- Études physico-chimique et spectroscopiques

1.5.1.- Test de thermostabilité

La concentration de l'extrait aqueux au rotavapeur est une étape indispensable pour la réalisation des purifications ultérieures des composés antilevuriens. Cette concentration s'avère difficile sans augmentation de la température du bain-marie. Il est donc testé l'activité de l'extrait après traitement à différentes températures. Des aliquotes de 5 ml d'extrait aqueux actif, sont soumises aux traitements thermiques suivants: 45°C, 50°C, 75°C et 100°C pendant 60 min, et 120°C (à l'autoclave) pendant 30 min. Les échantillons sont laissés refroidir à la température ambiante et testés ensuite pour leur activité antilevurienne par la méthode de diffusion des puits contre *Saccharomyces cerevisiae*. Un échantillon témoin maintenu à la température du laboratoire (25°C) est testé en même temps que les échantillons traités.

1.5.2.- Test de solubilité

La solubilité des antibiotiques antilevuriens est étudiée dans plusieurs solvants: acétone, *n*-propanol, acétonitrile, diméthylsulfoxyde (DMSO), éthanol, méthanol et eau. Des aliquotes de 5 ml d'extrait aqueux sont réparties dans des piluliers et évaporées à sec. Cinq millilitres (5 ml) de solvant sont ajoutés dans chaque pilulier. Chaque échantillon est testé pour son activité antilevurienne par la méthode de diffusion des puits contre *Saccharomyces cerevisiae*.

1.5.3.- Révélation chimiques

Les antibiotiques, après purification, sont révélés par des réactifs pour avoir une idée sur leur nature chimique. Ces révélations ont été effectuées sur des plaques de chromatographie sur couche mince de gel de silice G60 (Merck), où les antibiotiques sont d'abord spotés puis développés dans le système de solvants «éthanol-ammoniaque-eau» (E.A.E., 80:10:10, v/v/v).

Les révélateurs utilisés [33] sont: la ninhydrine (révélateur des fonctions amines), le naphthorésorcinol-H₂SO₄ (révélateur des glucides), l'ansaldéhyde-H₂SO₄ (révélateur des glucides, des stéroïdes et des terpènes), la vanilline-H₂SO₄ (révélateur des alcools supérieurs, des stéroïdes et des huiles étherées), le chlorure de fer ferrique (révélateur des phénols) et le formaldéhyde-H₂SO₄ (révélateur des composés aromatiques polycycliques). Les taches colorées peuvent apparaître à froid ou parfois à chaud (5 min à 100°C).

1.5.4.- Analyses spectroscopiques

Les spectres UV-visible ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin Elmer Lambda 20 entre les longueurs d'ondes 200 et 500 nm. Les spectres infrarouges (IR) ont été obtenus avec un spectromètre modèle Shimadzu IR 470, entre 400 et 4000 cm⁻¹. Les masses sont déterminées avec un spectromètre LCQ ion-trap (Finnigan MAT, San Jose, CA) par "Nano-Electrospray Ionisation" (Nano-ESI-IT-MS). L'analyse est réalisée en modes positif et négatif. Le programme d'analyse utilisé est Xcalibur 1.2 de ThermoDuest (San Jose, USA).

2.- Résultats et discussion

2.1.- Mise en évidence de l'activité antilevurienne par la méthode des stries croisées

Les résultats de l'activité antibiotique par la méthode des stries croisées sont présentés dans le tableau I. La souche Sg163 présente une forte activité contre toutes les souches de levures testées. L'activité est particulièrement importante contre *Candida albicans* IPA 224 pathogène pour l'Homme, ainsi que contre *Saccharomyces cerevisiae*.

Tableau I.- Activité antilevurienne de la souche Sg163 de *Streptosporangium* sp. par la méthode des stries croisées (*: Moyenne des 3 répétitions)

Levures-cibles	Distance d'inhibition (mm)*
<i>Candida albicans</i> IPA 200	10
<i>Candida albicans</i> IPA 224	19
<i>Kluyveromyces lactis</i> K231	13
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> R254	8
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 4226	34

2.2.- Etude de la production des antibiotiques en milieux de culture agités

2.2.1.- Production en milieux de culture complexes

Afin de choisir le milieu de production optimale, des milieux de culture complexes préconisés pour la production d'antibiotiques, sont testés. Les résultats sont présentés sur la figure 1. L'activité antilevurienne (contre *Saccharomyces cerevisiae*) est observée sur tous les milieux testés. Cependant, cette activité est nettement meilleure dans le milieu ISP2. Le milieu ISP4 a globalement fourni les résultats les plus faibles.

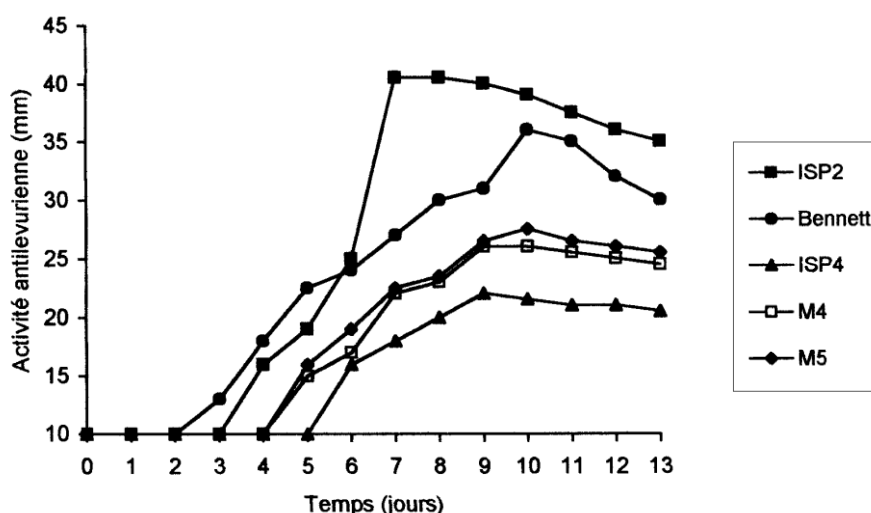


Figure 1.- Activité antilevurienne (contre *Saccharomyces cerevisiae*) de la souche Sg163 en milieux de culture complexes (fioles d'Erlenmeyer de 500 ml, 250 rpm, 30°C)

L'activité antilevurienne est mesurée par la méthode de diffusion des puits. Le diamètre du puits qui est de 10 mm est inclus dans les valeurs des diamètres d'inhibition.

Le milieu ISP2 est suivi du milieu Bennett, puis des milieux M5 de OMURA *et al.* (1968) [23] et M4 de GILPIN *et al.* (2004b) [22] qui ont donné des résultats pratiquement similaires. Les milieux ISP2, Bennett et M5 contiennent du glucose comme source de carbone. Le milieu M4 contient du glycérol. Le milieu Bennett contient 10 g de glucose, tout comme l'ISP2. Le milieu M5 contient 20g de glucose. Cette source de carbone rapidement assimilable est connue comme étant un excellent stimulant de la croissance microbienne [34], et sa concentration est déterminante pour la production des antibiotiques. En effet, pour de nombreux microorganismes, elle exerce à haute concentration, une action négative sur la synthèse d'antibiotiques (répression catabolique glucidique ou effet glucose). Plusieurs auteurs ont rapporté que les fortes concentrations en glucose ou d'autres sources carbonées facilement assimilables sont généralement défavorables à la production [35,36,37,34]. Dans notre cas, il semble que les antibiotiques de la souche Sg163 ne soient pas soumis à cette répression catabolique (du moins, aux concentrations de glucides utilisées).

Les résultats de ces cinétiques ont permis de sélectionner le milieu ISP2 comme milieu de production pour la suite du travail.

2.2.3.- Cinétique de production en milieu ISP2

Au cours de la culture en milieu ISP2, la croissance (poids sec de la biomasse), la production d'antibiotiques (méthode de diffusion des puits) et le pH sont mesurés quotidiennement pendant 13 jours. Leur évolution au cours du temps est présentée dans la figure 2.

L'activité antilevurienne est détectée le 3^{ème} jour de culture. Elle atteint son maximum le 7^{ème} jour (40 mm) puis décline progressivement jusqu'au 13^{ème} jour. Cette activité évolue en corrélation avec la croissance. De légères variations du pH sont enregistrées avec un maximum (pH 8,6) atteint le 8^{ème} jour de culture.

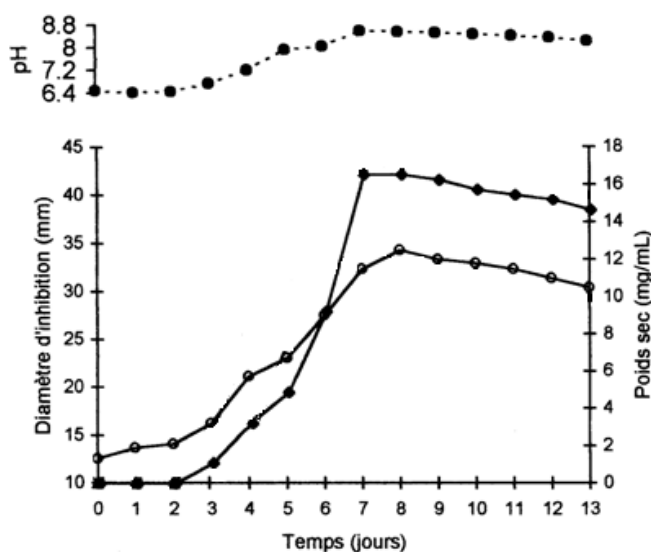


Figure 2.- Cinétique de croissance et activité antifongique en milieu ISP2, en fioles d'Erlenmeyer (500 ml, 250 rpm, 30°C) [L'activité antilevurienne est mesurée par la méthode de diffusion des puits. Le diamètre d'inhibition comprend celui du puits qui est de 10 mm. ◆ : activité antilevurienne (contre *Saccharomyces cerevisiae*); ○ : poids sec; ● : pH]

A l'issue de cette cinétique, des cultures de production sont réalisées dans le milieu ISP2. Le 7^{ème} jour, les cultures sont arrêtées pour faire les extractions.

2.3.- Extraction et purification des antibiotiques

2.3.1.- Extraction

L'extraction liquide-liquide en ampoules à décanter et à partir du filtrat de culture est effectuée avec 4 solvants organiques de polarités différentes (*n*-hexane, acétate d'éthyle, dichlorométhane, *n*-butanol). Les phases organiques et aqueuses recueillies séparément sont testées contre la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Aucun extrait organique n'est actif contre la levure dont l'activité reste présente dans la phase aqueuse. Celle-ci obtenue après extraction au *n*-butanol, présente une activité antilevurienne de 36 mm contre *Saccharomyces cerevisiae*.

Même si l'activité antilevurienne n'est pas extractible par le *n*-butanol, celui-ci permet déjà d'éliminer le maximum d'impuretés. La phase aqueuse, qui constitue l'extrait brut, est traitée au charbon actif afin d'éliminer les pigments bruns inactifs. Cet extrait brut a été testé contre d'autres microorganismes (résultats non présentés) englobant des moisissures (*Umbelopsis ramanniana* et *Fusarium culmorum*) et des bactéries (*Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* et *Serratia marcescens*) et il s'est avéré inactif. Il est donc strictement antilevurien.

2.3.2.- Purification

La purification de l'antibiotique antilevurien est d'abord effectuée par chromatographie sur colonne puis par HPLC.

La semi-purification de l'extrait aqueux antilevurien est réalisée avec le gel de Séphadex LH-20. La phase aqueuse obtenue après extraction du filtrat de culture au *n*-butanol, est concentrée au rotavapeur et récupérée dans un minimum d'eau pure. L'élution est faite en mode isocratique à 25% de méthanol dans l'eau. Les couleurs, les temps de rétention et l'aspect des fractions (trouble ou solution claire) ainsi que les activités (contre la levure *Saccharomyces cerevisiae*) sont notés. Cinq bandes de couleurs différentes sont obtenues, dont trois, BJ1, JP et BJ2, sont actives contre *S. cerevisiae*. Les résultats des activités des différentes bandes sont présentés dans le tableau II.

Tableau II.- Activités contre *Saccharomyces cerevisiae* des différentes bandes obtenues par chromatographie sur colonne de gel de Séphadex LH-20 (isocratique à 25% de MeOH-eau)

Tubes assemblés (numéros)	Couleur (désignation)	Diamètre d'inhibition (mm)
1 à 3	Incolore (NC1)	0
4 à 7	Brun jaunâtre (BJ1)	30
8 à 11	Jaune pâle (JP)	34
12 à 15	Brun jaunâtre (BJ2)	42
16 à 20	Incolore (NC2)	0

Note. Antibiographie par la méthode des puits (8 mm de diamètre, 100 µl/puits). Le diamètre du puits est inclus dans les valeurs des diamètres d'inhibition.

Les fractions actives semi-pures BJ1, JP et BJ2 sont purifiées par HPLC en utilisant la colonne C18. Le programme utilisé consiste en un gradient linéaire continu de 0 à 15% MeOH-eau pendant 20 min (débit 0,6 ml/min) puis en mode isocratique à 25% MeOH-eau (débit 1,5 ml/min). Les 3 fractions actives BJ1, JP et BJ2 sont en fait des complexes d'antibiotiques. Six pics actifs (notés A, B, C, G, H et I) sont obtenus pour BJ1, 2 pour JP (notés JP1 et JP2) et 9 pour BJ2 (numérotés de BJ2-1 à BJ2-9) (fig. 3). Du fait des difficultés à purifier tous ces antibiotiques hydrophiles par HPLC, il est poursuivi la purification pour les 4 antibiotiques BJ1-B, BJ1-G, JP2 et BJ2-8.

2.4.- Analyses physico-chimique des antibiotiques antilevuriens

2.4.1.- Stabilité à la température

L'étude de la stabilité de l'activité antilevurienne globale à différents traitements thermiques est indispensable vu que l'activité se trouve dans la phase aqueuse et sa concentration au rotavapeur est très longue à faible température. La stabilité de l'activité dans les échantillons soumis aux traitements thermiques et dans l'échantillon témoin, est évaluée par la méthode de diffusion des puits (mesure des diamètres d'inhibition contre la levure *Saccharomyces cerevisiae*). Les résultats montrent que l'activité reste parfaitement stable pendant 1h à 45°C, 50°C et 75°C (23,5 mm; 23,5; 23,5 mm de diamètre d'inhibition), et ce en comparaison au témoin non traité (24 mm). Même après chauffage à 100°C (1h) ou 120°C (30 min), l'activité reste très appréciable (21,5 et 18,5 respectivement).

2.4.2.- Solubilité

La solubilité de l'activité antilevurienne dans différents solvants est également évaluée par la méthode de diffusion des puits (mesure des diamètres d'inhibition contre la levure *Saccharomyces cerevisiae*). Les résultats montrent que les antibiotiques sont très solubles dans l'eau (23 mm), moyennement solubles dans le diméthylsulfoxyde (17 mm) et faiblement solubles dans le méthanol (9,5 mm). L'activité est insoluble dans les autres solvants testés (acétone, *n*-propanol et acétonitrile).

2.4.3.- Révélations chimiques

Les antibiotiques BJ1-B, BJ1-G, JP2 et BJ2-8 ont présenté dans le système de solvant E.A.E. un même R_f (rapport frontal) qui est de R_f 0,14.

Les antibiotiques ont tous donné des réactions positives avec la ninhydrine (révéléateur des amines), le naphthorésorcinol (révéléateur des glucides) et la vanilline-H₂SO₄ (révéléateur des alcools supérieurs, des stéroïdes et des huiles étherées). Les réactions sont par contre négatives avec le formaldéhyde-H₂SO₄ (révéléateur des aromatiques polycycliques), le chlorure de fer ferrique (révélateurs des phénols et des acides hydroxamiques) et la nitro-4-aniline (révéléateur des phénols). Ces résultats suggèrent que ces antibiotiques possèdent dans leur structure un à plusieurs sucres (naphthorésorcinol-H₂SO₄ +), des amines (ninhydrine +), des groupements hydroxyles avec possibilité de liaisons éther (vanilline-H₂SO₄ +).

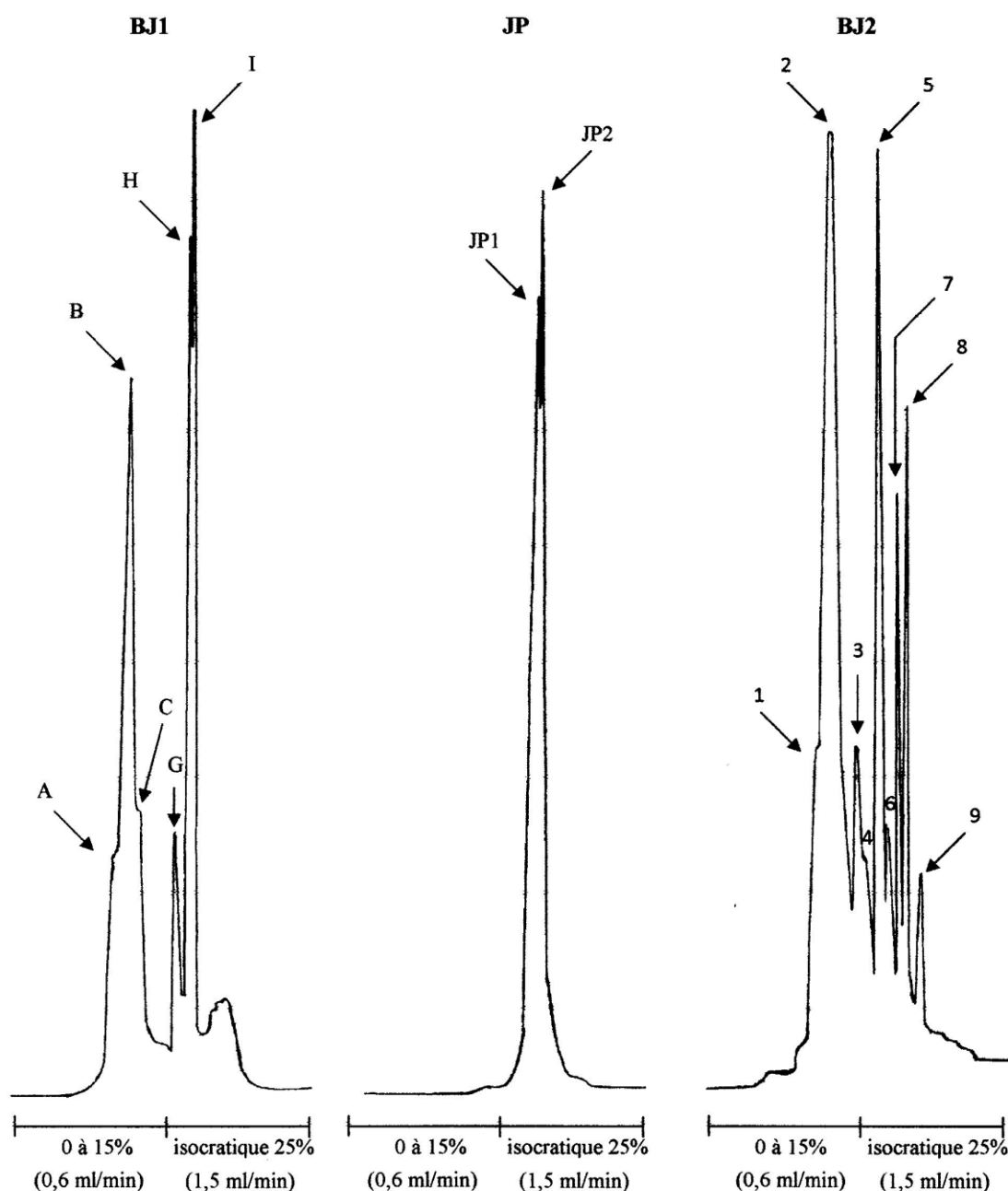


Figure 3.- Profils d'élution en HPLC des premières injections des fractions actives BJ1, JP et BJ2 solubilisées dans de l'eau

2.5.- Analyses spectroscopiques

2.5.1.- Analyse par spectrophotométrie UV-visible

Le spectre UV-visible de l'extrait brut actif (fig. 4) montre des maxima d'absorption à 214 et 248 nm. Ce spectre n'a pas montré les pics d'absorption caractéristiques des polyènes (absence des 3 maxima d'absorption entre 260 et 405 nm). Les antibiotiques présents dans cet extrait ne sont donc pas polyéniques. Les polyènes sont

connus pour leur toxicité et leur instabilité et sont de ce fait écartés des programmes de recherche de nouvelles molécules antifongiques.

Les antibiotiques purifiés présentent des spectres qui absorbent entre 214 et 220 nm. Ceci suggère que l'on est en présence de produits totalement saturés (pas d'absorption dans l'UV).

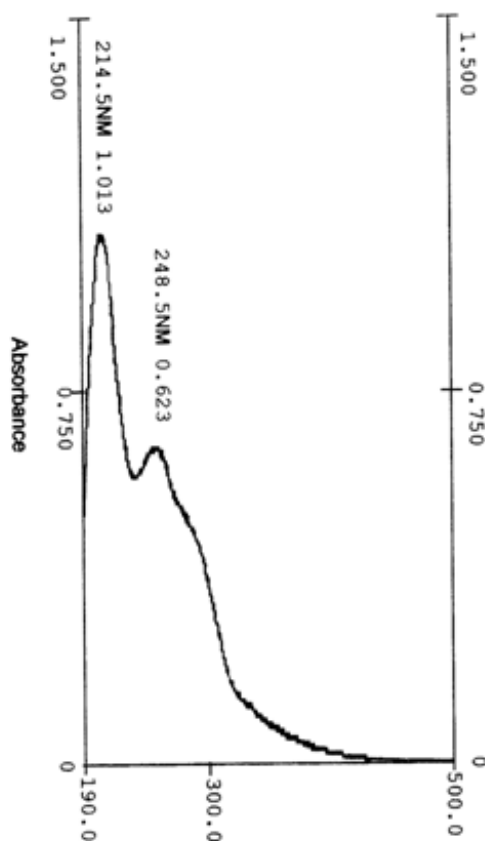


Figure 4.- Spectre UV-visible de l'extrait aqueux brut

2.5.2.- Spectroscopie infrarouge

Le spectre infrarouge des antibiotiques BJ1-B, BJ1-G, JP2 et BJ2-8 sont similaires entre eux, ce qui indique des structures très proches. Ils présentent des bandes d'absorption à 3400 et 3200 cm^{-1} indiquant la présence de fonctions OH et NH_2 , et détectées déjà par les révélations chimiques. Ces fonctions sont confirmées par d'autres bandes à 1620~1645 cm^{-1} , 1400, 1180, 1065, 1150 et 1025 cm^{-1} . Les bandes à 2850 et à 1480 cm^{-1} montrent la présence de groupements CH du CH, du CH_2 et/ou du CH_3 . Ces résultats confirment ceux des révélations chimiques qui indiquent la présence de fonctions OH et NH_2 , des groupements CH_3 , CH_2 et/ou CH et des liaisons éther. Ces données suggèrent très fortement que les antibiotiques antilevuriens sont à classer parmi les aminoglycosides. Ces derniers sont des composés basiques fortement polaires et polycationiques dont la structure moléculaire est caractérisée par 2 ou 3 sucres aminés ou plus (groupements aminés et également hydroxyles) attachés par une liaison glycosidique à un noyau aminocyclitol [38,39]. Ils sont hydrosolubles (163A n'étant soluble que dans l'eau et le diméthylsulfoxyde).

2.5.3.- Spectrométrie de masse

Les poids moléculaires des antibiotiques BJ1-B, BJ1-G, JP2 et BJ2-8 sont de 340, 358, 458 et 396 respectivement. Au vu de leurs poids assez réduits, nos antibiotiques ne contiendraient que deux ou trois sucres aminés.

Les spectres de masse des antibiotiques BJ1-B, BJ1-G, JP2 et BJ2-8 présentent souvent en commun les fragments correspondant aux m/z 359, 339, 297, 275-277, 235, 195, 179, 162, 153 et 117. Ces molécules sont donc très proches entre elles du point de vue structure chimique. Elles contiendraient probablement de la glucosamine ($M= 179$) et peut être aussi de la désoxystreptomine ($M= 162$) comme noyau aminocyclitol.

Les aminoglycosides sont principalement produits par le genre *Streptomyces*. Ils sont également sécrétés par le genre *Micromonospora*, et plus rarement par *Dactylosporangium* et *Nocardia*. Les *Streptosporangium* ne sont pas connus pour la production de ce groupe d'antibiotiques. De plus, ils sont souvent produits par les microorganismes sous forme de complexes dont les composés sont très proches entre eux [39], comme c'est le cas de nos molécules.

La grande majorité des aminoglycosides possèdent une activité contre les bactéries à Gram positif et négatif [40,41,42]. Certains sont antifongiques. Les antibiotiques de 163A possèdent une activité strictement antilevurienne. Ils sont inactifs contre les bactéries et les moisissures testés. Les souches du genre *Streptosporangium* sont connus pour produire des antibiotiques de différentes familles chimiques (anthracyclines, angucyclines, nucléosides, macrolides) et ayant différentes activités biologiques: antibactériennes, antifongiques, antilevuriennes, antitumorales, insecticides, herbicides, inhibiteurs d'enzymes, promoteurs de croissance, etc. [43], mais la production d'aminoglycosides n'a jamais été signalée chez ce genre.

Dans la littérature, seules deux molécules aminoglycosidiques produites par deux souches de *Streptomyces* possèdent une activité antilevurienne; mais elles sont différentes de nos antibiotiques par leurs masses. Le premier antibiotique H-537-SY2 est, comme nos antibiotiques, exclusivement antilevurien [44] mais son poids moléculaire est de 507. Le second, RH-5012-C est différent de nos antibiotiques par sa masse ($M= 527$) et par son activité qui est non seulement antilevurienne, mais aussi antibactérienne.

En considérant leur poids moléculaire, nos antibiotiques BJ1-B ($M= 340$), BJ1-G ($M= 358$) JP2 ($M= 458$) et BJ2-8 ($M= 396$) sont différents par leur masse des aminoglycosides cités dans la littérature [39,40,45]. Les molécules les plus proches sont la fortimicine B ($M= 349$) proche de BJ1-B et cinq molécules proches de JP2. Il s'agit des gentamicines A2 et C3 ($M= 455$ et 463 respectivement), de la mutamicine 4 ($M= 463$) et des seldomycines 1 et 3 ($M= 454$ et 453 respectivement). Ces six molécules sont à activité antibactérienne uniquement.

Conclusion

Dans ce travail, il est étudié l'activité antilevurienne d'une souche d'actinobactérie du genre *Streptosporangium* isolée d'un échantillon de sol de la palmeraie d'Adrar. Cette activité est importante contre les souches de levure *Candida albicans*.

Il est d'abord recherché le milieu de culture permettant une production optimale de l'activité antibiotique. Puis, il est isolé et caractérisé partiellement les composés bioactifs. Ces derniers se sont révélés être trois complexes d'antibiotiques. La purification et les analyses spectroscopiques se sont poursuivies pour 4 molécules. Les révélations chimiques ainsi que les spectres infrarouges indiquent une structure aminoglycosidique. Les aminosides n'ont jamais été signalés chez le genre *Streptosporangium*. De par leur activité exclusivement antilevurienne et leurs masses, nos antibiotiques semblent être originaux. Cependant, des analyses supplémentaires telles que la spectroscopie de la RMN du proton et du carbone 13 sont nécessaires pour déterminer leurs structures chimiques. Des tests de toxicité envers les cellules animales sont à considérer également. Pour réaliser l'ensemble de ces analyses, il conviendrait d'optimiser la production des composés antilevuriens par la recherche des meilleures conditions de culture.

Ce travail rend compte également de l'importance des sols sahariens algériens comme source d'actinobactéries potentiellement productrices de nouveaux antibiotiques utilisables dans les domaines médical, vétérinaire et agro-alimentaire. Il conviendrait de poursuivre les investigations en examinant divers échantillons de sols sahariens dans l'espoir de découvrir de nouvelles molécules antibiotiques.

Références bibliographiques

- [1].- Alexander B.D., Johnson M.D., Pfeiffer C.D., Jimenez-Ortigosa C., Catania J., Booker R., 2013.- Increasing echinocandin resistance in *Candida glabrata*: clinical failure correlates with presence of FKS mutations and elevated minimum inhibitory concentrations. Clin. Infect. Dis., 56 (12): 1724-1732.
- [2].- Pfaller M.A., 2012.- Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. Am. J. Med., 125(1 Suppl): S3-13.
- [3].- Vandeputte P., Pineau L., Larcher G., Noel T., Brethes D., Chabasse D., Bouchara J.P., 2011.- Molecular mechanisms of resistance to 5-fluorocytosine in laboratory mutants of *Candida glabrata*. Mycopathol., 171(1): 11-21.
- [4].- Geusau A., Antoniewicz L., Poitschek C., Presterl E., Willinger B., 2014.- In Vitro Susceptibility of *Candida* Isolates from Organ Transplant Recipients to Newer Antifungals. Mycopathol., 177: 143-156.
- [5].- Antoniewicz L., Relijc D., Poitschek C., Presterl E., Geusau A., 2009.- Mucosal *Candida* infection and colonisation as well as associated risk factors in solid organ transplant recipients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 28(8): 945-957.
- [6].- Gangneux J.P., Drogoul A.S., 2008.- Infections fongiques invasives: nouvelles données épidémiologiques et écologiques. Hématologie, 14: 5-11.
- [7].- Calderone A.R., Clancy J.C., 2012.- *Candida* and Candidiasis. 2^{ème} édition. Ed. ASM Press, USA, 544 p.
- [8].- Pierquin A.L., 2010.- Mycoses opportunistes et immunodépression. Thèse de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincare, Nancy 1, 118 p.

- [9].- Lass-Flörl C. 2009.- The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. *Mycoses*, 52 (3): 197-205.
- [10].- Solecka J., Zajko J., Postek M., Rajnisz A., 2012.- Biologically active secondary metabolites from actinomycetes. *Centr. Eur. J. Biol.*, 7 (3): 373-390.
- [11].- Genilloud O., Gonzales I., Salazar O., Martin J., Tormo J.R., Vicente F., 2011.- Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 38: 375-389.
- [12].- Tiwari K., Gupta R.K., 2013.- Diversity and isolation of rare actinomycetes: an overview. *Crit. Rev. Microbiol.*, 39 (3): 256-294.
- [13].- Tiwari K., Gupta R.K., 2012.- Rare actinomycetes: a potential storehouse for novel antibiotics. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 32 (2): 108-132.
- [14].- Genilloud O., 2014.- The re-emerging role of microbial natural products in antibiotic discovery. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106: 173-188.
- [15].- Kurtböke D.I., 2012.- Biodiscovery from rare actinomycetes: an ecotaxonomical perspective. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 93: 1843-1852.
- [16].- Sabaou N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A., Lamari L. Bennadji H., 1998.- Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Secheresse*, 9 (2): 147-153.
- [17].- Boubetra D., Sabaou N., Zitouni A., Bijani C., Lebrihi A., Mathieu F., 2013.- Taxonomy and chemical characterization of new antibiotics produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a Saharan soil. *Microbiol. Res.*, 168: 223-230.
- [18].- Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H.-P., Sabaou N., 2013.- *Actinopolyspora mzabensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from an Algerian Saharan soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 63: 3787-3792.
- [19].- Boudjella H., Bouti K., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Sabaou N., 2007.- Isolation and partial characterization of pigment-like antibiotics produced by a new strain of *Streptosporangium* isolated from an Algerian soil. *J Appl Microbiol* 103: 228-236.
- [20].- Badji B., Zitouni A., Mathieu F., Labrihi A., Sabaou N., 2006.- Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura* sp. AC104 isolated from an Algerian Saharan soil. *Can. J. Microbiol.*, 52: 373-382.
- [21].- Zitouni A., Boudjella H., Mathieu F., Sabaou N., Lebrihi A., 2004a.- Mutactimycin PR, a new anthracycline antibiotic from *Saccharothrix* sp. SA 103. I. Taxonomy, Fermentation, Isolation and Biological Activities. *J. Antibiot.*, 57: 367-372.

- [22].- Zitouni A., Lamari L., Boudjella H., Badji B., Sabaou N., Gaouar A., Mathieu F., Lebrihi A., Labeda D.P., 2004b.- *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil. *Int. Syst. Evol. Microbiol.*, 54: 1377-1381
- [23].- Rapilly F., 1968.- Techniques de mycologie en pathologie végétale. *Ann. Epiphyties*, 19: numéro hors série.
- [24].- Nonomura H., Ohara Y., 1969.- Distribution of actinomycetes in soil. VI. A culture method effective for both preferential isolation and enumeration of *Microbispora* and *Streptosporangium* strains in soil. Part 1. *J. Ferment. Technol.*, 47: 463-469.
- [25].- Hayakawa M., Nonomura H., 1987.- Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *J. Ferm. Technol.*, 65: 501-509.
- [26].- Waksman S.A., 1945.- Microbiological antagonism and antibiotic substances. The Commonwealth Fund, New York.
- [27].- Shirling E.B., Gottlieb D., 1966.- Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 16: 3313-3340.
- [28].- Warren H.B., Prokop J.F., Grundy W.E., 1955.- Non-synthetic media for antibiotic producing actinomycetes. *Antib. Chemother.*, 5: 6-12.
- [29].- Gilpin M.L., Fulston M., Payne D., Cramp R., Hood I., 1995.- Isolation and structure determination of two novel phenazines from a *Streptomyces* with inhibitory activity against metallo-enzymes, including metallo- β -lactamase. *J. Antibiot.*, 48: 1081-1085.
- [30].- Omura S., Eda S., Funayama S., Komiyama K., Takahashi Y., Woodruff H.B., 1989.- Studies on a novel antitumor antibiotic, phenazinomycin: taxonomy, fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. *J. Antibiot.*, 42: 1037-1042.
- [31].- Ericsson J.M., Sherris J.C., 1971.- Antibiotic sensitivity testing: report of an international collaborative study. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 217 (1): 1-90.
- [32].- Pfefferle C., Breinholt J., Gurtler H., Fiedler H.P., 1997.- 1-Hydroxy-4-methoxy-2-naphthoic acid, a herbicidal compound produced by *Streptosporangium cinnabarinum* ATCC 31213. *J. Antibiot.*, 50: 1067-1068.
- [33].- Merck E., 1975.- Révélateurs pour la chromatographie en couches minces et sur papier. Darmstadt, 149 p.
- [34].- Spížek J., Tichý P., 1995.- Some aspects of overproduction of secondary metabolites. *Folia Microbiol.*, 40 (1): 43-50.
- [35].- Martin J.F., Demain A.L., 1980.- Control of antibiotic biosynthesis. *Microbiol. Rev.*, 44: 230-261.
- [36].- Demain A.L., Aharonowitz Y., Martin J.F., 1983.- Metabolic control of secondary biosynthetic pathways. *In: Biochemistry and genetic regulation of commercially*

- important antibiotics. Ed. Vinning L.C., Addison Wesley, London, pp. 49-72.
- [37].- Larpent J.P., Sanglier J.J., 1989.- Biotechnologies des antibiotiques. Ed. Masson, Paris, 481 p.
- [38].- Thiele-Bruhn S., 2003.- Pharmaceutical antibiotic compounds in soils. A review. J. Plant Nutr. Soil Sci., 166: 145-167.
- [39].- Stead D.A., 2000.- Current methodologies for the analysis of aminoglycosides. Journal of Chromatography B, 747: 69-93.
- [40].- Berdy J., Aszalos A., Mc Nitt K.L., 1987.- CRC Handbook of Antibiotic Compounds. Vol XIII, Microbial metabolites, Parts 1, 2, 3, Florida, USA, CRC Press, Boca Raton.
- [41].- Bycroft B.W., 1988.- Dictionary of antibiotics and related substances. Ed. Chapman and Hall, London, 944 p.
- [42].- Buckingham J., 1997.- Dictionary of Natural Products. Ed. Chapman and Hall, CRC Press, London.
- [43].- Platas G., Pelaez F., Collado J., Martinez H., Diez M.T., 1999.- Nutritional preferences of a group of *Streptosporangium* soil isolates. J. Biosci. . Bioengineer., 88 (3): 269–275.
- [44].- Kondo H., Uehara M., Nakama S., Otani T., Nakamura S., 1976.- Antibiotic H 537 SY2, a new antiyeast antibiotic. The Journal of Antibiotics, 39(8): 847-849.
- [45].- Dictionary of Natural Products “DNP”, 2004.- Web version. Copyright © 1982-2004 Chapman and Hall CRC. (<http://www.chemnetbase.com>).

ANALYSE DE LA SITUATION SANITAIRE MAMMAIRE SUR LAIT DE QUARTIER ET ESTIMATION DES PERTES LAITIÈRES ENGENDRÉES CHEZ DES UNITÉS BOVINES HORS SOL EN TUNISIE

M'SADAK Youssef*, MAKHLOUF Marwa et HAMED Ibtihel
Institut Supérieur Agronomique de Chott-Mariem, Université de Sousse, Tunisie
*Email: msadak.youssef@yahoo.fr

Résumé.- Les mammites évoquent un des postes de dépense les plus importants pour les éleveurs bovins laitiers. Elles vont toujours de pair avec une baisse de la production laitière. L'objectif de ce travail consiste à évaluer la situation sanitaire des mamelles des vaches, en vue d'apprécier le niveau d'infection mammaire par le dépistage CMT, et par conséquent, l'estimation des pertes quantitatives en lait liées aux scores cellulaires élevés. L'étude est réalisée sur un échantillon de 30 petits et moyens élevages bovins laitiers hors sol: 180 vaches en lactation (VL) considérées parmi 296 existantes. Les élevages ont une taille moyenne de 10 VL (3 à 25 VL par troupeau) et sont répartis dans quatre zones de la région considérée, durant une période de 3 mois étalée de mi-février jusqu'à mi-mai. Il ressort de cette étude qu'environ 59% des quartiers se sont dévoilés sains (test négatif), 39% infectés; les 2% restants étaient non fonctionnels. Les pertes laitières quantitatives estimées à partir de deux estimations appliquées, sont relativement élevées: Les pertes annuelles totales en lait sont évaluées à 93398 L, ce qui correspond à 3113 L par troupeau (311 L par vache) selon l'estimation de Radostits et Blood. L'estimation par Sérieys, a permis de détecter des pertes annuelles totales en lait à 147518 L, ce qui correspond à 4917 L/troupeau (492 L/vache). Une telle situation est angoissante, ce qui montre une mauvaise gestion d'élevage (hygiène, technique, technologique, ...) des élevages laitiers contrôlés.

Mots clés: Élevage bovin, Test CMT, situation sanitaire mammaire, pertes quantitatives en lait.

ANALYSIS THE SITUATION OF MAMMARY HEALTH ON QUARTER MILK AND ESTIMATION OF MILK LOSSES IN UNITS CATTLE ABOVEGROUND IN TUNISIA

Abstract.- Mastitis is one of the most important positions for dairy cattle breeders. They always go with a drop in milk production. The objective of this work is to evaluate mammary health of cows, in order to assess the level of infection by the screening CMT mammary, and as a result, the estimation of quantitative losses in milk related to high cellular levels. The study was conducted on a sample of 30 small and means dairy cattle herds aboveground: 180 lactating cows considered among existing 296. These herds have an average size of 10 VL (3-25 per herd) and are divided into two study areas of the region concerned for a period of three months spread from mid-February until mid-May. It appears from this study revealed that 59% are healthy (negative test), 39% infected; the remaining 2% were non-functional. Quantitative loss in milk estimates from both adapted estimates are relatively high: Total annual milk losses are estimated at 93,398L, which corresponds to 3113 the herd (311 L per cow) as estimated by Radostits and Blood. The estimate SERIEYS, was detected in the total annual milk losses to the 147,518 which corresponds to 4917 L / herd (492 L / cow). Such a situation is alarming that shows bad breeding management (hygiene, technical, technological...) dairy farms monitored.

Key words: Cattle Breeding, Californian Mastitis Test, mammary diagnosis, quantitative losses in milk.

Introduction

La mammite se retrouve toujours parmi le «top» des maladies les plus coûteuses des exploitations laitières du monde entier [1]. Elle constitue une pathologie majeure de l'élevage laitier aussi bien par sa fréquence que par les pertes qu'elle entraîne. L'importance des infections mammaires est d'autant plus grande qu'elle est souvent mal appréciée par l'éleveur [2]. C'est pour cette raison que les mammites sont considérées faisant partie des causes essentielles de réforme involontaire des vaches laitières [3]. En outre, elles s'accompagnent d'une importante baisse quantitative de la production laitière [4]. Pour toutes ces raisons, la rentabilité de l'exploitation laitière est généralement touchée. C'est pourquoi, des mamelles saines constituent un facteur important pour une production laitière rentable [5].

En Tunisie, comme dans la plupart des pays, les mammites bovines constituent une pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers. Les mammites cliniques et subcliniques représentent 20% des pathologies rencontrées chez la vache laitière [6]. La difficulté n'est pas de reconnaître une mammite clinique dont les symptômes sont clairs. L'enjeu est de reconnaître les infections mammaires aussi précocement que possible. La détermination précoce de ces infections permet la mise en place rapide d'un traitement augmentant notablement les chances de guérison et évitant ainsi le passage à la chronicité. Un diagnostic étiologique peut s'avérer utile.

C'est dans cette perspective, que plusieurs études ont abordé l'infection mammaire sous toutes ses formes [7,8,9,10,11,12]. La présente étude s'est intéressée particulièrement, à un diagnostic descriptif de l'état sanitaire mammaire via une méthode indirecte de dépistage (California Mastitis Test ou CMT) chez des petits et moyens troupeaux bovins laitiers dans la région de Sousse, relevant du Sahel Tunisien et une estimation des baisses de production laitière à partir des résultats relevés.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Choix des élevages suivis

Cette étude est menée chez 30 élevages bovins laitiers, inscrits au contrôle laitier, englobant 296 vaches en lactation (VL), de petite et moyenne taille et de même race (Frisonne Holstein, la race bovine la plus répandue en Tunisie, race laitière hyper spécialisée), durant une période de 3 mois, étalée de février jusqu'à mi-mai 2011. Les troupeaux suivis ont une taille moyenne de 10 VL (3 à 25 VL par troupeau) et sont répartis sur 4 zones de la région d'étude: Zone 1: Sidi Bou Ali; Zone 2: Hammam Sousse + Akouda + Chott Mariem + Hergla; Zone 3: Kalaa Kebira; Zone 4: Messaadin + Msaken. Ces troupeaux sont menés en système d'élevage hors sol, caractérisé par des ressources fourragères limitées, à cause des ressources en eau insuffisantes (zone littorale semi-aride) et généralement de mauvaise qualité (salinité élevée). Seuls les éleveurs adoptant la traite mécanique en Pot (TMP) sont concernés.

Le test CMT, accompli parallèlement avec le contrôle laitier, est réalisé sur un échantillon de 200 VL lors du premier passage, mais ce nombre a été réduit lors du deuxième passage à 180, car 20 vaches ne sont plus traitées (tarissement, vente, ...). Le dépouillement des résultats CMT a été limité au même effectif de 180 durant chaque passage.

1.2.- Diagnostic sanitaire mammaire des vaches

1.2.1.- Test CMT

L'état sanitaire mammaire est apprécié à l'aide du Test CMT développé par SCHALM et NOORLANDER en 1957 [13] qui s'adresse essentiellement à la détection des mammites subcliniques directement dans l'étable. Le principe repose sur l'emploi d'un corps tensioactif (Détergent Teepol) qui est associé à un indicateur de pH coloré. Il fait éclater les cellules et réagit avec leur acide désoxyribonucléique (ADN) en formant un gel dont la viscosité est d'autant plus élevée que la teneur en cellules est importante. Ce test est facilement réalisable. Il consiste à prélever un peu de lait de chaque quartier dans quatre coupelles d'un plateau. Il est gardé environ 2 ml de lait par coupelle puis il est ajouté une quantité égale de tensioactif fourni et on assure le mélange par rotation. La lecture doit être immédiate. Il est apprécié la consistance et la couleur en fonction d'un tableau fourni avec le Kit [14].

1.2.2.- Évaluation sanitaire mammaire

Le diagnostic s'effectue sur lait de quartier deux fois à 4 semaines d'intervalle. 180 VL sont examinées à chaque passage, soit 1440 quartiers, parmi eux 25 sont non fonctionnels. Le protocole de détection des mammites donné par BOUDRY (2005) [15] est appliqué. La lecture des résultats, a fait également appel au barème de notation (ou score), donné par GAMBO et AGNEM ETCHIKE (2001) [16]. Les prélèvements laitiers n'ont pas été accomplis sur les vaches en début de lactation (première semaine) et en fin de lactation (deux semaines avant tarissement).

1.3.- Estimation des pertes quantitatives en lait à partir du test CMT

L'infection mammaire provoque une altération et une destruction des cellules sécrétrices, réduisant ainsi les capacités de synthèse de la glande mammaire. Par ailleurs, l'infection perturbe également le fonctionnement de la barrière existant entre le sang et le lait, permettant ainsi un passage accru par filtration d'éléments venant du sang vers le lait. De telles perturbations sont une source importante de manque à gagner pour l'élevage laitier et se traduisent au niveau du lait, produit de la sécrétion de la glande mammaire, par des pertes quantitatives. L'altération ou la destruction des cellules de l'épithélium sécrétoire engendre une diminution de la production laitière pour la lactation en cours ainsi que pour les lactations suivantes. Ceci est remarqué surtout pour les primipares. La reconstitution du tissu sécrétoire détruit ne sera jamais complète [17]. La production laitière est corrélée négativement avec le nombre des cellules somatiques du lait [18].

Dans ce qui suit, les pertes quantitatives en lait sont évaluées à partir des scores CMT selon les relations relatées dans les tableaux I et II, entre score CMT, nombre de cellules et pertes en lait, à partir respectivement de l'estimation de RADOSTITS et BLOOD (1985) [19], et l'estimation de SERIEYS (1995) [20].

Tableau I.- Relation entre le taux cellulaire et les pertes en lait
(*Estimation présentée par RADOSTITS et BLOOD en1985)

Degré d'inflammation du quartier		Diminution relative de la production laitière (%)
Score CMT	Nombre de cellules (x1000 cellules / ml)*	
0	0-200	0
1	150-400	6
2	300-1000	10
3	700-2000	16
4	>2000	25

Tableau II.- Relation entre score CMT, nombre de cellules et pertes en lait
(SERIEYS, 1995)

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

2.- Résultats et discussion

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

2.1.1.- Évolution générale des résultats CMT

Le CMT, utilisé depuis longtemps dans plusieurs pays [21], reste le meilleur test réalisable chez les VL pour détecter les mammites subcliniques [22]. Il donne une idée sur l'état sanitaire de chaque quartier de la mamelle: sain ou infecté [23]. La réaction du test CMT est interprétée selon le barème suivant: score 0 désignant un quartier sain, score 1 présumant un résultat douteux (mammité latente), scores 2 et 3 indiquant la présence d'une mammité subclinique et score 4 signalant une mammité clinique [24]. Sur les 1440 quartiers (2 suivis x 180 vaches contrôlées x 4 quartiers), 59% se sont révélés sains (test négatif), 39% infectés ; les 2% restants étaient non fonctionnels.

2.1.2.- Évolution des résultats CMT selon chaque passage

Il convient de signaler une évolution des résultats CMT selon chaque passage. En effet, le taux d'infection a augmenté entre les deux passages réalisés pour tous les types des mammites (scores de 1 à 4), ce qui pourrait être expliqué par l'élévation de la température qui a favorisé la diminution relative du nombre des vaches saines de 26% et l'accroissement relatif remarquable surtout du taux d'infections latentes (score 1) de 32% et du taux d'infections subcliniques graves (score 3) de 41%.

2.1.3.- Évolution des résultats CMT selon chaque quartier

Le score CMT relevé pour chaque quartier est illustré dans le tableau III. Il montre que les quartiers gauches présentent la fréquence la plus élevée des quartiers non fonctionnels. Ceci pourrait probablement être dû à la position gauche qui rend difficile la guérison du quartier une fois infecté. Par contre, on trouve que les quartiers antérieurs gauches enregistrent la fréquence la plus élevée des quartiers fonctionnels sains (227 pour AG). Pour les quartiers infectés, il est observé que les quartiers postérieurs gauches et droits sont les plus touchés par les mammites subcliniques (97 pour score 2 et 66 pour score 3). En outre, la mammite clinique ne représente que 2%, tout en affectant notamment les quartiers postérieurs droits (10 sur 25, soit 40%).

Tableau III.- Répartition des infections mammaires selon le score et la position des quartiers (AD: Antérieur Droit; AG: Antérieur Gauche; PD: Postérieur Droit; PG: Postérieur Gauche)

Scores	AD	AG	PD	PG	Total	%
0	214	227	211	199	851	59
1	67	68	59	62	256	17
2	42	31	45	52	170	12
3	27	20	30	36	113	8
4	6	3	10	6	25	2
NF	4	11	5	5	25	2
Total	360	360	360	360	1440	
%	100	100	100	100		100

2.1.4.- Répartition selon la position des quartiers

- Quartiers antérieurs vs Quartiers postérieurs

WAAGE *et al.* (2008) ont rapporté que le risque d'infection des quartiers est le même pour les positions postérieures et antérieures [25]. Cependant, il est constaté que le taux d'infection des quartiers postérieurs est plus élevé que celui des quartiers antérieurs. Ainsi, les quartiers postérieurs sont plus atteints des mammites subcliniques (58%) et cliniques (64%), mais on peut noter que les quartiers non fonctionnels sont particulièrement localisés au niveau de la partie antérieure de la mamelle (60%). PORCHER (1932) a révélé que les quartiers postérieurs sont plus souvent infectés que les quartiers antérieurs [26], ceci pourrait être expliqué par le fait que les quartiers postérieurs stagnent plus que les quartiers antérieurs dans les excréments, et aussi à ce que, au repos, ils se trouvent comprimés davantage que les quartiers antérieurs entre les cuisses de la vache. Les résultats CMT relevés dans le contexte considéré confirment autant un tel constat très ancien.

- Quartiers gauches vs Quartiers droits

Pour les quartiers infectés (scores 2, 3 et 4), la variation des infections entre les quartiers gauches et droits, n'est pas importante. Il est remarqué un taux élevé des quartiers gauches non fonctionnels (68%) qui est expliqué par le fait que les vaches ont tendance à se coucher sur le côté gauche [26], ce qui contribue à l'évolution des quartiers vers la non fonctionnalité.

2.1.5.- Distribution des résultats CMT selon le type de contrôle

Il est trouvé que les élevages examinés selon le contrôle officiel AT₄ (par l'Agent responsable toutes les quatre semaines) présentent les moindres taux d'infection. Cette constatation peut être expliquée par le fait que les exploitations suivies par le contrôle AT₄ sont choisies parmi les bonnes exploitations laitières de la région. Le suivi des conditions hygiéniques est normalement plus sévère puisque l'Agent de contrôle assiste au chantier de traite et encadre techniquement l'éleveur. De ce fait, c'est normal d'avoir un taux d'infection moins grave. Cette explication n'est pas toujours valable. En effet, pour le cas des élevages suivis par le contrôle officiel AT₆ (par l'Agent responsable toutes les six semaines), ils présentent des taux d'infection même plus élevés que les élevages contrôlés par le contrôle non officiel B₄ (par l'éleveur lui-même toutes les quatre semaines). Il est remarqué ainsi que pour les contrôles espacés de 4 semaines, le taux d'infection (scores 1, 2 et 3) est moins important que celui des contrôles espacés de 6 semaines.

2.1.6.- Distribution des résultats CMT en fonction de la saison de vêlage

D'après BREILLE *et al* (2003), les mois de vêlage en saison hivernale sont les plus à risque de nouvelles infections [27], ce qui suggère l'existence de contaminations liées au logement en aire paillée accumulée. Or, dans le cas des élevages enquêtés, on a 77% des éleveurs qui ne pratiquent pas le paillage, ce qui contribue à l'aggravation de la situation. C'est pour cela que l'on trouve un pourcentage des mammites subcliniques et cliniques ainsi qu'un pourcentage des quartiers non fonctionnels les plus remarquables en saison de vêlage hivernale.

Des études réalisées en Europe du Nord mettent également en évidence des variations de fréquence de mammites cliniques selon la saison, sans qu'une tendance générale de saison à risque puisse être dégagée: risques accrus en été [28] ou en automne [29].

2.1.7.- Distribution des résultats CMT selon la parité

Il convient de noter que l'échantillon sur lequel il est étudié l'effet de la parité, est uniquement de 161 vaches (1252 quartiers durant les deux passages). On peut dégager du tableau IV que les primipares présentent moins d'infections que les multipares (29,8% contre 42% des quartiers sont infectés). Il est constaté donc que les primipares sont plus résistantes aux infections mammaires. Ce constat réaffirme, ainsi, le résultat relevé par COULON *et al.* (1996) [30]. Ceci est dû surtout à une augmentation de l'apparition de mammite avec l'âge. Il peut également se produire à partir du résultat d'une réaction plus forte au niveau cellulaire contre une infection ou à une plus grande étendue des lésions permanentes de la mamelle faisant suite à une infection chez les vaches âgées [31].

Tableau IV.- Répartition des infections mammaires en fonction de la parité (M: Multipares; P: Primipares)

	0	1	2	3	4	NF
M (%)	58,0	19,8	12,8	5,1	2,2	2,1
P (%)	70,2	14,4	6,4	7,4	1,0	0,6

2.2.- Appréciation des pertes laitières quantitatives

2.2.1.- Relevé journalier de la production laitière

La production laitière journalière par troupeau varie entre 20 et 340 L/j. Elle est en moyenne de 159 L/j avec un écart-type de 101,22 L/j. Cet écart-type élevé revient surtout à la taille des troupeaux qui est très variable, entre 2 et 31 vaches présentes (VP) correspondant à une fourchette de 3 à 25 VL.

La variation de la production laitière journalière par troupeau est en fonction de la localité (quatre zones considérées) et du type du contrôle laitier (AT₆, AT₄ ou B₄) dont il est noté que les moyennes de production journalière par vache les plus élevées dans la zone 3 (berceau laitier de la région de Sousse) et la zone 4.

2.2.2.- Pertes laitières induites selon le score CMT

Les pertes en lait ont été évaluées à partir des scores CMT selon la relation établie entre score CMT, nombre de cellules et pertes en lait, à partir de deux estimations basées sur une production de 15 L/jour/vache présente, soit une production de 4775 L/an (1144 L/an/quartier) et 10 VP par troupeau.

Estimation de RADOSTITS et BLOOD (1985).

Estimation de SERIEYS (1995).

Parmi les 1440 quartiers des 180 vaches contrôlées 2 fois durant cette étude, on a 851 quartiers sains (test négatif), 564 quartiers infectés et les 25 quartiers restants non fonctionnels (NF). Environ 40% des quartiers fonctionnels sont infectés. Ce niveau d'infection n'est pas considéré comme grave, en comparaison avec celui trouvé par BEN OMRANE (2010) [17], chez des élevages bovins laitiers hors sol dans la région de Monastir (Tunisie littorale semi-aride), où elle a repéré un taux d'infection atteignant 60%.

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

D'après le tableau V, on a remarqué une perte totale de 17517 L enregistrée suite à l'infection latente, alors que la baisse de production laitière totale la plus importante (20683 L) est engendrée par l'infection subclinique grave (Score 3).

D'après les données relatées dans ce tableau, on a estimé les pertes annuelles totales en lait à 93398 L, ce qui correspond à 3113 L par troupeau (311 L par vache).

Parmi les quartiers atteints, on a 25 quartiers non fonctionnels (NF) causant une baisse totale de production laitière de 28600 L et 953 L par troupeau (95 L par vache). Cette situation est alarmante pour les éleveurs, vu le coût de production élevé et le prix relativement modéré du litre, ce qui nécessite la surveillance des vaches et l'intervention en temps opportun en cas de détection des cas des mammites (appeler un vétérinaire ou automédication par l'achat des antibiotiques habituels, mais l'effet des ces derniers est proportionnel au stade de développement des bactéries, agents de mammites, certains éleveurs utilisent un type d'antibiotique plus efficace mais plus cher, ce qui présente une contrainte de son usage fréquent par les exploitants), vu que la destruction des cellules

sécrétoires du lait ne sera jamais complète et en cas de retard, on enregistre des cas de stérilité de certains quartiers allés jusqu'aux deux quartiers par vache rencontrés dans cette étude, et subséquemment, une perte permanente du lait avec un faible pourcentage de réforme des vaches

Tableau V.- Relation entre le taux cellulaire et les pertes quantitatives en lait
[Estimation basée sur une production de 15 L/jour/vache présente,
soit une production de 4775 L/an (114 L/an/quartier): Estimation basée sur
un échantillon de 10 vaches par troupeau]

Scores CMT	Baisse de PL Selon RADOSTITS et BLOOD (%)	Nombre moyen Quartiers	Baisse de production laitière calculée (l)	
			Total	Par troupeau
0	0	851	0	0
1	6	256	17517	583
2	10	170	19448	648
3	16	113	20683	689
4	25	25	7150	238
NF	100	25	28600	953

- Selon l'estimation de SERIEYS (1995)

Le tableau VI permet d'estimer les pertes annuelles totales en lait à 147518 L, ce qui correspond à 4917 L/troupeau (492 L/vache).

En comparaison avec RADOSTITS et BLOOD (1985), on a trouvé la même constatation, où les mammites subcliniques latentes (score 1) sont les plus répandues (256 quartiers), avec une perte totale de 26357 L, 878 L par troupeau (88 L par vache), mais la perte la plus importante a été enregistrée pour le cas d'infections subcliniques graves (score 3) avec 41367 L.

Une telle situation est inquiétante pour les 30 élevages bovins laitiers hors sol étudiés, où le nombre des quartiers atteints (564 quartiers infectés, 25 quartiers non fonctionnels), ce qui dévoile une mauvaise gestion d'élevage (hygiène, technique, technologique, ...).

Tableau VI.- Estimation des pertes laitières annuelles moyennes
en relation avec le score CMT

Scores CMT	Baisse de production laitière selon SERIEYS (%)	Nombre moyen Quartiers	Baisse de production laitière calculée (l)	
			Total	Par troupeau
0	0	851	0	0
1	9	256	26357	878
2	20	170	38896	1296
3	32	113	41367	1378
4	43	25	12298	409
NF	100	25	28600	953

Conclusion

Il ressort de cette étude, effectuée chez 30 élevages bovins laitiers hors sol dans différentes zones côtières semi-arides (gouvernorat de Sousse, Tunisie), que les mammites constituent encore le trouble sanitaire majeur et que la plupart des petits et moyens troupeaux laitiers de l'échantillon considéré révèle un nombre important des cas d'infections mammaires constaté, à partir du diagnostic sanitaire mammaire indirect par le test CMT.

Partant de l'idée que la maîtrise d'une telle maladie doit être prépondérante pour optimiser la rentabilité de l'atelier laitier [32], on a essayé dans la présente étude de cerner les problèmes présentant des facteurs majeurs dans la transmission des germes liés à l'environnement des vaches (saison de vêlage, ...), d'analyser la situation sanitaire mammaire et d'estimer les pertes quantitatives en lait conséquentes.

Il est remarqué, d'après les résultats relevés par les tests CMT, réalisés sur deux passages, que 39% des quartiers testés (1440) sont fonctionnels infectés et 2% sont non fonctionnels. Parmi les facteurs intrinsèques liés aux vaches, on a constaté que les quartiers les plus touchés par les mammites subcliniques et cliniques sont les quartiers postérieurs (environ 58% pour les scores 2,3 et 4) et les quartiers droits (environ 56% pour les scores 2, 3 et 4). En outre, parmi les facteurs extrinsèques, pour les élevages suivis par le type de contrôle laitier AT₆, on a trouvé qu'ils présentent 55% des infections mammaires contre 36% et 40% pour les troupeaux contrôlés selon AT₄ et B₄ respectivement. Aussi, on a repéré que les élevages situés dans les zones 2 (Hammam Sousse + Akouda + Chott Mariem + Hergla) et 3 (Kalaa Kebira) sont les moins touchés par les mammites (latentes, subcliniques, cliniques).

Les pertes laitières quantitatives engendrées par des taux cellulaires élevés, estimées à partir des CMT sont relativement importantes avec une baisse annuelle de 93398 L, ce qui correspond à 3113 L par troupeau (311 L par vache) selon l'estimation de RADOSTITS et BLOOD (1985) [19], soit 147518 l, ce qui correspond à 4917 L/troupeau (492 L/vache) selon l'estimation de SERIEYS (1995) [20].

Il convient de dire, à ce niveau, que la situation sanitaire mammaire n'est pas considérée comme fatale, mais, elle mérite un suivi plus sévère des conditions d'hygiène des exploitations laitières surtout les conditions de traite (technique et équipement) des vaches.

Références bibliographiques

- [1].- Descoteaux L., 2004.- Symposium sur les bovins laitiers, la mammite clinique: Stratégies d'intervention. Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe (Québec), 23p.
http://www.agrireseau.qc.ca/bovinslaitiers/documents/Descoteaux_Luc.pdf.
- [2].- Mtaallah B., Oubey Z., Hammami H., 2002.- Estimation des pertes de production en lait et des facteurs de risque des mammites subcliniques à partir des numérations cellulaires de lait de tank en élevage bovin laitier. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 153 (4): 251-260. http://www.revmedvet.com/2002/RMV153_251_260.pdf

- [3].- Tsuruta S., Miszatal I., Lawlor T. J., 2004.- Genetic correlations among production, body size, udder, and productive life traits over time in Holsteins. *Journal Dairy Science*, 69: 510-517. <http://www.aps.uoguelph.ca/~dcbgc/200809/att-0019/Tsuruta-2004.pdf>
- [4]. - Schroeder J. W. Mastitis Control Programs., 1997.- Bovine Mastitis and Milking Management. In: AS-1129. Fargo, North Dakota: NSDU Extension Service, North Dakota University., 12 p. www.vet.cmu.ac.th/webmed/.../mastitis/AS1129.PDF
- [5].- M'Sadak Y., Mighri L., Kraiem K., 2012.- Étude de la situation sanitaire mammaire et estimation des pertes laitières chez des élevages bovins hors sol dans la région de Mahdia (Tunisie). *Revue des BioRessources.*, vol 2 (2): 17-28.
- [6].- Aouadi A., 1991.- Contribution à l'étude des paramètres zootechniques dans les grands élevages bovins du gouvernorat de Béja. Thèse Méd. Vét., ENMV Sidi Thabet, Tunisie, 100 p.
- [7].- Ben Youssef S., Hadiji R., El Atti K., 2010.- Enquête sur les mammites bovines et l'arsenal thérapeutique disponible en Tunisie. *Activités de Recherche, Revue de l'ENMVT, Sidi Thabet, Tunisie.*, 6 p.
- [8].- Saidi R., Khelef D., Kaidi R., 2010.- Évaluation d'un test de dépistage précoce des mammites subcliniques des vaches, *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, (3-4): 57-61.
- [9].- M'Sadak Y., Mighri L., Kraiem K., 2011.- Étude de la situation sanitaire mammaire à partir des taux cellulaires de troupeau et estimation des pertes laitières engendrées chez des ateliers bovins hors sol en Tunisie. *Revue Nature et Technologie*, n° 04: 08-14. http://www.univ-chlef.dz/RevueNatec/art_04_01.pdf
- [10].- M'Sadak Y., Mighri L., Kraiem K., 2010.- Étude de l'effet des conditions de traite sur la santé mammaire des vaches laitières et estimation des pertes en lait consécutives dans la région de Mahdia en Tunisie. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 63 (1-2): 35-39. remvt.cirad.fr/CD/derniers_num/2010/REMT10_035_039.pdf
- [11].- M'Sadak Y., Krichi A., Kraiem K., 2009.- Diagnostics Technologique, Technique et Hygiénique de la Traite Mécanique en Pot dans la Délégation Boumerdes, Poster, Actes 16ème Journées Scientifiques IRESA, Nabeul, Tunisie.
- [12].- M'Sadak Y., Mighri L., Kraiem K., 2010.- Évaluation des conditions de traite en élevage bovin dans la région de Mahdia (Tunisie). *Actes Renc. Rech. Ruminants*, no 17., 275. www.journees3r.fr/IMG/pdf/2010_09_02_Msadak.pdf.
- [13].- Schalm O.W., Noorlander D.O., 1957.- Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *Journal of the American Veterinary Medical Association.*, 130: 199-204.
- [14].- Emmanuel B. Jean-François., 1971.- Les analyses bactériologiques du lait des infections mammaires bovines applicables au cabinet vétérinaire en pratique courant et leurs intérêts dans le traitement des mammites. Versailles, 109 p.

- [15].- Boudry B., 2005.- Traite un lait de qualité : une attention de tous les jours, Qualité du lait et gestion du troupeau. Journée d'étude des AREDBd'Aubel, de Herve-Fléron-Visé et de Montzen et de la Région wallonne -DGA- Direction du Développement et de la Vulgarisation., 13 p.
http://agriculture.wallonie.be/apps/spip_wolwin/IMG/pdf/Boudry-henri-chap05.pdf
- [16].- Gambo H., Agnem Etchike C., 2001.- Dépistage de mammites chez des vaches Goudali en lactation au nord Cameroun. Revue Élev. Méd.vét. Pays trop., 54: 5-10.
http://remvt.cirad.fr/cd/derniers_num/2001/EMVT01_005_010.pdf.
- [17].- Ben Omrane H., 2010.- Évaluation des Conditions de Traite des Vaches, de la Situation Sanitaire Mammaire et des Pertes Quantitatives en Lait dans le Gouvernorat de Monastir. Projet de Fin d'Études. Institut Supérieur Agronomique de Chott-Mariem, Tunisie, 8 p.
- [18].- Hanzen CH., 2009.- Propédeutique de la glande mammaire: Sémiologie et diagnostic individuel et de troupeau. Université de Liège, Belgique, R21, 28 p.
http://www.therioruminant.ulg.ac.be/notes/200809/R21_Propedmammaire_sympt_diagnostic_2009.pdf.
- [19].- Radostits O. M., Blood D. C., 1985.- Herd Health: A Textbook of Health and Production Management of Agricultural Animals. W B Saunders Co. ISBN-13: 978-1721.
- [20].- Sérieys F., 1995.- Le tarissement des vaches laitières, 223 p.
http://www.unitheque.com/Livre/editions_france_agricole/Le_tarissement_des_vaches_laitieres-10175.html.
- [21].- Rakotozandrindrainy R., Razafindrajaona J. M., Foucras G., 2007.- Diagnostic rapide à la ferme des mammites subcliniques des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar. Revue Méd. Vét., 158: 100-105.
- [22].- Ruegg P.L., Reiman D. J., 2002.- Milk quality and mastitis tests, Bovine Pract., 36: 41-54.
- [23].- Gonzales R. N., Jasper D. E., Farver T. B., Bushnell R. B., Franti C. E., 1988.- Prevalence of udder infections and mastitis in 50 California dairy herds, J. Am. med. Assoc., 193: 323-328.
- [24].- Hanzen Ch., 2011.- Anatomie-physiologie de la glande mammaire Propédeutique Symptomatologie Diagnostic et Traitement: Production laitière et santé mammaire, Université de Liège, Belgique., 50 p.
- [25].- Kemp M. H., Nolan A. M., Cripps P. J., Fitzpatrick J. L., 2008.- Animal based measurements of the severity of mastitis in dairy cows. Veterinary Record, 163: 175-179.
<http://connection.ebscohost.com/c/articles/34107471/animal-based-measurements-severity-mastitis-dairy-cows>

- [26].- Porcher Ch., 1932.- L'infection latente de la mamelle et ses réveils: Les moyens de la dépister, le lait. Revue générale des questions laitières, No114, 12^{ème} année, tome XII: 257-269. <http://dx.doi.org/10.1051/lait:193312646>
- [27].- Bareille N., Djabri B., Beaudeau F., Seegers H., 2003.- Facteurs de risque de mammite clinique et de nouvelle infection des vaches laitières primipares autour du vêlage. Renc. Rech. Ruminants., UMR Gestion de la Santé Animale, ENVN-INRA, Atlanpole-Chantrerie, Nantes: 285-288. <http://www.journees3r.fr/spip.php?article271>
- [28].- Waage S., Sviland S., Odegaard S.A., 1988.- Identification of risk factors for clinical mastitis in dairy heifers, J. Dairy Sci., 81: 1275-1284.
- [29].- Oltenacu, P.A., Ekesbo., 1994.- Étude épidémiologique de la mammite clinique chez les vaches laitières. Vet. Res., 25: 208-212.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8038786?dopt=Abstract>
- [30].- Coulon J.B., Dauver F., Garel J.P., 1996.- Facteurs de variation de la numération cellulaire du lait chez des vaches laitières indemnes de mammites cliniques. Revue INRA Prod. Anim., 9 (2): 133-139.
- [31].- Leslie K. E., 2012.- Somatic Cell Counts: Interpretation for Individual Cows, FACTSHEET, Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation Ontario, 03/85, Commande: 24-012.
<http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/dairy/facts/84-012.htm>
- [32].- Institut de l'Elevage, Chambres Régionale d'Agriculture de Bretagne et des Pays de la Loire., 2002.- La pratique du traitement antibiotique sélectif au tarissement, enquête dans 33 élevages de l'Ouest de la France, 5 p.

PRODUCTION LAITIÈRE, CROISSANCE ET COMPORTEMENT DES AGNEAUX CHEZ LE MOUTON REMBI EN PÉRIODE D'ALLAITEMENT

BENCHOHRA Mokhtar^{1,2*}, BOULKABOUL Aboud³, AGGAD Hebib²,
AMARA Karim¹, KALBAZA Ahmad Yacine¹ et HÉMIDA Houari¹

⁽¹⁾ Laboratoire d'agro-biotechnologie et de nutrition en zone semi-aride

Equipe: Expérimentation et Production Animale, Université de Tiaret, Algérie

⁽²⁾ Laboratoire d'hygiène et de pathologie animale, Université de Tiaret, Algérie

⁽³⁾ Institut des Sciences Vétérinaires, Université de Tiaret, Algérie

Email: mokhtarbenchohra71@gmail.com

Résumé.- Le niveau de la production laitière et les performances en croissance des agneaux ont été étudiés chez le mouton Rembi dans la région de Tiaret. Un effectif de 36 brebis, âgées entre 3 et 5 ans, et allaitant des agneaux simples, 18 mâles et 18 femelles, ont été suivis durant une période de 4 mois. Le niveau de la production laitière est estimé par la méthode de pesée avant et après tétée (PAAT), tous les 14 jours après agnelage, et les agneaux étaient pesés chaque semaine de la naissance à la 16^e. La moyenne de la production laitière journalière et la production totale étaient, respectivement, de 502±356 g et 55,3 kg. Les performances pondérales des agneaux, mâles et femelles, étaient respectivement de 4,29±0,44 kg; 4,11±0,53 kg à la naissance et 18,8±3,05 kg; 18,2±2,37 kg au sevrage. Ainsi, la corrélation entre lait tété et croissance d'agneaux au premier mois, était élevée et similaire ($r = 0,86$) pour les deux sexes. La présente étude montre que les brebis de cette race locale ne présentent pas un bon potentiel laitier; toutefois, croissance et poids au sevrage, dans les deux sexes, sont proches et acceptables. Par ailleurs, l'étude révèle l'existence de larges variabilités interindividuelles particulièrement dans la production laitière; favorable à la mise en place d'un programme de sélection en vue d'améliorer la production de ce mouton.

Mots clés: Mouton Rembi, production de lait, agneaux, croissance, Tiaret

MILK YIELD AND LAMB GROWTH AND BEHAVIOR IN REMBI SHEEP DURING SUCKLING PERIOD

Abstract - Milk yield and lambs growth performances were studied in the Rembi sheep in Tiaret district. Thirty-six ewes, aged between 3 and 5 years, and suckled single lambs, 18 males and 18 females, were studied throughout the suckling period. Weigh-suckle-weigh method (WSW) was used to estimate milk production, every 14 days to weaning (16th week). Lambs were weighed at lambing, and every week to weaning. Daily and total milk yield were 502±356 g and 55.3 kg, respectively. Lamb growth performances, for males and females, at birth and weaning age were 4.29±0.44; 4.11±0.53 kg and 18.8±3.05; 18.2±2.37 kg, respectively. So, correlation between suckled milk and lamb growth, the first month, was high (0.86) and similar. The present study showed low milk production for this local sheep breed, with close and acceptable male and female lamb weights at weaning. On the other hand, large inter-individual variations in milk production were observed in this study. Thus, the ewe's production potential could be improved by selection.

Key words: Rembi sheep, milk yield, lambs, growth, Tiaret.

Introduction

Dans la région de Tiaret, au Centre-Ouest algérien, le mouton blanc à queue fine, communément appelé Rembi, est le constituant principal de la population ovine commune aux vastes territoires de plaine et de steppe. Ce mouton aux membres et à la tête fauves, à l'origine, descendrait de la race Blanche Ouled Djellal [1]. Il est célèbre pour la qualité de ses agneaux recherchés particulièrement en période de fête religieuse du mouton. Etant donné la large distribution de cette race, ses performances productives peuvent être variables suivant le système de production suivi (extensif ou semi-intensif). Toutefois, l'amélioration des productions de ce mouton implique la connaissance des aptitudes laitière des mères en plus des performances pondérales des agneaux.

Ainsi, la réalisation des objectifs d'amélioration génétique des races ovines locales s'appuie sur la mise en place de dispositifs d'enregistrement des données en ferme, qui porteront sur l'analyse des conditions de conduite du troupeau (lutte, agnelage, allaitement) et sur des caractères maternels de croissance (gain de poids des agneaux et des adultes) et des mensurations des animaux [2]. Le fort effet du composant maternel sur les performances devrait être considéré dans les éventuels plans de sélection d'une race, et l'amélioration de la production laitière des brebis allaitantes apporte la moitié de la réponse au plan de sélection du poids au sevrage [3]. De la sorte, l'amélioration de la production laitière des brebis se conçoit par la sélection en race pure ou par croisement avec des races plus productives [4].

Par ailleurs, la conservation et le développement d'une race locale sont liés à la valorisation de ses productions, de son système d'élevage et des capacités à mettre en valeur et à entretenir son milieu particulier [5].

Le but de cette étude est de connaître le niveau de la production laitière et les aptitudes de croissance des agneaux sevrés tardivement chez les brebis allaitantes de race locale Rembi conduites en système de production semi-intensif.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Zone de l'étude

L'étude a été réalisée dans une ferme expérimentale située en zone céréalière dans la région de Tiaret dans le Centre-Ouest algérien (35° 31' de latitude Nord et 1° 1' de longitude Est et à 620 mètres d'altitude).

1.2.- Animaux et conduite alimentaire

Trente-six brebis (36) multipares pesant en moyenne 51,2 kg et âgées entre 3 et 5 ans; avec leurs agneaux (18 mâles et 18 femelles) ont été suivis dans cette étude. Les brebis recevaient quotidiennement environ 900g d'un mélange d'orge broyée (55%) et de son de blé (45%), en sus de 500g de paille de blé et 1% d'un complément en minéraux et en vitamines (CMV); une eau fraîche était procurée la matinée.

La période des agnelages a eu lieu entre novembre et décembre 2012; les agneaux restaient sous leurs mères pendant toute la période expérimentale, qui a duré 16 semaines. En plus de l'allaitement maternel, les petits recevaient à volonté une ration alimentaire de

même composition que celle des brebis. Cette conduite alimentaire correspond à celle pratiquée par les éleveurs dans la région de Tiaret; les agneaux restent souvent en compagnie de leurs mères, se nourrissant de la même ration fournie aux brebis.

1.3.- Collecte et analyse des données

Les agneaux étaient pesés dans les 6 heures qui suivaient leur naissance et chaque semaine jusqu'à la 16^e. Les pesées étaient réalisées en début de matinée avant le rationnement à l'aide d'une balance de 5 g de précision. Dès la naissance, chaque agneau était identifié avec une boucle sur l'oreille droite, portant le même numéro que celui de la mère.

L'estimation de la production laitière (PL) a été réalisée par la méthode de la pesée avant et après tétée (PAAT) [6,7]: les agneaux sont séparés, non loin de leur mère, une première fois le matin de 08h00 à 11h00 (séparation du matin), cette séparation est suivie par une période de tétée de 20 minutes; l'opération est répétée après une deuxième période de séparation (séparation de midi), et les agneaux sont pesés avant et juste après chaque tétée (le matin et l'après midi) en utilisant une balance analytique. La quantité de lait tété par l'agneau est définie comme la différence entre le poids d'avant et d'après tétée, et indirectement comme la production laitière de la mère en trois heures.

L'estimation de la production totale de lait durant la période d'allaitement est réalisée suivant la méthode FLEISHMAN [8, 9]. La production enregistrée au premier contrôle (14^e jour) a été extrapolée jusqu'au jour 7 du postpartum.

Les calculs statistiques (écart-type, comparaison de moyennes, test de Student, test de corrélation) ont été effectués à l'aide du logiciel Microsoft Excel (2007) et du logiciel Statistica 8.0 (Statsoft, 2007) avec un seuil de signification à $p < 0,05$.

2.- Résultats et discussion

2.1.- Niveau de la production laitière et comportement des agneaux

Pour une meilleure appréciation de la variation en production laitière, la période de lactation est divisée en trois phases distinctes: début (de 6 à 21j), milieu (de 24 à 42j), et fin de lactation (de 45 à 112j) selon BENSON *et al* (1999) [7]. Le pic de la production laitière a été atteint à la 2^{ème} semaine de l'allaitement, avec 1077 ± 306 g. Cependant, la moyenne estimée au dernier contrôle était de 129 ± 127 g. La production laitière totale estimée (PLT) et la moyenne de la production laitière journalière (PLJ) étaient de 55,3 kg et 502 ± 356 g; avec un coefficient de variation (CV) de 71%; une très large variabilité dans la production laitière est constatée.

Comparée à la première séparation, la quantité de lait tété après la seconde séparation, au cours du premier mois de l'allaitement, était plus importante ($p < 0,001$) (fig. 1); ÚNAL *et al* (2008) [9] rapportent des résultats analogues. Cette différence s'expliquerait par l'exposition des agneaux à des températures basses durant les premières semaines de leur vie où la température oscillait, la nuit, entre $-3,0$ et $9,5^{\circ}\text{C}$ au mois de décembre 2012 [10]. Dans de telles conditions les agneaux souffriraient de faiblesse musculaire et de la difficulté ou le refus de téter [11]; avec le réchauffement matinal les agneaux reprenaient de la vigueur. Les agneaux, mâles et femelles, avaient tété les plus

importantes quantités de lait au premier mois de leur vie [12], période durant laquelle ils dépendent exclusivement du lait maternel pour leur survie [13]. Toutefois, au milieu et en fin d'allaitement il n'a pas été relevé de différences marquées entre les quantités de lait absorbées, au matin et à midi. Cependant, les quantités globales de lait consommées par les agneaux avaient diminuées considérablement (fig. 1). Durant cette phase les mères supportent mal les tétées et les agneaux consomment des quantités appréciables d'aliment concentré [4]; étant donné le développement suffisant de la digestion ruminale [14]. La quantité totale de lait produite par les brebis allaitant des agnelles (57,4 kg) était légèrement supérieure ($p > 0,05$) à celle obtenue chez les brebis suivies par des agneaux (54,2 kg). Contrairement à ce que nous avons avancé, KAHTUEI *et al* (2008) [15] ont rapporté que les brebis allaitant des agneaux mâles produisaient plus de lait.

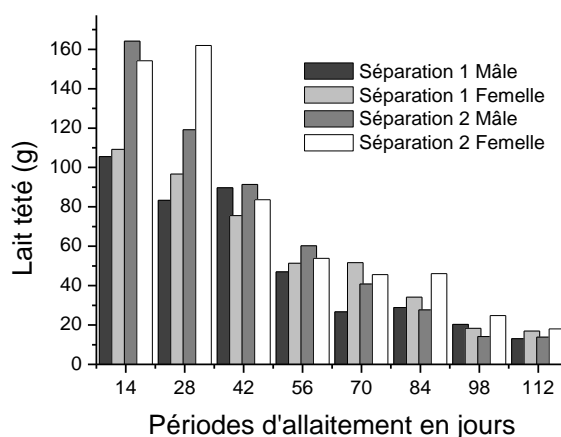


Figure 1.- Performances des tétées selon le sexe, les périodes de séparation et d'allaitement

Dans une étude chez la race Hamra d'Algérie, BENYOUCEF et AYACHI (1991) [16], utilisant la traite manuelle précédée d'une injection d'ocytocine pour l'estimation de la production laitière, rapportent une production de 56kg pendant 42 jours. Les résultats obtenus dans la présente étude sont beaucoup plus faibles. Toutefois, l'injection d'ocytocine induit un surplus dans la production laitière par rapport à la méthode PAAT [7, 9]. BOUJENANE et KERFAL (1992) [17] chez la race marocaine D'Man, avec la méthode PAAT, observent un pic se produisant à la 2^e semaine avec 1,72 kg et une PLT importante de 113,9 kg en 84 jours; comparée à la valeur de 50,5 kg dans cette étude. La race Béni-Ghil testée par la même méthode de contrôle (PAAT) affichait un pic de lactation à la 2^e semaine et une PL de 42,7 kg à 56 jours de lactation [18], ces résultats sont similaires à ceux réalisés par les brebis de cette étude. La race laitière Tunisienne Sicilo-Sarde, testée par la méthode à ocytocine et sevrée à 90 jours, affichait une PL de 109,2 kg en 180 jours [19]. Tandis que, MOUJAHED *et al.* (2009) [20] rapportent une valeur de 74,9 kg en 225 jours de lactation chez la même race sevrée à 75 jours. Dans cette étude les agneaux ont été laissés sous leurs mères pendant les 4 mois d'allaitement, afin de mimer le sevrage tardif pratiqué par les éleveurs dans la région de l'étude.

Par ailleurs, plusieurs auteurs ont montré que l'amélioration de la ration alimentaire était en faveur de l'augmentation du niveau de la production laitière [21,22,23]. Dans cette étude la quantité d'aliment distribuée aux brebis allaitantes était identique à celle d'usage,

à fin de connaître les performances laitières des brebis de la race étudiée dans son milieu naturel d'exploitation. Il est important de souligner que la conduite des animaux dans une ambiance à basse température, notamment les nuits d'hiver en bergerie ouverte, entraîne une surconsommation d'aliments [11] au dépend des besoins de la production.

2.2.- Croissance des agneaux

Les moyennes des poids vifs (PV) enregistrées chez les agneaux, mâles et femelles, de la naissance au jour 120 sont présentées dans le tableau I. À la naissance, le PV moyen des agneaux mâles était légèrement supérieure à celui des femelles avec $4,29 \pm 0,44$ et $4,11 \pm 0,53$ kg, respectivement; ce qui est en accord avec plusieurs auteurs [14,24,25]. L'âge des mères aurait également de l'effet; les brebis les plus âgées donneraient naissance aux agneaux les plus lourds [15,26,27]. Le plus grand nombre de brebis de cette étude étaient âgées entre 36 et 48 mois et leurs produits présentaient des poids proches (≥ 4 kg). Les PV réalisés en fin d'expérimentation (sevrage à 4 mois), pour les agneaux mâles et femelles étaient proches, respectivement, de $18,8 \pm 3,05$ et $18,2 \pm 2,37$ kg.

Tableau I.- Moyennes des PV des agneaux et coefficients de variation, de la naissance au jour 120 (CV: coefficient de variation, PV: poids vif)

Jours de pesée	PV Mâles (kg)	CV (%)	PV Femelles (kg)	CV (%)	Ecart entre PV en g
J 0	$4,29 \pm 0,44$	10	$4,11 \pm 0,53$	13	180
J 30	$8,64 \pm 1,19$	14	$8,24 \pm 1,39$	17	400
J 45	$10,66 \pm 1,57$	15	$9,98 \pm 1,83$	18	680
J 60	$12,49 \pm 1,82$	14	$11,75 \pm 2,09$	18	740
J 70	$13,89 \pm 1,87$	13	$13,18 \pm 2,09$	16	710
J 90	$15,79 \pm 2,15$	14	$15,28 \pm 2,29$	15	510
J 120	$18,85 \pm 3,05$	16	$18,17 \pm 2,37$	13	680

Les différences en PV observées entre mâles et femelles lors des pesées pratiquées aux âges types, étaient constamment insignifiantes ($p > 0,05$). Des valeurs élevées en écart-type étaient observées; elles évoluaient avec la croissance des agneaux chez les deux sexes (fig. 2), avec une supériorité pour les agneaux par rapport aux agnelles. Ainsi, les coefficients de variation (CV) au sevrage (120 jours) étaient de 16% ($14,7$ à $24,5$ kg) et 13% ($14,2$ à $22,4$ kg), respectivement, pour agneaux et agnelles; ce qui représente une certaine variabilité entre individus. EL FADILI (2011) [28] constate des variabilités inter-élevages semblables ($14,12$ à $23,06$ kg) chez les agneaux de la race INRA 180 issue de croisement des races Timahdite et D'Man; BEN SALEM *et al* (2009) [29] observent également des variabilités entre élevages chez la Noire de Thibar, mais aussi au sein du troupeau. Selon BEN SALEM *et al* (2009) [29] les variations observées traduisent probablement l'existence d'interactions génotype x système de production; c'est cette variabilité qu'il faudrait cerner et exploiter dans les programmes d'amélioration de la race. Il faut signaler, ici, que les animaux étudiés n'ont fait objet d'aucun travail de sélection.

Le maximum du gain moyen quotidien (GMQ) était enregistré au cours du premier mois d'allaitement, avec des valeurs moyennes de 145 ± 39 et 126 ± 33 g/jour, respectivement, pour mâles et femelles; indiquant que le meilleur taux de croissance se produit lorsque l'alimentation des jeunes agneaux dépend principalement du lait tété [30].

Durant le reste de la période d'allaitement, la croissance se poursuivait mais paraît ralentir.

Le long de l'allaitement la croissance chez les mâles était légèrement supérieure, en revanche durant la période allant de 60 à 90 jours c'était les femelles qui ont crû plus (tab. II). Au fur et à mesure que les agneaux avançaient en âge, l'écart en gain de poids entre mâles et femelles diminuait sensiblement (tab. II) ; contre 18,8 g de différence enregistrée au premier mois, l'écart avait considérablement diminué, au dernier mois d'allaitement, pour atteindre 2,3 g. Ainsi, à aucun moment la différence du sexe n'avait influencé de manière significative la croissance des agneaux ($p > 0,05$). SADRAOUI *et al* (2009) [30] et ALBIERI KORITIAKI *et al* (2013) [25] ont trouvé des résultats similaires. Par contre, plusieurs auteurs ont rapporté que la croissance des agneaux mâles était sensiblement supérieure comparée à celle des femelles [31,32,33]. Par ailleurs, la réduction de l'écart de croissance entre les deux sexes s'expliquerait par une vigueur supérieure des agnelles à la tétée, fait constaté entre le premier et le deuxième mois de l'allaitement, et du 70^e jour au sevrage (fig. 1). Cependant, des PV proches au sevrage, entre mâles et femelles, impliquent des valeurs pécuniaires similaires, ce qui favoriserait, en conséquence, un abattage excessif des agnelles.

Tableau II.- Gain moyen quotidien des agneaux, mâles et femelles, aux âges types

Périodes de croissance en jours	Gain moyen quotidien (g)		Ecart en GMQ entre sexes (g)
	Mâles	Femelles	
0 -30	145 ± 39	126 ± 33	18,8
30 - 60	128 ± 34	117 ± 32	11,4
30 - 70	131 ± 28	123 ± 25	7,4
60- 90	110± 37	118± 19	-8,1
0 - 120	121 ± 26	119 ± 17	2,3

Dans une étude récente, BOUSSENA *et al* (2013) [34], ont enregistré chez les agneaux Ouled Djellal des valeurs nettement supérieures en GMQ comparées à celles observées dans la notre: les taux maximums de croissance étaient de 207 et 250 g/j, pendant les périodes respectives de 0 à 30j et 30 à 60j, pour une période de sevrage similaire (120 jours) (tab. II); ainsi, le poids au sevrage des agneaux Ouled Djellal avait atteint 25,8 kg. Dans une étude conduite par BOUJENANE *et al* (2005) [35], les agneaux de race marocaine locale Timahdite montrent des performances très proches de celles de la race Rembi étudiée, avec un PV de 16,3 kg à 90j; après croisement avec la race D'Man le PV à 90j est nettement amélioré (21,7 kg). REKIK *et al* (2008) [36] rapportent chez les agneaux D'Man, élevés dans les Oasis tunisiennes, à 70 et 90 j des PV respectifs de 11,4±3,5 et 13,1±3,6 kg. Les valeurs moyennes en GMQ étaient de 120 et 140 g/j, respectivement, pour les périodes d'allaitement allant de 30 à 70 et de 30 à 90j. Les performances réalisées par les agneaux de notre étude, étaient supérieures pour les périodes analogues, malgré la production laitière importante de cette race [17]; cependant, la croissance des agneaux D'Man était supérieure entre 30 et 90j (tab. II). D'après les données publiées par CHIKHI et BOUJENANE (2003) [37], les moyennes de PV enregistrées chez les agneaux Sardi étaient de 4,10, 10,9 et 22,5 kg, respectivement, à la naissance, 30 et à 90j; malgré un poids légèrement inférieure à la naissance, le niveau de croissance était plus élevé, chez les agneaux Sardi avec 224 et 194 g/j, respectivement, pour la période 0 à 30 et 30 à 90j, comparé à celui des agneaux de la présente étude (tab. II).

Le poids à la naissance a montré une corrélation positive légère ($r = 0,43$) avec le PV des agneaux à 30 jours, comme observé par KUCHTIK et DOBES (2006) [38], mais celle-ci était faible ($r = 0,20$) avec le PV au sevrage. Dans cette étude on a observé que les agneaux qui ont réalisé les meilleures performances pondérales au sevrage n'étaient pas tous issus de mères à production laitière élevée, contrairement à ce qui est constaté par certains auteurs [3,30,39]. Ce qui suggère que l'adaptation des agneaux à l'alimentation solide, dès le jeune âge, avait permis de surmonter l'insuffisance en production laitière de certaines mères.

2.3.- Corrélation entre PLJ et GMQ

La production laitière journalière (PLJ) était étroitement liée à la croissance des agneaux (GMQ) tout au long de la période d'allaitement. Le coefficient de corrélation, au 1^{er} mois d'allaitement, était similaire pour agneaux et agnelles ($r = 0,86$). Ce coefficient élevé s'explique par la dépendance des agneaux au lait des mères durant cette phase de l'allaitement. Avec la progression de la période d'allaitement, le coefficient diminuait graduellement pour atteindre 0,62 au 4^e mois. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par BEN SALEM *et al* (2009) [29] et ÜNAL *et al* (2008) [9]. Cependant, malgré la diminution importante des quantités de lait tétées, notamment durant la dernière phase d'allaitement, on observait une évolution continue de la courbe de croissance chez les deux sexes jusqu'à la fin de l'expérimentation (fig. 2); s'expliquant par une adaptation précoce des jeunes agneaux à la consommation d'aliments solides. Ainsi, au fur et à mesure que les agneaux avançaient en âge, ils dépendaient moins du lait maternel, comme source unique d'alimentation, et tendaient à consommer de plus en plus des aliments solides [9,12,41]. En fin, un sevrage à 60 jours serait recommandé chez les brebis allaitantes, pour atteindre les meilleures performances de croissance [12, 40].

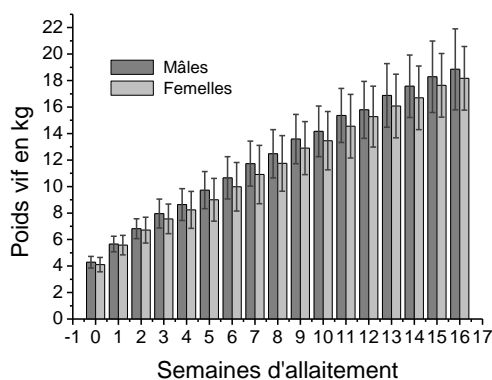


Figure 2.- Evolution de la croissance des agneaux, mâles et femelles, au cours de l'allaitement

Conclusion

Il ressort de cette étude que le niveau de production laitière, estimée par la méthode de pesée, chez la brebis étudiées de race Rembi en période d'allaitement n'était pas élevé.

Les performances enregistrées en PL et en croissance d'agneaux étaient proches de celles rapportées chez certaines races marocaines (Béni-Ghil, Timahdite); ce qui suggère une éventuelle parenté. En raison de leur faible production laitière ces races locales sont

destinées à la production de viande.

Toutefois, les taux de la croissance et des poids vifs réalisés au sevrage par les agneaux et les agnelles de l'étude étaient proches et acceptables; impliquant à un abattage excessif des femelles et par conséquent une diminution dans l'effectif des futures reproductrices.

Par ailleurs, les larges variations interindividuelles observées, particulièrement en production laitière, sont en faveur de la création d'un programme de sélection pour l'amélioration des productions de cette race.

Références bibliographiques

- [1].- CHELLIG R., 1992.- Les races ovines Algériennes. Ed. Office des Publications Universitaires (OPU), Alger: 1-80
- [2].- BENYOUCEF M. T., MADANI T., ABBAS K., 2000.- Systèmes d'élevage et objectifs de sélection chez les ovins en situation semi-aride algérienne. In : Gabiña D. (éd.). Analysis and definition of the objectives in genetic improvement programmes in sheep and goats. An economic approach to increase their profitability. Zaragoza : CIHEAM, Options Méditerranéennes : Série A, Séminaires Méditerranéens; n. 43: 101-109.
- [3].- BRADFORD G. E., 1972.- The Role of Maternal Effects in Animal Breeding: VII. Maternal Effects in Sheep. J. Anim. Sci., 35: 1324-1334.
- [4].- RICORDEAU G., FLAMANT J. C., 1969.- Croisement entre les races ovines Préalpes du Sud et Frisonne. II- Reproduction, viabilité, croissance, conformation. Ann. Zootech., 18 (2): 131-149.
- [5].- LAUVIE A., COUX N., 2012.- Diversité des formes de valorisation des populations animales locales et gestion des ressources génétiques animales. INRA. Prod. Anim., 25 (5): 431-440.
- [6].- RICORDEAU G., BOCCARD R., DENAMUR R., 1960.- Mesure de la production laitière des brebis pendant la période d'allaitement. Ann. Zootech, 9: 97-120.
- [7].- BENSON M. E., HENRY M. J., CARDELLINO R. A., 1999.- Comparison of weigh-suckle-weigh and machine milking for measuring ewe milk production. J. Anim. Sci., 77: 2330-2335.
- [8].- RUIZ R., OREGUI L. M., HERRERO M., 2000- Comparison of models for describing the lactation curve of Latxa sheep and an analysis of factors affecting milk yield. J. Dairy Sci., 83: 2709-2719.
- [9].- ÜNAL N., AKÇAPINAR H., ATASOY F., YAKAN A., UĞURLU M., 2008- Milk yield and milking traits measured with different methods in Bafra sheep. Rev. Méd. Vét., 159 (10): 494-501.

- [10].-INFOCLIMAT, 2012-
<http://www.infoclimat.fr/climatologie/année/2012/tiaret/valeurs/60511.html>.
- [11].- DAVID P., OLSON C. F., PARKER B. R., MASTER L., DIXON J. E., 1987.- Responses of pregnant ewes and young lambs to cold exposure. *Can. Vet. J.*, 28(4):181-186
- [12].- GAVOJDIAN D., SAUER M., PADEANU I., PACALA N., OCTAVIAN VOIA S., 2013.- Influence of production system, sex and litter size on growth rates in Turcana lambs *Animal Science and Biotechnologies*, 46 (2): 219-228.
- [13].- LAKHSSASSI K., EL FADILI M., 2011.- Evaluation de l'état corporel des brebis de trois races durant l'allaitement. *Renc. Rech. Ruminants.*, 18, 250 p.
- [14].- SELAIVE-VILLARROEL A. B., MACIEL M. B., MANZONI DE OLIVEIRA N., 2008.- Effects of weaning age and weight on lamb growth rate of Morada Nova breed raised in a tropical extensive production system. *Ciência Rural*, Santa Maria, 38 (3): 784-788.
- [15].- KAHTUEI R. M., SHAHNEH A. Z., SHERBABAK M. M., 2008.- Lactation performances and suckling lamb growth of Kermani fat-tailed ewe. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7 (12): 1575-1578.
- [16].- BENYOUCEF M. T., AYACHI A., 1991.- Mesure de la production laitière de brebis Hamra durant les phases d'allaitement et de traite. *Ann. Zootech.*, 40: 1-7.
- [17].- BOUJENANE I., KERFAL M., 1992.- Estimation de la production laitière des brebis D'Man. *Revue Marocaine de Recherche agricole*, 78: 145-155.
- [18].- BOUJENANE I., BERRADA D., MIHI S., DJEMAI M., 1996.- Production laitière de races Timahdite, Sardi et Béni Ghil en race pure et en croisement. *Actes Inst. Agron. Vet.*, vol. 16 (3): 11-18.
- [19].- MOHAMED A., KHALDI B., REKIK B., KHALDI G., 2008.- Normal and residual milk yields in Sicilo-Sarde Ewes: Effect of litter size and the weaning age of lambs. *Research Journal of Animal Sciences*, (2) 5: 144-148.
- [20].- MOUJAHED N., BEN HENDA N., DAREJ C., REKIK B., DAMERGI C., KAYOULI C., 2009.- Analyse des principaux facteurs de variation de la production laitière et de la composition du lait chez les brebis Sicilo-Sarde dans la région de Béja (Tunisie). *Livestock Research for Rural Development*, vol. 21, Art. 53.
- [21].- ALEXANDRE G., ARCHIMÈDE H., CHEVAUX E., AUMONT G., XANDÉ A., 2001.- Feeding supply of suckling Martinik ewes reared in intensive conditions: effects of supplement levels and litter size. *INRA, EDP Sciences. Anim. Res.*, 50: 213-221.
- [22].- BOCQUIER, F., CAJA G., OREGUI L.M., FERRET A., MOLINA E., BARILLET F., 2002- Nutrition et alimentation des brebis laitières. In : Barillet F. (éd.), Bocquier F. (éd.). *Nutrition, alimentation et élevage des brebis laitières. Maîtrise de facteurs de*

- production pour réduire les coûts et améliorer la qualité des produits. Zaragoza : CIHEAM, Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches., 42: 37-55.
- [23].- CABALLERO R., RIOPEREZ J., FERNANDEZ E., ARAUZO M., HERNAIZ P.J., 1992.- Performance of Manchega ewes grazing cereal stubbles and cultivated pastures. *Small Rumin. Res.*, 7: 315-329.
- [24].- GARDNER D. S., BUTTERY P. J., DANIEL Z., SYMONDS M. E., 2007.- Factors affecting birth weight in sheep: maternal environment. *Reproduction*, 133(1): 297-307.
- [25].- ALBIERI KORITIAKI N., LUIS DE AZAMBUJA RIBEIROE., YURIKA MIZUBUTI I., FERREIRA DA SILVA L. D., ALVES DE FREITAS BARBOSA M. A., CLIVATI SCERBO D., DANTAS MUNIZ C. S., FERNANDES JÚNIOR F., 2013.- Effect of environmental factors on performance of purebred and crossbred Santa Inês lambs from birth to 154 days of age. *R. Bras. Zootec.*, vol.42 (2):.87-94.
- [26].- CHIKHI A., 2006.- Reproduction performances of Boujaâd ewes mated by D'Man rams and growth performances of the F1 crossed lambs. *Renc. Rech. Ruminants*, 13: 2-22.
- [27].- ANNETT R. W., CARSON A. F., DAWSON L. E., IRWIN D., KILPATRICK D. J., 2011- Effects of breed and age on the performance of crossbred hill ewes sourced from Scottish Blackface dams. *Animal*, 5(3): 356-66.
- [28].- EL FADILI M., 2011.- Evaluation des brebis de la nouvelle race IN R A 180 en ferme dans le système d'élevage agricole atlantique au Maroc. In : Bernués A. (ed.), Boutonn et J.P. (ed.), Casasús I. (ed.), Chentouf M. (ed.), Gabiña D. (ed.), Joy M. (ed.), López-Francos A. (ed.), Morand-Fehr P. (ed.), Pacheco F. (ed.). *Economic, social and environmental sustainability in sheep and goat production systems*. Zaragoza : CIHEAM / FAO / CITA-DGA, Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n°.100: 255-260
- [29].- BEN SALEM I., REKIK M., HAMMAMI H., BEN HAMOUDA M., ALOULOU R., SAADOUN L., 2009.- Facteurs de variation non génétique de la productivité des brebis de race Noire de Thibar. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 62 (1): 59-66.
- [30].- SADRAOUI R., JAOUAD M., REKIK B. KHALDI G., 2012.- Milk yield estimated by the hormonal method in the Queue Fine de l' Ouest and Noire de Thibar ewes. *Research Journal of Animal Sciences*, (6) 1: 26-29.
- [31].- AKSAKAL V., MACIT M., ESENBUGA N., 2009.- Effects of various ages of weaning on growth characteristics: Survival rate and some body, measurements of Awassi lambs. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (8): 1624-1630.
- [32].- DASKIRAN I., KONCAGUL S., BINGOL M., 2010- Growth Characteristics of Indigenous Norduz Female and Male Lambs. *Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences*, 16: 62-69.
- [33].- SORMUNEN-CRISTIANA R., SUVELA M., 1999- Out-of-season lambing of

Finnish Landrace ewes. *Small Rum. Res.*, 31: 265-272.

- [34].- BOUSSENA S., BOUAZIZ O., ZERROUGUI S., DERQAOU L., TAINTURIER D., 2013.- Performances de croissance corporelle et testiculaire avant le sevrage chez les agneaux de race Ouled Djellal. *Rev. Méd. Vét.*, 164 (4): 191-199.
- [35].- BOUJENANE I., CISSE M.F., KANSARI J., 2005- Productivity of Timahdite and D'man × Timahdite ewes lambing in the autumn, spring and summer in Morocco. INRA, EDP Sciences, *Anim. Res.*, 54: 25-31.
- [36].- REKIK B., BEN GARA A., ROUISSI H., BARKA F., GRAMI A., KHALDI Z., 2008.- Performances de croissance des agneaux de la race D'Man dans les oasis Tunisiennes, vol. 20, Art. 162.
- [37].- CHIKHI A., BOUJENANE I., 2003.- Caractérisation zootechnique des ovins de race Sardi au Maroc. *Revue Élev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 56 (3-4): 187-192.
- [38].- KUČHTÍK J., DOBEŠ I., 2006.- Effect of some factors on growth of lambs from crossing between the Improved Wallachian and East Friesian. *Czech J. Anim. Sci.*, 51 (2): 54-60.
- [39].- AL JASSIM R. A. M., AZIZ D. I., ZORAH K., BLACK J. L., 1999.- Effect of concentrate feeding on milk yield and body-weight change of Awassi ewes and the growth of their lambs. *Animal Science*, 69:441-446.
- [40].- BERIAIN M. J., HORCADA A., PURROY A., LIZASO G., CHASCO J., MENDIZABAL J. A., 2000.- Characteristics of Lacha and Rasa Aragonesa lambs slaughtered at three live weights. *J. Anim. Sci.*, 78: 3070-3077.
- [41].- SNOWDER G. D., GLIMP H. A., 1991.- Influence of breed, number of suckling lambs, and stage of lactation on ewe milk production and lamb growth under range conditions. *J. Anim. Sci.*, 69:923-930.

SUR L'ORIGINE DES CROUTES GYPSEUSES DU SAHARA SEPTENTRIONAL ALGERIEN: CAS DE LA REGION DE OUARGLA

YOUCEF Fouzia^{1*}, HAMDI-AÏSSA Baelhadj^{1,2}, BOUHADJA Meghnia¹,
LAMINI Khadidja¹

*Université de Ouargla, Faculté des sciences de la nature et de la vie,
Laboratoire de biogéochimie des milieux désertiques, Ouargla 30 000, Algérie
Université de Ouargla, Faculté des sciences de la nature et de la vie,
Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides,
Ouargla 30 000, Algérie, E-mail: youcef_yf@yahoo.fr*

Résumé.- Les sols gypseux sont très fréquents dans les régions arides et semi-arides et présentent des accumulations de différentes formes qui ont chacune une origine et une signification spécifique. L'étude morphologique et analytique des croûtes gypseuses de surface dans deux stations (N'Goussa et El-Bour) située dans la région de Ouargla (Algérie) montre l'épaisseur importante des croûtes gypseuses au niveau des profils étudiés (24 cm à 145 cm) et un taux de gypse très élevé avec des valeurs allant de 58,17% à 73,26%. La formation des croûtes gypseuses étudiées a nécessité des conditions climatiques plus humides que les conditions hyperarides actuelles qui règnent dans la région de Ouargla.

Mots clés: Sahara septentrional, croûtes gypseuses, sol, Ouargla, aridité.

ABOUT THE ORIGIN OF GYPSUM CRUSTS OF THE NORTHERN SAHARA OF ALGERIA: CASE STUDY OF OUARGLA AREA

Abstract.- Gypsiferous soils are very common in arid and semi-arid regions. They present different shapes of accumulations having each one special origin and significance. The morphological and analytical study of gypsum crusts in two stations (N'Goussa et El-Bour) located in the area of Ouargla (Algeria) shows significant thickness of gypsum crusts in the studied profiles (24 cm to 145 cm) and very high content of gypsum with values ranging from 58.17 to 73.26%. The studied gypsum crusts were formed during more humid period with climatic conditions different from those of Ouargla area.

Key words: Northern Sahara, gypsum crusts, soil, Ouargla, aridity

Introduction

Les zones arides et semi-arides se caractérisent au niveau pédologique par la présence des accumulations de sels (gypse, calcite, sels solubles...), qui présentent des morphologies très variables [1]. Le gypse et les sels solubles peuvent s'accumuler dans le sol quand l'évapotranspiration devient supérieure aux précipitations. Ils s'accumulent sous plusieurs grands types qui peuvent être distinguées selon leurs origines et ont chacun une signification climatique spécifique [2].

Selon le degré de précipitation du gypse dans le sol, deux types d'accumulation peuvent être distingués [3]: les accumulations discontinues qui renferment: le gypse diffus, les pseudo-mycéliums, les amas, les nodules et les racines gypsifiées (manchons de gypse); et les accumulations continues qui renferment les croûtes et les encroûtements.

WATSON (1985), admet que les croûtes gypseuses existent dans tous les continents, y compris l'antarctique et sont généralement définies comme des accumulations ayant 0,10 m à 5,0 m d'épaisseur et contenant plus de 15% de gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) et au minimum 5% de gypse que la roche mère sous-jacente [4]. Selon WATSON (1985), les croûtes gypseuses peuvent être subdivisées en trois principaux types en se basant sur des critères texturaux et structuraux: les croûtes formées après l'évaporation des eaux de surface dans les lagunes et les lacs, caractérisées par des lits horizontaux discrets supérieures à 0,1 m d'épaisseur; les croûtes de nappe qui se développent à partir de l'évaporation d'une nappe phréatique proche de la surface, composées de grands cristaux lenticulaires; et les croûtes de surface, qui ont des formes variées, mais qui sont toutes le résultat de la dégradation d'accumulations de subsurface [4].

CHEN (1997), a attribué le terme de gypcrete pédogénique à la couche gypseuse massive, microcristalline, blanche et poudreuse existant à la surface du sol avec une épaisseur de 10 cm ou plus [5]. Pour BUREAU et ROEDERER (1961), le terme de "croûte gypseuse est accordé à la partie zonée (la plus durcie et souvent superficielle) de la formation généralement désignée par le terme de croûte gypseuse; c'est l'équivalent de ce que l'on appelle souvent croûte gypseuse zonaire [6].

L'objectif de ce travail est d'une part la contribution à l'étude des sols du Sahara Algérien, et d'autre part l'explication de l'origine et les conditions qui ont permis la formation de ces grandes accumulations de gypse (croûtes gypseuses).

1.- Matériel et méthodes

La présente étude est réalisée dans la région de Ouargla (Sahara septentrional Est algérien) caractérisée par un climat hyperaride, avec des précipitations de 64,94 mm/an et des températures moyennes annuelles de 23,53°C (période: 1990-2004). Les sols gypseux sont très répandus dans la région ils correspondent au pédopaysage gypseux [7].

Le choix des sites d'étude (fig. 1) a été effectué après des prospections sur terrain et des sondages à la tarière en vue de bien choisir l'emplacement des profils. Le critère de choix principal de ces derniers, est basé sur l'existence de croûtes gypseuses sur des sols naturels (non anthropisés).

La première station est située à N'Goussa (32°08'N ; 05°19'E, altitude: 135 m) où un profil est effectué: P₁N. La deuxième est située à El-Bour (32°09'N ; 05°20'E, altitude : 120 m), dans laquelle, trois profils sont réalisés: P₂B, P₃B et P₄B entre les dunes à coté de la zone de Dabdaba.

La description morphologique des profils de sol est basée sur les principes de BAIZE et JABIOL (1995) [8]; en première étape l'environnement du profil est décrit (localisation, topographie, végétation, état de surface et enfin le temps et la date de description); puis en deuxième étape, chaque horizon est décrit à part (épaisseur en cm, couleur, texture, structure, présence de matière organique, tâches, éléments grossiers, réaction à l'acide chlorhydrique, porosité, limites entre les horizons, état d'humidité, consistance et transition). Des échantillons de sol sont prélevés de chaque horizon.

La granulométrie est déterminée par tamisage humide, à travers une série de tamis à différents diamètres (1mm, 0,5mm, 0,2mm, 0,1mm et 0,05mm) [9]. Le calcaire total est déterminé par la méthode du calcimètre de Bernard qui se base sur la décomposition de carbonates de calcium par l'acide chlorhydrique et la mesure du volume de gaz carbonique dégagé lors de cette réaction [9]. Pour le gypse, la méthode proposée par COUTINET (1965) a été utilisée, ayant comme principe le dosage des ions SO_4^{2-} libérés après une attaque aux carbonates d'ammonium et précipitation avec le chlorure de baryum [10]. La matière organique est estimée après le dosage du carbone organique existant dans les échantillons par la méthode Anne, basée sur le principe de l'oxydation du carbone organique par le bichromate de potassium en milieu sulfurique et le titrage de l'excès de bichromate par le sel de Mohr en présence de diphénylamine [9].

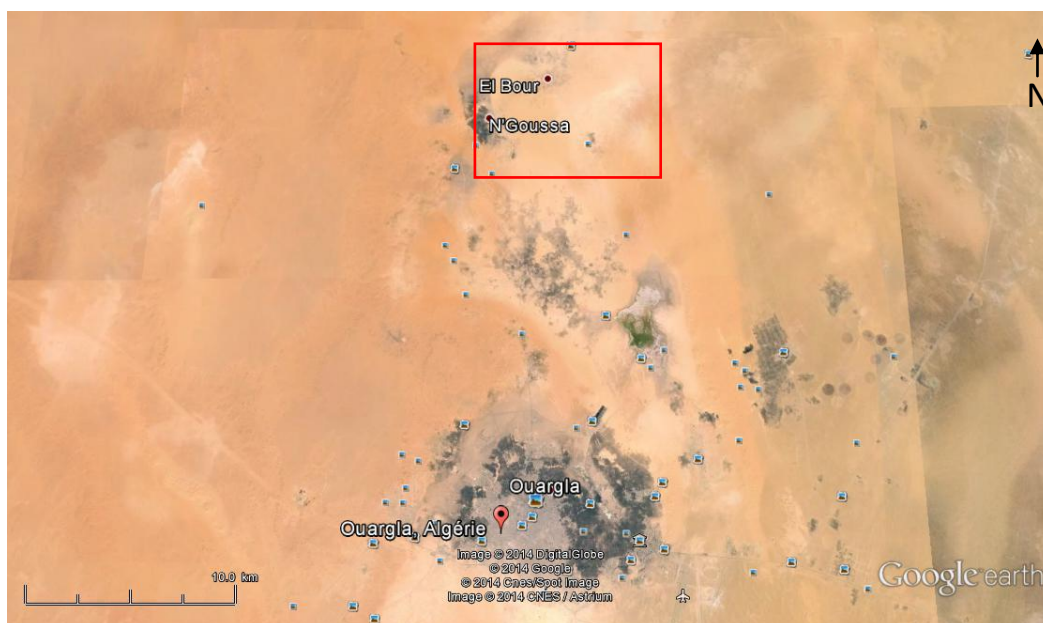


Figure 1.- Localisation des stations d'étude

2.- Résultats et discussion

La description morphologique des profils de sol sur terrain, a permis de constater l'épaisseur très importante des croûtes gypseuses étudiées (fig. 2 et 3) variant entre 24 et 145 cm.

L'analyse granulométrique montre une texture sableuse dans tous les horizons étudiés avec la dominance de la fraction sable grossier pour les profils P₁N et P₄B tandis que dans l'horizon C du profil P₄B et les profils P₃B et P₂B la fraction du sable fin, est la plus dominante (tab. I). Les résultats obtenus pour le taux de calcaire total montrent que les profils étudiés sont non calcaire à modérément calcaire avec des taux variant entre 0,23% et 13,9%. La mesure du taux de gypse dans les différents profils montre que les croûtes gypseuses de surface sont extrêmement gypseuses avec des taux variant entre 58,17% et 73,26%. Pour les autres horizons les analyses montrent qu'ils sont légèrement gypseux sauf pour l'horizon profond de la coupe P₄B qui est non gypseux. D'une manière générale, il a été remarqué que le taux de gypse diminue brusquement en allant vers les horizons de profondeur avec des valeurs allant de 0,29% à 5,92% seulement (tab. I et fig. 4, 5, 6 et 7). Le taux de matière organique est très faible dans tous les horizons, avec des valeurs

inférieures à 1% (tab. I).



Figure 2.- Profil P₃B à El Bour (Ouargla)



Figure 3.- Profil P₂B à El Bour (Ouargla)

Les croûtes gypseuses sont omniprésentes dans les zones de N'Goussa et El-Bour (Ouargla). On peut facilement les repérer surtout avec leur épaisseur importante et leur couleur blanchâtre. Le climat hyperaride de la région de Ouargla, caractérisé à la fois par un très fort ensoleillement et de faibles précipitations a permis la conservation et la non dissolution de ces croûtes gypseuses. Elles sont très dures et formées de gypse microcristallin.

L'origine des croûtes gypseuses est discutée par plusieurs auteurs [4,5,11,12,13,14,15,16] et différentes hypothèses ont été avancées pour expliquer leur formation.

Les croûtes gypseuses étudiées rappellent celles décrites par WATSON (1985) comme étant des croûtes de surface, ayant comme origine une dégradation des accumulations de sub-surface et une dissolution des cristaux de gypse par les eaux météoriques, puis une conservation dans le sol, jusqu'à ce qu'une évaporation ultérieure précipite les sels solubles [4]. Dans le même contexte, la formation des croûtes gypseuses pédo-génétiques en Australie est expliquée par une dissolution des sédiments gypseux parentaux et puis une précipitation sous forme de microcristaux [5].

Certains auteurs [14,17] par contre attribuent l'origine de ces croûtes à un niveau plus haut des nappes phréatiques. Selon POUGET (1968), depuis le début du Quaternaire, les niveaux statiques des grands appareils artésiens ayant baissé de plusieurs mètres, il n'y a aucune surprise à trouver d'anciennes formations gypseuses de nappe en des lieux maintenant topographiquement surélevés par rapport aux niveaux actuels des nappes [14]. Selon DUTIL (1971), le gypse a été un élément très mobile dans le paysage du Bas-Sahara, malgré une solubilité relativement faible, de tels déplacements impliquent des conditions d'humidité très différentes des conditions actuelles [17]. L'existence de telles conditions

dans la région de Ouargla est rapporté par plusieurs auteurs [18,19,20,21,22]. En outre d'après FEDOROFF et COURTY (1989), dans les conditions climatiques actuelles du Sahara, les eaux sont trop rares pour véhiculer les ions nécessaires à la formation des grandes accumulations gypseuses [2].

Les croûtes gypseuses étudiées montrent une morphologie différente de la croûte gypseuse qui a été étudiée à Sebket Mellala (30 km à l'ouest de Ouargla) par YOUCEF et HAMDI-AÏSSA (2014), et qui montrent des cristaux de gypse bien cristallisés et pure ce qui prouve une formation dans un milieu lagunaire [22]. Cependant, leur épaisseur très importante a nécessité sûrement des quantités importantes d'eau et une nappe d'eau proche de la surface pour véhiculer cette quantité énorme de gypse, puis une évaporation très intense pour permettre la consolidation de ces croûtes gypseuses.

La préservation de ces croûtes gypseuses à la surface du sol indique l'existence d'un climat aride depuis leur formation [23,24].

Tableau I.- Analyses physico-chimiques des profils étudiés

Horizon	Profondeur (cm)	Granulométrie (diamètres en μm)						Calcaire total %	Gypse %	Matière organique %
		<50 μm	Sable fin		Sable grossier					
			50-100	100-200	200-500	500-1000	1000-2000			
<i>Profile P₁N</i>										
Ay	0-111	–	–	–	–	–	–	2,19	68,67	0,45
Ck	111-161	7	5,08	35,04	49,20	2,04	1,64	13,9	4,24	0,58
R	>161	1,39	3,13	30,39	64,72	0,35	0,02	0,69	1,92	0,66
<i>Profile P₂B</i>										
Ay	0-141	–	–	–	–	–	–	0,71	58,17	0,77
Ck	141-204	6,25	5,96	51,94	29,67	5,34	0,84	7,68	0,52	0,53
R	>204	1,19	3,31	62,52	28,70	3,85	0,43	0,23	0,37	0,71
<i>Profile P₃B</i>										
Ay	0-145	–	–	–	–	–	–	0,67	73,26	0,58
Ck	145-166	4,35	7,22	51,51	36,30	0,54	0,08	6,08	2,56	0,48
R	>166	2,61	2,18	45,47	49,22	0,51	0,01	1,77	5,56	0,34
<i>Profile P₄B</i>										
Ay	0-24	–	–	–	–	–	–	4,89	60,23	0,9
Ck	24-44	5,96	0,94	29,06	51,80	6,45	5,79	12,26	3,16	0,63
C	44-132	5,08	2,77	63,80	28,19	0,11	0,05	3,75	5,92	0,69
R	>132	0,87	2,21	39,78	57,10	0,03	0,01	1,16	0,29	0,45

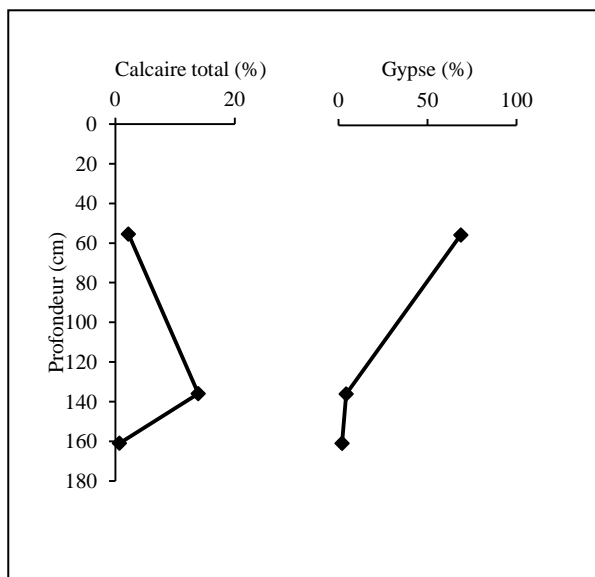


Figure 4.- Profils calcaire et gypseux de la coupe P₁N

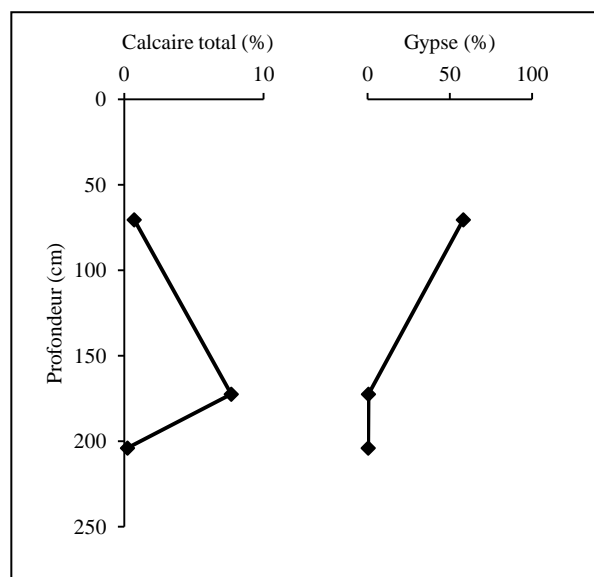


Figure 5.- Profils calcaire et gypseux de la coupe P₂B

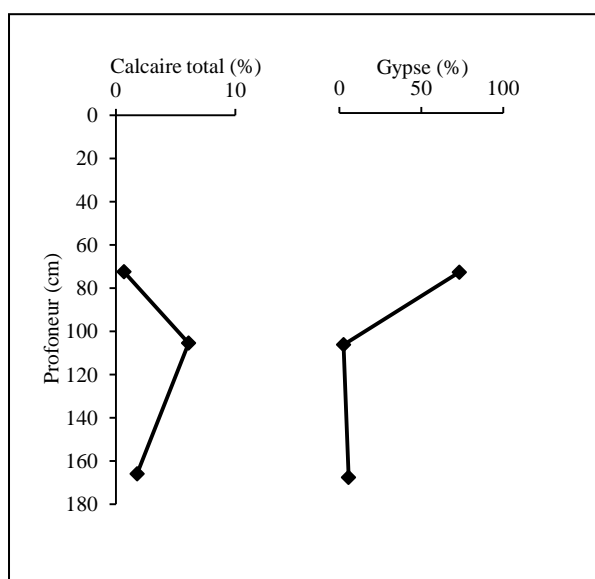


Figure 6.- Profils calcaire et gypseux de la coupe P₃B

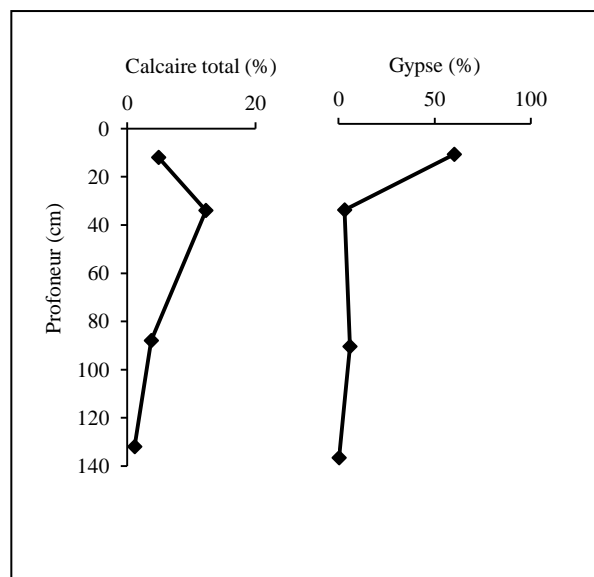


Figure 7.- Profils calcaire et gypseux de la coupe P₄B

Conclusion

L'étude morphologique et analytique de quelques profils de sol à croûte gypseuse de surface réalisée au niveau de la région de Ouargla (N'Goussa et El Bour), a pu montrer que les croûtes gypseuses étudiées ont des épaisseurs importantes, et leur formation a certainement nécessité une grande quantité d'eau et de ce fait des conditions climatiques plus humides que les conditions d'hyperaridité actuelle qui règnent dans la région. L'aridité qui a suivie cette période humide a permis la consolidation et la préservation des

croûtes gypseuses à la surface.

Références bibliographiques

- [1].- Halitim A., 1988.- Les sols des régions arides d'Algérie. OPU, Alger, 384 p.
- [2].- Fedoroff N., Courty M., A., 1989.- Indicateurs pédologiques d'aridification: exemple du Sahara. Bulletin de la Société Géologique de France, 5: 43-53.
- [3].- Harita A., Benmansour A., Grira M. et Gallili T., 2005.- Impact des eaux d'irrigation sur l'origine des accumulations gypseuses dans les sols de l'oasis Metouia (Tunisie). Etude et gestion des sols, vol. 12: 43- 54.
- [4].- Watson A., 1985.- Structure, chemistry and origins of gypsum crusts in southern Tunisia and the central Namib Desert. Sedimentology, 32: 855-875.
- [5].- Chen X. Y., 1997.- Pedogenic gypcrete formation in arid central Australia. Geoderma, 77: 39-61.
- [6].- Bureau P., Roederer P., 1961.- Contribution à l'étude des sols gypseux de la partie sud du Golfe de Gabès. Bull. AS. fr. Et. Sol, (NS): 150-176.
- [7].- Hamdi-Aïssa B., Girard M. C., 2000.- Utilisation de la télédétection en régions sahariennes, pour l'analyse et l'extrapolation spatiale des pédopaysages. Sécheresse, 3: 179-188.
- [8].- Baize D., Jabiol B., 1995.- Guide de description des sols. AFES-INRA, Paris, 388 p.
- [9].- Aubert G., 1978.- Méthodes d'analyses des sols. C.R.D.P., Marseille, 191 p.
- [10].- Coutinet S., 1965. Méthodes d'analyses utilisables pour les sols salés, calcaires et gypseux. Agronomie Tropicale, 12: 1242-1253.
- [11].- Coque R., 1962.- La Tunisie présaharienne. Etude géomorphologique. Thèse de doctorat, Faculté des lettres, Paris, 488 p.
- [12].- Durand J. H., 1963.- Les croûtes calcaires et gypseuses en Algérie: formation et âge. Bull. Soc. Géol. Fr., 7: 959-968.
- [13].- Watson A., 1988.- Desert gypsum crusts as palaeoenvironmental indicators: A micropetrographic study of crusts from southern Tunisia and the central Namib Desert. Journal of Arid Environments, 15: 19-42.
- [14].- Pouget M., 1968.- Contribution à l'étude des croûtes et encroûtements gypseux de nappe dans le Sud tunisien. Cahier de l'ORSTOM, série Pédologie, 6: 309-365.
- [15].- Toomanian N., Jalalian A., Eghbal M. K., 2001.- Genesis of Gypsum Enriched Soils in Northwest Isfahan, Iran. Geoderma, 99: 199-224.

- [16].- Hashemi S. S., Baghernejad M., Khademi H., 2011.- Micromorphology of Gypsum Crystals in Southern Iranian Soils under Different Moisture Regimes. *Journal of Agriculture Science Technology*, 13: 273-288.
- [17].- Dutil P., 1971.- Contribution à l'étude des sols et des paléosols du Sahara. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg, 346 p.
- [18].- Gibert E., 1989.- Géochimie et paléohydrologie des bassins lacustres du Nord-Ouest saharien. Programme Palhydraf, site2. Thèse de doctorat, Université Paris XI, Orsay, 210 p.
- [19].- Hamdi-Aïssa B., 2001.- Le fonctionnement actuel et passé des sols du Nord Sahara (cuvette de Ouargla). Approche micromorphologique, géochimique et minéralogique et organisation spatiale. Thèse de doctorat, Institut National Agronomique, Paris Grignon, 307 p.
- [20].- Youcef F., 2006.- Indicateurs paléo-écologiques dans les sols des basins endoréiques (Sebkha et Daya) du Sahara septentrional. Exemple des Sebkhas de Ouargla et Mellala et de la Daya d'El- Amied. Mémoire de Magister, Université de Ouargla, 83 p.
- [21].- Soulié-Märsche I., 2008.- Charophytes, indicators for low salinity phases in North African sebkhet. *Journal of African Earth Sciences*, 51: 69-76.
- [22].- Youcef F., Hamdi-Aïssa B., 2014.- Paleoenvironmental reconstruction from palaeolake sediments in the area of Ouargla (Northern Sahara of Algeria), *Arid Land Research and Management*, 28: 129-146.
- [23].- Fedoroff N., Courty M. A. Paléosols. In: Miskovsky J. C., eds. *Géologie de la préhistoire*. Paris: Géopré, 1987: 251-280.
- [24].- Aref M. A. M., 2003.- Classification and depositional environments of Quaternary pedogenic gypsum crusts (gypcrete) from east of the Fayum Depression, Egypt. *Sedimentary Geology*, 155: 87-108.

ÉVALUATIONS TECHNOLOGIQUE, TECHNIQUE ET HYGIENIQUE DE LA TRAITE MECANIQUE DES VACHES EN POT DANS LA TUNISIE LITTORALE SEMI-ARIDE

M'SADAK Youssef *, MAKHLOUF Marwa, HAMED Ibtel
Institut Supérieur Agronomique de Chott Mariem- CP 4042, Université de Sousse, Tunisie
 E-mail : msadak.youssef@yahoo.fr

Résumé.- *L'objectif de ce travail consiste à évaluer les conditions technologiques, techniques et hygiéniques de la traite mécanique en pot en élevage bovin laitier hors sol en milieu semi-aride tunisien. L'étude est réalisée sur un échantillon de 30 petits et moyens élevages bovins laitiers hors sol, de même race (Frisonne Holstein). Le suivi a été basé sur une enquête portant sur les conditions générales d'élevage et à au moins deux visites de traite (chantier et équipement). Ce diagnostic a révélé que le déroulement de la traite et le fonctionnement des machines à traire, ont été non satisfaisants et loin d'être maîtrisés dans la majorité des cas. Par ailleurs, un nombre important d'éleveurs ne respectait pas les règles hygiéniques et techniques de la traite. Certaines défaillances de fonctionnement, surtout relatives aux paramètres de vide et de pulsation, sont aussi relevées.*

Mots clés : *Vache laitière; chantier de traite; machine à traire en pot; système de vide; système de pulsation.*

EVALUATION TECHNOLOGICAL, TECHNICAL AND HYGIENIC OF THE MILKING MECHANICS OF COWS IN POT IN THE TUNISIA COASTAL SEMI-ARID

Abstract.- *The objective of this work is to evaluate the technological, technical and hygienic conditions of the mechanical milking dairy cattle pot above ground semi -arid Tunisia. The study was conducted on a sample of 30 small farms and dairy cattle means aboveground same breed (Holstein Friesian). Follow-up was based on a survey of the general conditions of livestock and at least two visits trafficking (construction and equipment). The diagnosis revealed that the course of trafficking and the functioning of milking machines were unsatisfactory and far from being controlled in the majority of cases. In addition, a significant number of farmers did not meet sanitary and technical rules of trafficking. Some functional failure, especially relating to the parameters of vacuum and pulsation, were also identified.*

Key words: *Dairy Cow; practices milking; milking machine in pot; vacuum system; pulsation system.*

Introduction

La mammite a de multiples origines et est souvent de type subclinique, rendant contrôle et surveillance difficiles [1]. La traite et la machine à traire sont à l'origine de facteurs de risques importants et bien connus des infections mammaires des vaches laitières [2]. Le développement des techniques agricoles a permis aux éleveurs laitiers de disposer de machines à traire et d'appareils leur rendant des services considérables dans l'accomplissement des tâches. Cependant, l'éleveur doit rester attentif aux nouvelles techniques et être conscient des interactions qui existent entre machine à traire, technique de traite, respect de la vache, qualité de son organisation du travail et qualité du lait [3].

L'impact du fonctionnement de l'installation de traite et la technique de traite sur les résultats obtenus est souvent sous-estimé par les producteurs laitiers. Pour obtenir une production laitière hygiénique, il faut protéger le lait contre toute contamination extérieure au cours de la traite ainsi que dans les locaux où celle-ci s'effectue. Le respect des normes technologiques et techniques de fonctionnement de la machine à traire contribue au maintien des paramètres de traite satisfaisants: traite rapide, non traumatisante et dont le risque d'infection est limité. L'interprétation du rapport de diagnostic de fonctionnement (ou testage) de la machine à traire et les observations pouvant être réalisées durant la traite sont des aides à la résolution de problèmes complexes de mammites. Dans cette optique, cette étude se propose d'analyser les situations technologique, technique et hygiénique de la traite mécanique en pot des vaches menées en élevage hors sol dans la région de Sousse, relevant du Sahel Tunisien, zone semi-aride où la pluviométrie ne dépasse pas 350 mm/an.

1.- Matériel et méthodes

1.1- Choix des élevages

Trente (30) élevages bovins laitiers, inscrits au contrôle laitier, sont choisis. Ces élevages sont de petite et moyenne taille et de même race (Frisonne Holstein), englobant 296 vaches en lactation, réparties dans 4 zones de la région considérée. Ils font tous appel à la traite mécanique en pot: 28 éleveurs utilisent une machine à traire en pot sur chariot (installation mobile) et 2 éleveurs utilisent une machine à traire en pot posé à terre (installation fixe). Tous les troupeaux considérés sont conduits en système hors sol, caractérisé par des ressources fourragères limitées, à cause des ressources hydriques insuffisantes et généralement de mauvaise qualité.

1.2.- Examen de la préparation à la traite

Au niveau de la préparation de la vache à la traite, on peut distinguer les phases ci-après.

1.2.1.- Amouillage et premiers jets de lait

L'amouillage consiste à masser légèrement la mamelle et les trayons pour préparer la vache à la traite [4]. On peut déceler la présence d'une mammite en examinant physiquement le pis avec la main et en recueillant les premiers jets de lait dans une tasse-filtre, afin d'examiner le lait avant chaque traite [5]. Pour un bon nettoyage et une stimulation adéquate, il est recommandé de frotter les trayons pendant 15 à 20 secondes [6]. Certains auteurs ont évoqué cette étape après le nettoyage des trayons [4]. Cette phase a été appréciée juste avant la traite proprement dite de chaque vache considérée.

1.2.2.- Nettoyage des trayons et de la mamelle

Il existe aujourd'hui plusieurs techniques de nettoyage des trayons. Le choix se fera en fonction des problèmes rencontrés dans l'élevage, du coût, de l'état de propreté des vaches et du type de système de traite [7]. On peut pratiquer le nettoyage à sec pour simplifier le travail de préparation de la mamelle et gagner du temps, mais cette méthode n'est réservée que pour les troupeaux dont la situation sanitaire est maîtrisée (vaches propres, concentrations cellulaires et fréquence de mammites cliniques faibles), ou bien, le nettoyage humide où l'on essaye de mollir uniquement les trayons [8,9,10]. L'essuyage

doit toujours être effectué avec une lavette, lingette ou papier individuel pour prévenir la transmission de bactéries lors de la traite. Les différentes méthodes utilisées en nettoyage humide sont: les lavettes individuelles qui sont actuellement le choix optimal pour une meilleure hygiène [7], le pré-trempage ou pré-moussage puis essuyage avec du papier à usage unique, les lingettes pré-imprégnées dans l'alcool, mais cette méthode semble coûteuse et on ne sait pas le degré de leur efficacité, les douchettes conseillées surtout dans le cas des mamelles trop sales, mais il faut bien les essayer, la brosse mécanique surtout dans les salles de traite robotisées [11].

Il faut utiliser un chiffon distinct pour chaque vache et les chiffons doivent être lavés, désinfectés et séchés après chaque séance de traite. Laver les trayons sans les assécher convenablement laisse de nombreux microorganismes sur les trayons [12].

Le nettoyage des trayons et de la mamelle de chaque vache suivie a été également examiné.

1.3.- Évaluation des chantiers et équipements de traite

Le suivi des chantiers mécanisés de traite (hygiène, technique et équipement) est accompli au moins deux fois tant sur le plan hygiénique que sur le plan technique, selon un guide détaillé de diagnostic notamment qualitatif, en vue d'évaluer la situation tant des pratiques de traite (déroulement des opérations, ...) que des machines à traire, sur les plans conception, fonctionnement, nettoyage et entretien. Tous les examens réalisés ont fait appel surtout à des appréciations visuelles et à des relevés techniques des caractéristiques du matériel de traite adopté, tout en notant qualitativement son état de fonctionnement, de nettoyage et d'entretien. La conformité technologique a été également vérifiée, en se basant sur les normes de fonctionnement (AFNOR), rapportées par M'SADAK (2009) [13].

Le diagnostic technologique mis en œuvre a touché les aspects technologiques et techniques de 30 machines à traire en possession de 29 éleveurs. On a effectué un testage classique partiel de fonctionnement des machines à traire, en faisant appel à un appareillage de mesure approprié. Il s'agit d'un pulsographe, pour inspecter les paramètres de vide et de pulsation.

2.- Résultats et discussion

2.1.- Appréciations hygiénique et technique des pratiques de traite mécanique

2.1.1.- Hygiène de traite

L'une des premières conditions pour obtenir une production laitière hygiénique est de protéger le lait contre toute contamination extérieure au cours de la traite ainsi que dans les locaux où celle-ci s'effectue. On s'efforcera, par tous les moyens, d'éviter que les microorganismes ou des impuretés de toute nature ne s'introduisent dans le lait [14].

Parmi les éleveurs visités, 97% ont aménagé un lieu de traite. Cependant, certains font la traite dans le lieu de couchage ou dans l'étable. L'importance de réserver un lieu de traite en gardant les meilleures conditions d'hygiène possible est primordiale, afin de réduire la contamination des mamelles par les germes qui peuvent pénétrer lorsque les

sphincters sont ouverts [11]. On a apprécié l'hygiène des trayeurs particulièrement par la propreté de leurs mains et de leur habillement lors de la traite. Seulement 7% des trayeurs ont porté une tenue spécifique de traite, et la majorité (93%) n'ont eu recours au lavage des mains qu'avec l'eau seulement. Cette situation renseigne que l'état d'hygiène du trayeur était non admissible dans la plupart des cas.

2.1.2.- Environnement de traite

Il est essentiel de pouvoir compter sur une procédure adéquate et routinière pour amener les vaches à la traite. Les vaches apeurées ou énervées avant la traite pourraient ne pas avoir un réflexe normal d'éjection du lait en dépit d'une préparation efficace [9]. La nervosité, les maladresses et la mauvaise humeur du trayeur ont un impact négatif sur les animaux. La fréquence des contacts manuels entre le trayeur et l'animal est de nature à diminuer le stress des animaux et donc à faciliter leur entrée dans la salle de traite et l'éjection du lait [15,16]. Dans l'ensemble, on peut dire que l'environnement de traite rencontré est acceptable.

2.1.3.- Préparation à la traite

On entend généralement par préparation à la traite le massage de la glande mammaire et l'extraction des premiers jets de lait de chacun des trayons [17]. On remarque que la majorité des éleveurs ne prépare pas convenablement leurs vaches avant la traite. Le lavage n'est respecté que par certains trayeurs, car l'entretien et la désinfection des lavettes entre les traites sont les principales contraintes de cette opération [18]. La préparation de la mamelle, réalisée par 90% des éleveurs, se limite à un prélavage avec une lavette collective usagée pour tout le troupeau et rarement renouvelée. Cette pratique provoque les risques de contamination du lait et la transmission des germes pathogènes des quartiers éventuellement infectés vers les quartiers sains [19].

Il convient de distinguer quatre méthodes de nettoyage adoptées au niveau des élevages visités (fig. 1). Les pratiques de nettoyage des trayons les plus utilisées font appel à de l'eau seulement ou à une lavette collective mouillée d'eau.

Les conditions rencontrées sont relativement similaires à celles observées lors d'une étude accomplie par M'SADAK *et al.* (2011) [7]; ils ont aperçu que la quasi-totalité des éleveurs (93%) ont opté lors de la préparation de la mamelle pour un prélavage à l'aide de l'eau et une lavette collective utilisée pour toutes les vaches.

L'essuyage des trayons est une technique simple qui concerne la maîtrise des germes totaux et des cellules somatiques. L'essuyage ne peut être réalisé que sur des mamelles propres, indemnes de poussières et de résidus de paille [20]. Cette méthode est souvent considérée par les éleveurs comme une possibilité de simplification du travail de préparation de la mamelle avant la traite, alors qu'elle est importante comme étant la méthode la plus efficace pour prévenir la mammite, de stimuler l'éjection du lait et d'éviter le glissement des manchons-trayeurs [6]. Malgré l'importance de cette étape, l'essuyage des trayons est délaissé par 90% des éleveurs visités.

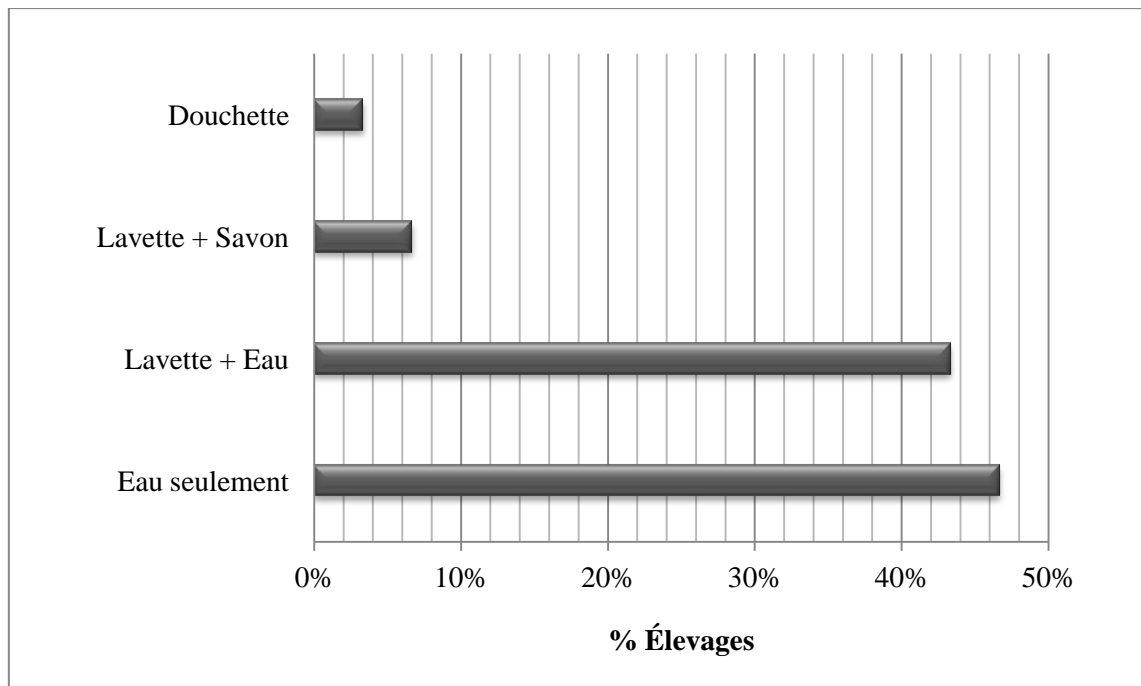


Figure 1.- Répartition des élevages selon la méthode de nettoyage des trayons

L'observation systématique des premiers jets est une mesure essentielle de contrôle de la santé de la mamelle. Elle permet de détecter précocement les anomalies visibles du lait. Il est recommandé de les récupérer dans un récipient ou un bol à fond noir, ce qui facilite l'observation et réduit les risques de contamination. L'élimination des premiers jets sur le sol sous la vache ou dans la main du trayeur (méthode à écarter) a pour incidence une diffusion non contrôlée des agents pathogènes d'un animal à l'autre. Malgré son impact sur la qualité du lait et son rôle détecteur des mammites cliniques, 63% des éleveurs ont négligé cette étape (fig. 2). Certains trayeurs (20%) ont réalisé cette élimination, mais directement sur le sol, d'autres (7%) ont éliminé les premiers jets dans un récipient simple (méthode tolérable), et pour le reste (10%), cette pratique n'était pas systématique.

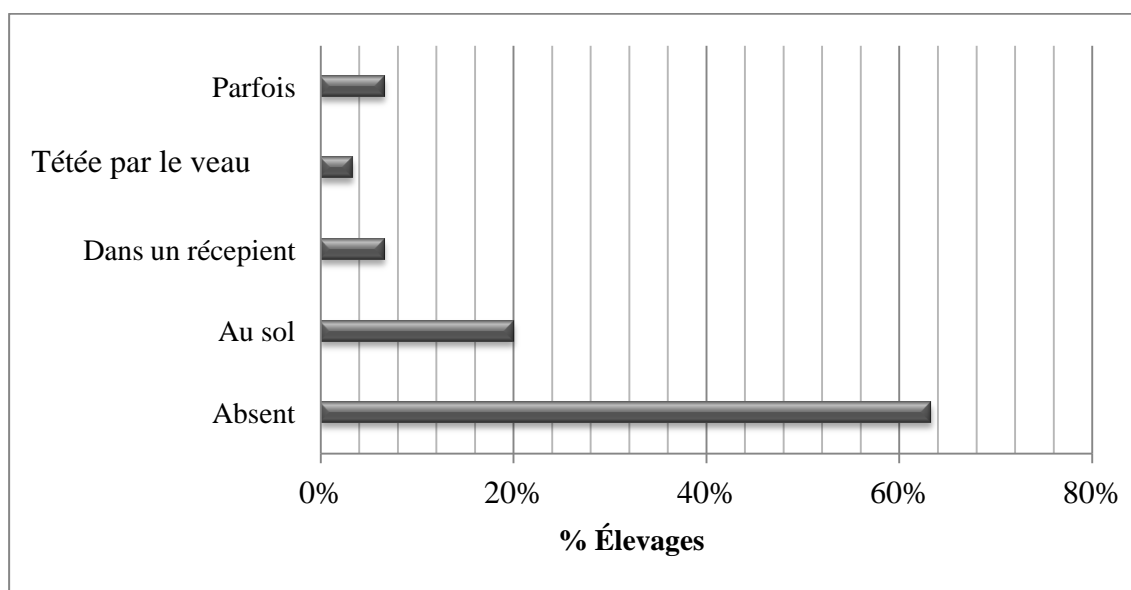


Figure 2.- Distribution des élevages selon la pratique d'élimination des premiers jets

2.1.4.- Désinfection des trayons après la traite

Désinfecter les trayons après la traite le plus rapidement possible après la dépose du faisceau- trayeur, désinfecter les trayons avec une solution de trempage approuvée. C'est la seule méthode réellement efficace pour éviter la contamination croisée et la transmission des microorganismes responsables des mammites contagieuses [8].

Malgré l'importance du trempage dans une solution antiseptique (méthode généralement adoptée), il est repéré que 80% des éleveurs ne pratiquent pas le trempage et seulement 13% qui le font systématiquement. Seulement deux éleveurs (7%) optent pour le trempage d'une façon sélective, s'il apparait des traumatismes ou lésions sur les trayons. Généralement, la désinfection devrait être régulière (effectuée à chaque traite), permanente (sur toute l'année), systématique (sur toutes les vaches) et complète (sur toute la longueur des trayons) [13].

2.1.5.- Conduite de la traite

Pendant la traite, on doit contrôler l'installation de traite en sélectionnant un niveau de traite et un système de pulsation adéquats à l'exploitation. La pose du faisceau-trayeur au bon moment dans les 60 à 90 secondes suivant la préparation des trayons est fortement préconisée, afin d'éviter les entrées d'air au moment de la pose du faisceau-trayeur. La majorité des éleveurs contrôlés (67%) opte pour la pose directe des gobelets-trayeurs (fig. 3). Optimiser la fin de traite en coupant l'arrivée du vide manuellement ou automatiquement et laisser descendre le niveau de vide complètement avant de retirer le faisceau-trayeur sont également des règles pratiques à respecter, cependant, seulement 13% des éleveurs respectent ces deux points, la moitié assure cette étape par arrachage et le reste coupe le vide et arrache l'unité de traite directement. Ne jamais presser la mamelle et tirer sur les faisceaux-trayeurs, car de l'air entrerait par l'embouchure des manchons-trayeurs, et conduirait à de nouveaux cas de mammites. Or, la majorité (53%) ignore ce point et son effet traumatisant, et pense que le grimpage nécessite une longue durée.

Pour apprécier la qualité de la conduite de la traite, on doit observer particulièrement l'hygiène, la rapidité, la tranquillité et l'égouttage. On dit qu'une:

- Traite est hygiénique, lorsque le trayeur révère l'ordre de traite ainsi que la propreté du lieu de traite, de la tenue de traite et du matériel de traite.
- Traite est rapide, quand le temps de traite ne dépasse pas 6 mn par vache et 1h 30 mn par troupeau.
- Traite est calme, lorsque la traite est opérée sans coups, ni bruits et ni chocs électriques.
- Traite est complète, quand l'égouttage de la mamelle est exécuté sans dépasser les 30 s pour éviter le phénomène de surtraite.
- Surtraite est un phénomène résultant d'un défaut de vigilance de la part de l'éleveur ou d'une traite plus aisée d'un quartier par rapport aux autres qui sera donc vidé auparavant. Ceci augmente le risque de lésions des trayons et le reflux de lait dans la mamelle [16].

Il y a lieu de constater, après évaluation de ces paramètres (fig. 3), que la majorité des éleveurs a respecté surtout la tranquillité de traite (calme) et la durée optimale de traite (rapidité). Dans la plupart des cas (87%), la traite est complète (avec la pratique de l'égouttage), néanmoins, une minorité (23 %) a opté pour la surtraite sans tenir compte de son effet néfaste sur la santé mammaire. Par ailleurs, un point négatif que l'on doit

signaler, c'est seulement 23% des éleveurs qui ont adopté les conditions minimales de traite hygiénique. Le nettoyage des mamelles, des mains du trayeur et du lieu de traite n'a pas été effectué convenablement dans la quasi-totalité des élevages (77%).

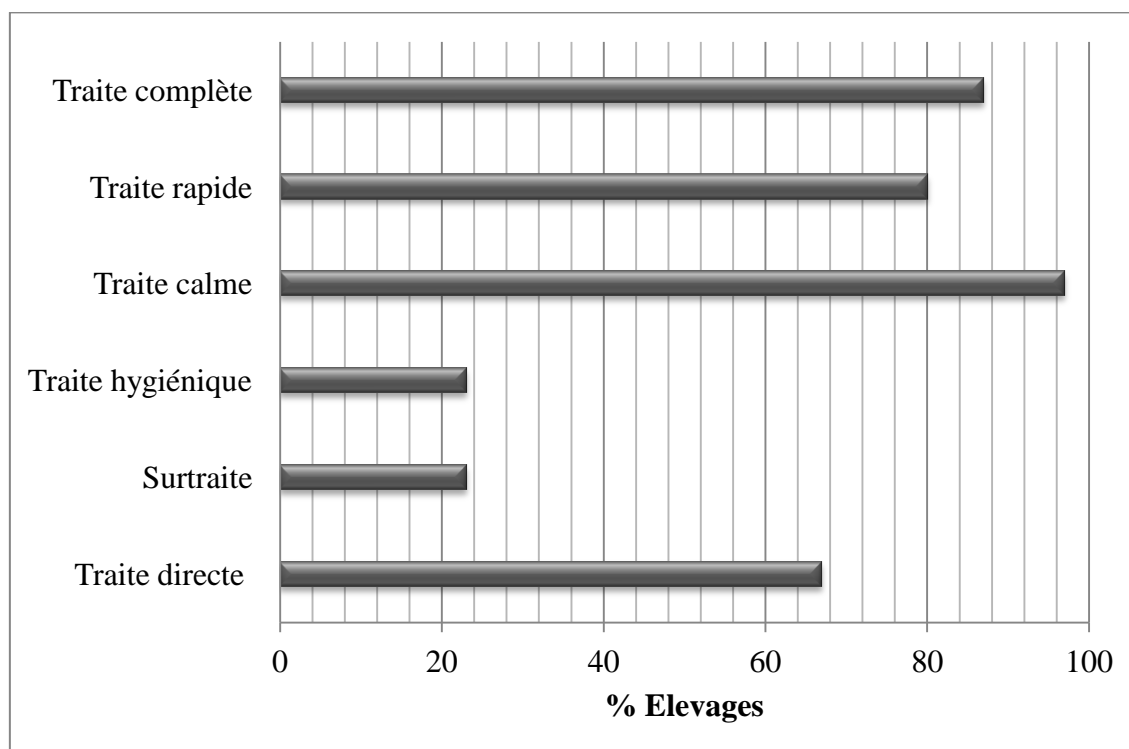


Figure 3.- Caractéristiques de la traite dans les élevages enquêtés

2.2.- Diagnostics technique et technologique des équipements de traite

2.2.1.- Identification et caractéristiques générales du matériel considéré

Dans les 30 exploitations enquêtées, on a repéré 31 machines à traire, mais, on a pu dégager que les marques de 30 machines, dont 30% sont de marque TECNOSAC et 26% sont de marque LUKAS (tab. I) qui sont respectivement d'origines Italienne et Turque.

Tableau I.- Répartition des machines à traire selon leur marque et leur origine
(* La plus répandue dans la région)

Marques	Origine	Nombre	Pourcentage
TECNOSAC*	Italie	9	30
LUKAS	Turquie	8	26
MILKANA	Italie	2	7
YILDIZ	Turquie	2	7
DELAVAL	Suède	3	10
KARAL	Turquie	1	3
SEZER	Turquie	1	3
AUTRES	—	4	14
Total	—	30	100

64% des machines contrôlées sont récemment achetées, alors que 36% sont anciennes, dont une machine âgée de plus de 20 ans, dévoilant ainsi un usage important

tendant vers le vieillissement, incitant au renouvellement de certains équipements jugés impropres à la traite.

La quasi-totalité des éleveurs utilise des machines à traire sur chariot mobile, seulement deux éleveurs utilisent des installations avec pot posé à terre. Le tableau II montre que la majorité des machines à traire adoptées sont du type 1FT+1PT (un Faisceau-Trayeur, un Pot-Trayeur).

Il convient aussi de noter à ce niveau, que les volumes des pots-trayeurs les plus utilisés par les éleveurs sont en premier lieu de 25l (45%), suivis par les pots de volume 40l (39%), et enfin, vient le volume de 30l (16%).

2.2.2.- Descriptif technique de divers composants de la machine à traire

Pompe à vide

Les données relatives à la puissance minimale nécessaire au fonctionnement correct de la pompe à vide, relevée sur la plaque signalétique lisible de 27 machines à traire mobiles ont montré qu'il y a 2 machines qui ne répondent pas à la norme de puissance minimale exigée ($P \text{ en ch} = 0,5 + 0,25 \times n$ avec $n =$ nombre de faisceaux-trayeurs, selon AFNOR, cité par M'SADAK (2009) [13]) dans le cas (2FT + 1PT) et (2FT + 2PT). On remarque aussi que la plupart des éleveurs optent le système (1FT + 1PT), soit 81%.

Sur les 31 machines à traire contrôlées, on a relevé que la majorité (27) des pompes à vide sont à palettes sèches, les quatre restantes sont à palettes lubrifiées (dont 2 sur installations fixes et 2 sur installations mobiles).

En se basant sur la norme de débit minimal Q exigé de la pompe à vide à 50 kPa, on peut déduire que toutes les machines examinées sont conformes de point de vue capacité de la pompe à vide: $Q = 50 + 60 \times n$ (l/mn) avec $n =$ nombre de faisceaux-trayeurs (AFNOR, cité par M'SADAK (2009) [13]). Il est constaté que toutes les pompes à vide installées (ayant une plaque d'immatriculation lisible) répondent à la norme minimale (110 l/mn) et présentent le débit minimal à 50kPa, susceptible de faire fonctionner le système (2 Faisceaux et 1 Pot-trayeur) et suffisant même pour le système (2 Faisceaux et 2 Pots-trayeurs).

Régulateur de vide

Sur les 27 régulateurs de vide contrôlés visuellement, on a trouvé que le régulateur à ressort en matériau plastique est le plus adopté (67%) des régulateurs de vide installés. On a trouvé les régulateurs à ressort en matériau laiton (26%) et seulement deux installations renferment des régulateurs de vide à membrane. Il est remarqué que les régulateurs à ressort présentent 93% du total des régulateurs de vide rencontrés, puisque ce système convient plus pour les chariots-trayeurs, mais reste imprécis par rapport à d'autres régulateurs (à poids, ...). En outre, le régulateur à ressort en laiton présente une durée de vie plus importante que celle du régulateur à ressort en plastique, toutefois, son prix d'achat est plus élevé lors de son remplacement [13].

Griffe à lait

Les différentes marques des griffes à lait rencontrées sur 28 machines à traire contrôlées présentent des volumes supérieurs à l'ancienne norme minimale qui est de 80 ml. 27% des éleveurs possèdent des machines à traire dont la griffe à lait dispose d'un orifice d'admission d'air. Ce dernier facilite la circulation de l'air avec des chutes de vide faibles, tout en assurant une meilleure évacuation du lait. Malgré son rôle important, il est aperçu que 73% des griffes sont dépourvus de cet orifice d'entrée d'air. On peut dire que la plupart des éleveurs sont inconscients de l'impact de l'absence de cet orifice sur la traite mécanique des vaches.

Pulsateur

Les 30 machines à traire considérées sont équipées toutes d'un pulsateur pneumatique qui est caractérisé par sa sensibilité aux conditions atmosphériques. Ceci entraîne un fonctionnement irrégulier et des réglages fréquents. Par ailleurs, le contrôle visuel des pulsateurs a permis de relever les différentes marques de pulsateurs rencontrées dont la majorité est anonyme, d'origine Chinoise. Il est à noter que les pulsateurs installés ne sont pas des pièces d'origine dans la plupart des cas, soit à l'achat, soit après renouvellement.

2.2.3.- Nettoyage des machines à traire

Le nettoyage des installations de traite est un processus complexe qui met en œuvre des réactions chimiques, biochimiques et physiques. Les techniques de nettoyage au cours des travaux de laiterie comprennent: un premier rinçage à l'eau froide ou tiède, l'élimination du reste des souillures par dissolution, émulsification, saponification ou action mécanique ou par association de ces divers procédés, la dispersion des souillures non dissoutes, l'évacuation de la solution détergente utilisée et des souillures dissoutes ou en suspension et le rinçage final destiné à éliminer les dernières traces de détergent [21].

L'examen visuel des machines à traire a montré que 57% seulement des éleveurs ont eu recours au rinçage de la machine avec de l'eau avant chaque traite. Après la traite, uniquement 57% des éleveurs voient l'importance du pré-rinçage de la machine avec l'eau avant l'utilisation des solutions de nettoyage. Tous les éleveurs n'usent pas l'alternance des détergents alcalins et acides dans l'opération de nettoyage. La quasi-totalité (77%) utilise un mélange d'eau avec un produit détergent en association d'une solution chlorée (Javel). Il ya lieu de constater qu'un seul éleveur se contente d'un lavage sans post-rinçage avec l'eau tout en se limitant à un pré-rinçage avant la traite suivante. Concernant la qualité d'eau employée pour le nettoyage des machines, tous les éleveurs adoptent de l'eau propre qui est utilisée également pour l'abreuvement des vaches. Presque la moitié des éleveurs (47%) emploie de l'eau propre et douce pour une meilleure efficacité des produits de nettoyage, une meilleure longévité des équipements de traite et une meilleure résistance contre les dégradations [22]. Toutefois, en raison de la dureté observée de l'eau (chargée en calcaire), il faut opter vers l'emploi de la dose maximale de détergent, ce qui est pleinement non adopté.

Il est de même remarque qu'il n'y a aucun éleveur qui pratique le nettoyage convenablement. La majorité ne respecte ni la température, ni le temps de circulation, ni la

dose de la solution de lavage. Une telle situation peut être le facteur majeur de la contamination du lait et de la perte de sa qualité [23]. Le seul facteur de nettoyage relativement respecté (parmi les quatre facteurs essentiels de réussite) est l'action mécanique avec 60% des cas.

2.2.4.- État général des machines à traire

Il est trouvé que seulement 17% des manchons-trayeurs sont en bon état. Concernant les joints et les tuyauteries, dans l'ensemble leurs états sont plus ou moins acceptables. Les éleveurs négligent le remplacement à temps des pièces caoutchoutées défectueuses et font appel à des réparations de dépannage provisoire avec du fil de fer ou de la ficelle, au lieu de remplacer les tuyauteries défectueuses par des pièces de rechange. Généralement, cette situation alarmante provient du prétexte des moyens financiers limités des éleveurs (investissement orienté plus vers le poste alimentation des vaches laitières). Ce prétexte n'est pas tout à fait convaincant en raison des suites néfastes sur la santé des mamelles et la qualité du lait [24].

2.2.5.- Diagnostic partiel de fonctionnement des machines à traire

Le diagnostic technologique mis en œuvre a touché les aspects technologiques et techniques de 31 machines à traire rencontrées. Il est effectué un testage classique partiel de fonctionnement des machines à traire, en faisant appel à un appareillage de mesure approprié. Il s'agit d'un testeur de pulsateur pour vérifier les paramètres de vide et de pulsation [24]. Niveau de vide et pulsation sont ainsi deux éléments fondamentaux pour le réglage des machines à traire.

Vide de traite

Sur les 35 cas testés, on constate que la situation est plus grave que celle trouvée par CAPON (2010) [25] (conformité de niveau de vide 9%). En effet, 29% des cas sont inférieurs à la norme atteignant une valeur minimale de 18,6 kPa et 63% dépassent la norme aboutissant à une valeur maximale de 69 kPa. Il convient de noter, à ce niveau, que la majorité des éleveurs possèdent des machines à traire avec des niveaux de vide dépassant le seuil conseillé (42-45 kPa), tout en pensant que l'augmentation du niveau de vide va accroître la vitesse de traite. Or, un niveau de vide trop élevé entraîne un effet néfaste pour la santé mammaire des vaches [26]. De même un vide de traite faible augmente la durée de traite et peut être à l'origine d'une mauvaise traite ou traite traumatisante [16].

Fréquence de pulsation

Pour que la traite se déroule dans de bonnes conditions, il importe de ne pas annuler les effets positifs du cycle de pulsation, notamment par l'utilisation de matériel inapproprié (manchon mal monté ou inadapté au gobelet, manchon trop rigide ou trop souple, diamètre de l'embouchure du manchon trop grand, lèvres de manchon trop dures, ...) ou par la perturbation de la routine de traite et de l'environnement [27].

La fréquence de pulsation (c'est-à-dire le nombre de contractions et de relâchements du manchon-trayeur) est comprise selon les machines à traire entre 55 et 60 puls/mn [25, 28]. Or, uniquement 9% des 35 pulsateurs testés présentent une fréquence de

pulsation conforme à la norme, ce qui est loin d'être acceptable. Si l'on compare ce résultat au celui de l'étude réalisée par M'SADAK *et al* (2010) dans la région de Mahdia [25], où ils ont trouvé que seulement 18% des machines ayant des fréquences de pulsation conformes à la norme, la situation étudiée dans la région de Sousse est plus critique. En plus, il est remarqué que la quasi-totalité des fréquences de pulsation relevées dépasse la norme accédant à un maximum de 428 puls./mn. Cette fréquence élevée provoque un effet néfaste sur l'état sanitaire de la mamelle, et par la suite, il y a risque de mammites, ce que l'on appelle mammites de traite [29]. Cette valeur est préoccupante, puisqu'on connaît qu'une fréquence trop élevée entraîne une fatigue du muscle du sphincter et des lésions de la muqueuse. Par la suite, le sphincter risque de rester relâché longtemps après la traite, ce qui augmente le risque d'infection. Par ailleurs, une fréquence de pulsation trop élevée ne permet pas un bon remplissage du trayon [30].

Rapport de pulsation

Ce rapport est de l'ordre de 60 à 65%, c'est-à-dire 60/40 à 65/35. Un rapport supérieur ou égal à 70/30 peut créer des lésions des trayons car la durée du massage est insuffisante [31]. Un rapport trop haut (plus de 66%) pourra avoir des effets négatifs tant sur la mamelle que sur la qualité du lait collecté [32].

Cependant, il est trouvé que seulement 21% des rapports de pulsation mesurés, sont hors normes contre 68% des fréquences de pulsation relevées largement inadaptées.

Rapport de décalage

Sur seulement 19 pulsateurs testés, il est relevé ce paramètre à l'aide du testeur de pulsateur montrant que 79 % des cas ont un rapport de décalage inférieur à 5%. De même, un tel paramètre s'est révélé relativement convenable par rapport aux normes (tab. II).

Tableau II.- Paramètres de vide et de pulsation relevés sur les machines à traire testées

Paramètres mesurées	Niveau de vide (kPa)	Fréquence de pulsation (puls./mn)	Rapport de pulsation (%)	Décalage (%)
Norme	42-45	55-60	55-65	< 5
Conformité (%)	8	9	79	79
< Norme (%)	29	23	16	–
> Norme (%)	63	68	5	–
Minimum	18,6	31,2	49,0	0
Maximum	69,0	428,0	69,0	15,0

2.2.6.- Récapitulatif de la situation anormale de l'état des machines à traire

Il est constaté d'après les résultats de mesure des paramètres de fonctionnement que la quasi-totalité des machines à traire testées est loin de se conformer aux normes surtout de point de vue niveau de vide et fréquence de pulsation. Les valeurs extrêmes relevées de vide et de pulsation incitent à la formation urgente des intervenants spécialistes en matière de testage et à la mise à leur disposition de l'appareillage nécessaire pour réussir une telle opération, devenue de plus en plus impérative, pour maîtriser les conditions mécanisées de traite des vaches et améliorer ainsi la situation sanitaire mammaire.

Conclusion

Il résulte de cette étude, réalisée sur des petits et moyens élevages bovins laitiers hors sol dans la région Sousse (Sahel tunisien), que la quasi-totalité des éleveurs pratique la traite mécanique en pot (installation mobile) en utilisant des machines à traire diversifiées de point de vue marque (essentiellement TECNOSAC et LUKAS) et origine (principalement Italie et Turquie). Les diagnostics hygiénique et technique des conditions mécanisées de traite des vaches montrent que les conditions d'hygiène de la traite sont loin d'être respectées dans la moitié des élevages. En contre partie, on peut dire que dans l'ensemble, une conduite convenable de la traite est adoptée par la plupart des trayeurs notamment de point de vue tranquillité, rapidité et égouttage des trayons. Les diagnostics technologique et technique du matériel de traite, ont révélé que 93% des machines à traire sont conformes à la norme de puissance minimale exigée et seulement 17% des manchons-trayeurs sont en bon état. Concernant le testage partiel des machines à traire, on a enregistré qu'uniquement 8% des machines présentent un vide de traite conforme à la norme et 9% présentent une fréquence de pulsation respectant la physiologie de traite des vaches. Cependant le rapport de pulsation et le décalage sont conformes sur la plupart des machines (79%). Tous ces facteurs peuvent affecter négativement la santé mammaire et la qualité du lait.

Dans l'ensemble, on peut dire que malgré l'effort consacré par l'Office d'Élevage et des Pâturages pour l'encadrement des éleveurs laitiers et la Recherche Scientifique Agricole à ce niveau, on constate que la maîtrise de l'état de fonctionnement des machines à traire pour vaches n'est adéquate que chez une minorité d'éleveurs. Une telle situation inquiétante mérite une intervention urgente d'assistance technique auprès des éleveurs, afin d'améliorer les conditions mécanisées de traite des vaches, et par conséquent, minimiser les infections mammaires en élevage bovin mené en hors sol (contexte semi-aride).

Références bibliographiques

- [1].- Delfosse C., Froidmont E., Curnel Y., Humblet M. F., Hanzen C., Bertozzi C., Bartiaux-Thill N., 2006.- Etude écopathologique des facteurs de risque des mammites dans les élevages laitiers en Wallonie. Actes Renc. Rech. Ruminants, n°13, Pp. 440. http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/2006_13_sante_06_Delfosse.pdf
- [2].- Billon P., Sauvé O., Menard J. L., Gaudin V., 1998.- Influence de la traite et de la machine à traire sur les numérations cellulaires et les infections mammaires chez la vache laitière. Actes Renc. Rech. Ruminants, n°5: 305-312. http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/1998_11_traite_01_billon.pdf
- [3].- Jadoul T., 2005.- Traire un lait de qualité : Une attention de tous les jours. Problèmes rencontrés par les producteurs: Causes et solutions. Comité du lait, Service Assistance Technique. Herve, Belgique, 10p. <http://www.therioruminant.ulg.ac.be/diffusion/Jadoul-HENRI-CHAPELLE051129.pdf>
- [4].- Producteurs Suisses de Lait, sd. La traite, Fiche technique, 2 p.
- [5].- Ewy A., 2003a.- Préparation à la traite chez la vache laitière: Comparaison des différentes méthodes de nettoyage des trayons. Service Sanitaire Bovin (SSB), Revue

- UFA 5/03, Suisse, 4 p.
www.rgd.ch/portals/0/files/publikationen/melkvorbereitung_f_0510.pdf
- [6].- Lévesque P., 2003.- La méthode de traite passée en revue: Le nettoyage des trayons-1re partie. *Le Producteur du Lait Québécois*: 28-29.
www.medvet.umontreal.ca/rcrmb/.../PDF_FR/Methodes/Nettoyage1.pdf
- [7].- M'Sadak Y., Mighri L., Kraiem K., 2011.- Etude de la situation sanitaire mammaire à partir des taux cellulaires de troupeau et estimation des pertes laitières engendrées chez des ateliers bovins hors sol en Tunisie. *Revue Nature et Technologie*, n° 04: 8-14. www.univ-chlef.dz/RevueNatec/art_04_01.pdf.
- [8].- Mtaallah B., Oubey Z., Hammami H., 2002.- Estimation des pertes de production en lait et des facteurs de risque des mammites subcliniques à partir des numérations cellulaires de lait de tank en élevage bovin laitier. *Rev. Méd. Vét.*, 153 (4) : 251-260.
www.revmedvet.com/2002/RMV153_251_260.pdf
- [9].- Ewy A., 2003b.- Soins apportés à la vache laitière après la traite: Mesures nécessaires à la bonne santé de la mamelle. Service Sanitaire Bovin (SSB) et Novartis Santé Animale SA, Production Animale, *Revue UFA 7-8/03*, Suisse, 4 p.
www.rgd.ch/portals/0/files/.../melknachbereitung_f_0510.pdf
- [10].- Lévesque P., 2007.- Détection de la mammite: Aucun test ne peut répondre à toutes vos questions. *Revue Le Producteur du Lait Québécois*: 31-33.
- [11].- Thomelin R., 2009.- Mammites-Cellules: Tous les conseils pour lutter efficacement. GIE Élevage des Pays de la Loire, 57p. www.charte-elevage.fr/.../Mammites_Cellules_-_Tous_les_conseils_pour...
- [12].- Linder, sd. Préparation de la traite de la vache laitière étude comparative des moyens proposés pour le nettoyage des trayons, Communiqué de Presse, 5p.
www.agrodirect.fr/.../Laine%20de%20bois_agroclean_AGRODIRECT.p
- [13].- M'Sadak Y., 2009.- Technologie de la Traite des Petits Troupeaux Bovins Laitiers, Document d'Appui, Session de Formation (Contrôleurs et Réparateurs des Machines à Traire). Centrale Laitière Mahdia, Tunisie., 75 p.
- [14].- Bouichou H., 2009.- Contribution à l'évaluation des pratiques frauduleuses dans le lait à la réception. *Recherche Agronomique*, INRA, Casablanca.
http://www.memoireonline.com/03/12/5537/m_Contribution--l-evaluation-des-pratiques-frauduleuses-dans-le-lait--la-reception8.html
- [15].- Rushen J., Anne-Marie B., 1997.- Vos vaches: Leurs peurs et votre portefeuille. Symposium sur les bovins laitiers, CPAQ: 70-75.
www.agrireseau.qc.ca/bovinslaitiers/Documents/bov44.pdf
- [16].- Mezine M., 2006.- Analyse descriptive des facteurs de risque liés aux mammites dans des élevages d'une clientèle des Ardennes appliquant la démarche GTV Partenaire. Thèse Vétérinaire ALFORT., 146 p. URL: www.theses.vetalfort.fr/telecharger.php?id=119.

- [17].- Labussière J., Richard Ph., Lévesque P., 1965.- La traite mécanique : Aspects anatomiques, physiologiques et technologiques. Laboratoire de Physiologie de la Lactation Centre National de Recherches Zootechniques, Jouy-en-Josas (Seine-et-Oise), Ann., Zootech., 14 (I): 63-126.
- [18].- Menard J. L., Gaudin V., Billon P., 1988.- Hygiène des trayons avant la traite: temps de préparation et coûts selon différentes techniques recommandées. Actes Renc. Rech. Ruminants, n° 5, 340p.
http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/1998_11_traite_08_menard.pdf
- [19].- Noireterre Ph., 2006.- Suivi de comptages cellulaires et d'examens bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière. Thèse Vétérinaire, Lyon, 98 p.
www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2006lyon099...
- [20].- Guides France Agricole., 2009.- Traite des vaches laitières, 1^{re} édition. Institut de l'élevage.
http://www.unitheque.com/Livre/editions_france_agricole/Guides/Traite_des_vaches_laitieres-32416.html.
- [21].- Clegg L. F. L., Cousins C.M., 1959.- Cleaning and Sanitizing Farm Dairy Utensils. University of Alberta. Extension Department, Alberta. Dairy Branch, Alberta Dairymen's Association, Canada., 195-220.
[http://whqlibdoc.who.int/monograph/WHO_MONO_48_\(p195\).pdf](http://whqlibdoc.who.int/monograph/WHO_MONO_48_(p195).pdf)
- [22].- Hale S. A., Capuco A.V., Erdman R. A., 2003.- Milk yield and mammary growth effects due to increased milking frequency during early lactation. J. Dairy Sci., 86: 2061-2071. <http://www.researchgate.net/publication/10681745>
- [23].- Lévesque P., 2004.- Symposium sur les bovins laitiers: Comment les bâtiments et l'équipement influencent-ils la qualité du lait?, Conférence Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec (CRAAQ), 18 p.
http://www.agrireseau.qc.ca/bovinslaitiers/documents/Levesque_Pierre.pdf
- [24].- M'Sadak Y., Hamed I., Krichi A., Kraiem K., 2013.- Analyse des conditions de traite en élevage bovin hors sol dans le berceau laitier de Mahdia (Tunisie). Revue des Bioressources, vol. 3 (2): 8-19. <http://revues.univ-ouargla.dz/index.php/volume3-numero-2-2013>
- [25].- M'Sadak Y., Mighri L., Kraiem K., 2010.- Évaluation des conditions de traite en élevage bovin dans la région de Mahdia (Tunisie). Actes Renc. Rech. Ruminants, n°17, 275p. www.journees3r.fr/IMG/pdf/2010_09_02_Msadak.pdf
- [26].- Capon S., 2010.- Contribution à l'étude des lésions du trayon chez la vache laitière, Thèse Vétérinaire Lyon., 124 p.
http://www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2010lyon081.pdf
- [27].- Bruckmaier R., Wellnitz O., 2008.- Induction of milk ejection and milk removal in different production systems. J. Anim. Sci., 86: 15-20.
- [28].- Enault C., 2008.- La machine à traire : Recherches et innovations depuis les années 1980 en vue d'améliorer la qualité du lait et la santé de la mamelle chez les vaches

laitières. Thèse Vétérinaire, Lyon, 228 p. theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=869

- [29].- Billon P., Gaudin V., 2008.- Quels réglages pour quelle machine à traire? Institut de l'Elevage et Chambre d'Agriculture de Loire Atlantique, 7 p.
idele.fr/?eID=cmis_download&oID=workspace://SpacesStore/...
- [30].- Hanzen C., Pluvinage P., 2008.- Pathologie infectieuse de la glande mammaire: Facteurs d'élevage. Université de Liège, Belgique, R24, 30 p.
- [31].- Mein G. A., 1992. Action of the cluster during milking. In: Bramley A.J., Dodd F.H., Mein G. A., Bramley J. A. (Eds). Machine milking and lactation. Insight Books, Berkshire, U.K.: 97-140.
- [32].- Cauty I., Perreau J. M., 2009.- Conduite du troupeau bovin laitier: Production, qualité, rentabilité. 2^{ème} édition de France Agricole., 331 p.
<http://www.lavoisier.fr/livre/notice.asp?ouvrage=2196402>

INFLUENCE DE QUELQUES SOUCHES BACTERIENNES D'ORIGINE SAHARIENNE SUR L'EXPRESSION DE LA FUSARIOSE DU LIN ET DU PALMIER DATTIER

LAMARI Lynda¹, BOURAS Nouredine¹, BOUDJELLA Hadjira¹, OULD EL HADJ-KHELIL Aminata², OULD EL HADJ Mohamed Didi² et SABAOU Nasseridine^{1*}

⁽¹⁾Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM),

Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie

⁽²⁾Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides,

Université de Ouargla, 30000 Ouargla, Algérie. E-mail: sabaou@yahoo.fr

Résumé.- L'aptitude à limiter la fusariose du palmier dattier et du lin (pris comme modèle d'étude) par des souches bactériennes a été entreprise. Ces souches proviennent des racines de deux cultivars de palmier dattier, l'un sensible (Aghamu sain ou malade) et l'autre résistant (Takerbucht) à la fusariose. Nous avons constaté que la protection du lin ou du palmier dattier contre la maladie est liée beaucoup plus à la capacité de colonisation des racines qu'à un phénomène d'antibiose. De même, ce sont surtout les souches dominantes dans l'endorhizosphère du cultivar résistant Takerbucht qui se sont montrées les plus performantes. Ces résultats nous orientent sur les stratégies à entreprendre à l'avenir pour sélectionner les meilleures souches protectrices des plantes contre divers agents phytopathogènes.

Mots clés: Bactéries, *Fusarium oxysporum*, Palmier dattier, Lin, Fusariose.

Influence of some bacterial STRAINS OF SAHARAN originE on the expression of *Fusarium* WILT OF flax and date palm

Abstract.- The ability to limit the *Fusarium* wilt in date palm and flax (taken as a model) by bacterial strains was undertaken. These strains were isolated from the roots of two date palm cultivars, one sensitive (Aghamu healthy or sick) and other resistant (Takerbucht) to *Fusarium* wilt. We found that the protection of flax or date palm against the disease is much more related to the ability to colonize roots than the phenomenon of antibiosis. Similarly, it is mostly the dominant strains in the endorhizosphere of the resistant cultivar Takerbucht that have been most effective. These results guide us on the strategies to be undertaken in the future to select the best strains to protect plants against various pathogens.

Key words: Bacteria, *Fusarium oxysporum*, Date palm, Flax, Fusariosis.

Introduction

Les fusarioses des plantes cultivées demeurent des maladies difficiles à combattre. Les études effectuées jusqu'à présent sur la fusariose vasculaire du palmier dattier (Bayoud) n'ont pas abouti à un traitement efficace contre cette grave maladie. Néanmoins, les cultivars résistants constituent des moyens de lutte efficaces contre certaines formes spéciales de *Fusarium oxysporum* [1,2]. Les *Fusarium oxysporum* sont des champignons pathogènes qui mènent, tout comme les saprophytes, une vie active dans le sol avant de pénétrer à l'intérieur de la plante hôte par les racines. La gravité des maladies qu'ils occasionnent est fonction d'interactions qui s'exercent non seulement au niveau de la rhizosphère mais aussi dans le sol [2]. Le parasite *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*,

aurait dans le sol le même statut écologique qu'un saprophyte. Il est donc soumis, comme les autres germes telluriques, à un ensemble d'interactions microbiennes qui déterminent sa prolifération ou, au contraire, sa raréfaction [3]. De ce fait, pour entreprendre une lutte biologique contre les maladies des plantes, le choix des microorganismes antagonistes de l'agent pathogène est un critère très important. Les antagonistes doivent être efficaces *in situ* en présentant une aptitude importante à la compétition ou encore à l'antibiose [4]. Ils doivent en outre persister dans les sols et être capables de coloniser rapidement les racines des plantes [3,5].

Dans ce contexte, et dans le cadre de la lutte contre la fusariose du palmier dattier, nous avons testé l'aptitude de quelques souches bactériennes à limiter la fusariose du lin, pris comme modèle d'étude. Par la suite, deux souches, les plus performantes contre la fusariose du lin, ont été sélectionnées pour réaliser des essais sur les plantules de palmier dattier.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Isolement des souches bactériennes

Les souches bactériennes à tester pour leur aptitude à réduire la fusariose du lin, pris comme modèle d'étude, proviennent des sols rhizosphériques et de l'intérieur des racines jeunes ou des pneumatodes des cultivars résistant (Takerbucht) ou sensible (Agham sain ou malade). Elles sont isolées à partir des sols par la méthode des suspensions-dilutions [6] sur gélose nutritive additionnée d'un composé antifongique, l'actidione (50 mg/l). A partir des pneumatodes et de l'intérieur des racines jeunes, les souches sont isolées selon la méthode décrite par LAMARI et SABAOU (1993) [7].

1.2.- Les souches de *Fusarium*

Les souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (F.o.a. 66b) et *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* (F.o.ln 3-5) proviennent respectivement de la collection de notre laboratoire et de celle de l'INRA de Dijon. Elles sont résistantes au bénomyl ($C_{14}H_{18}N_4O_3$) et sont agressives vis-à-vis du palmier dattier et du lin, respectivement. Elles sont conservées sur milieu PDA à 4°C.

1.3.- Le sol

L'aptitude des souches bactériennes à limiter la fusariose du lin et du palmier dattier a été évaluée en utilisant un échantillon de sol prélevé durant le mois de mai dans une parcelle de la palmeraie de Bouda (Adrar), où plusieurs plants de palmier dattier sont atteints par la fusariose. Le sol est bien séché, puis réparti en lots de 500 g avant d'être inoculé par la souche bactérienne puis par l'agent pathogène.

Le sol présente les caractéristiques pédologiques suivantes. Sa texture est homogène et sableuse (plus de 70% de sable). La conductivité électrique à 20% est de 1,02 ms. cm^{-1} (donc sol non salé) et le calcaire total est de 5,68%. Son pH est légèrement basique (8,6) et sa teneur en matière organique est de 4,22%. Le nombre de microorganismes par gramme de sol sec est le suivant: $6,3 \times 10^6$ pour les bactéries, $5,1 \times 10^5$ pour les actinomycètes et $1,7 \times 10^3$ pour les champignons.

1.4.- Les graines de lin et les plantules de palmier dattier

1.4.1.- Le lin

Une variété de lin très sensible à la fusariose (variété "Héra") a été utilisée. Les graines proviennent de l'INRA de Dijon (France).

1.4.2.- Les plantules de palmier dattier

Les plantules utilisées proviennent de la germination des graines issues d'un même régime (femelle de Deglet Nour × mâle indéterminé) récoltées dans une palmeraie de la localité de Touggourt situé dans la région de Ouargla (Algérie).

Les graines sont mises dans de l'eau chaude (80°C, 15 min), puis grattées pour éliminer les fibres superficielles. Elles sont désinfectées (20 min) dans une solution d'hypochlorite de sodium, rincées à l'eau stérile puis mises à germer à l'obscurité dans de la vermiculite stérilisée et humidifiée, contenue dans des bacs. Ceux-ci sont incubés à 35-38°C dans un endroit sec.

Après 15 à 20 jours, les graines sont transférées dans d'autres bacs contenant de la vermiculite puis sont placées à la lumière et arrosées quotidiennement.

1.5.- Antagonisme *in vitro*

L'activité antibiotique des bactéries contre les champignons *F. o. albedinis*, *F. o. lini* a été mise en évidence par la méthode des stries croisées [8] sur gélose nutritive.

1.6.- Préparation des inocula bactériens et fongiques

Des colonies bactériennes croissant sur gélose nutritive ou King B et âgées de 48 h, sont recueillies et mises en suspension dans de l'eau distillée stérile. Les cellules subissent trois lavages successifs par centrifugation avant d'être recueillies dans de l'eau stérile.

Les spores de *F. o. lini* et de *F. o. albedinis* proviennent de cultures âgées de 10 jours et poussant sur extrait de malt gélosé (10% w/v). Elles sont récupérées par filtration pour éliminer les fragments mycéliens. La suspension obtenue est constituée surtout de microconidies (90%).

La concentration des suspensions bactériennes (2×10^5 cellules/ml) et fongiques (2×10^5 propagules/ml) a été ajustée à l'aide de l'hématimètre de Malassez.

1.7.- Expérimentation sur le lin

La technique utilisée [9] consiste tout d'abord à introduire les germes antagonistes un certain temps avant l'agent pathogène, de manière à leur permettre de coloniser les microhabitats et à bien s'établir dans le sol. Le champignon est ensuite inoculé et les graines de lin sont alors semées. La croissance des plantules et le nombre de plants malades sont notés chaque semaine.

Chaque lot de sol sec (lot de 500 g) est inoculé avec une suspension bactérienne de 10^8 germes par gramme de sol sec (gss), puis mis à une température ambiante pendant huit jours.

Le *F. o. lini* est par la suite inoculé dans le sol à raison de 2×10^5 propagules/gss. L'humidité est ajustée à 15%. La terre, bien homogénéisée, est répartie dans 5 pots (110 g/pot). Les graines de lin sont semées le même jour de l'inoculation du *F. o. lini*. Les pots sont placés à l'abri de la lumière pendant trois jours à 15°C (pour favoriser la germination). Douze plantules par pot sont obtenues, soit au total, 60 plantules par essai.

Un témoin, avec *F. o. lini* mais sans agents antagonistes, est réalisé. Les conditions de cultures sont les suivantes: éclairage de 10 000 lux (16 h sur 24 h), température de 25°C pendant 12 h et 20°C pendant les 12 autres heures, arrosage quotidien des plantules avec de l'eau distillée.

Les symptômes de la maladie (jaunissement et flétrissement progressif des feuilles sur un côté puis sur l'autre), apparaissent après 20 jours [5,10]. Chaque semaine le nombre de plants malades est noté. Les tiges des plantules flétries sont nettoyées superficiellement à l'alcool, rincées à l'eau stérile, découpées en fragments de 1 cm puis placées sur milieu malt gélosé (10 g/l de malt et 15 g/l d'agar) additionné de streptomycine et de bénomyl (5 mg/l). Le développement du *F.o.lini* permet de confirmer la maladie.

1.8.- Expérimentation sur le palmier dattier

La conduite des essais est la même que pour le lin. Cependant, en raison des difficultés à obtenir des plantules de palmier dattier et la durée très longue de l'expérimentation, deux souches bactériennes seulement sont testées: la souche n° 1 de *Bacillus firmus* et la souche n° X7 de *Pseudomonas fluorescens*.

Le sol, bien séché, est réparti en lots de 1 Kg. Chaque souche bactérienne est ensemencée (2×10^8 germes/gss) huit jours avant le *F. o. albedinis* ($1,2 \times 10^6$ spores/gss). La dose de cet inoculum est supérieure à celle utilisée pour le lin car l'expérience dure plus longtemps et la densité de l'agent pathogène diminue sensiblement avant même l'expression de la maladie [10].

Pour chaque essai, 54 plantules de palmier dattier âgées de trois mois (stade 2 feuilles) sont utilisées à raison de 9 par pot de 1 kg et 6 répétitions. Un témoin, sans souche bactérienne mais avec *F. o. albedinis*, est réalisé dans les mêmes conditions.

Un jaunissement unilatéral des feuilles avec brunissement des vaisseaux sont les symptômes de la fusariose. La maladie des plantules est confirmée de la même manière que pour le lin.

2.- Résultats

2.1.- Sélection des souches bactériennes

Au total, 14 souches de bactéries sont sélectionnées dans cette étude. Cinq d'entre elles appartiennent au genre *Bacillus*, une au genre *Brevibacillus*, trois au genre

Pseudomonas (fluorescents), trois au genre *Burkholderia*, et deux à des bactéries corynéformes. Les résultats sont illustrés par le Tableau I.

Tableau I.- Les espèces bactériennes testées contre la fusariose du lin et du palmier dattier : croissance, origine, dominance et activités antifongiques

Souche n°	Genre et espèce	Croissance sur GN	Isolement	Présence dans:	Action contre <i>F. o. albedinis</i>	Action contre <i>F. o. lini</i>
1	<i>Bacillus firmus</i>	+++	TK (ER)	TK (ER) (+++)	-	-
16	<i>B. megaterium</i>	+++	TK (ER)	TK (ER), TK (RJ) et AS (++)	-	-
200	<i>B. circulans</i>	+	AM (ER)	AM (ER), AM (Pn), AM (RJ) (++)	-	-
11	<i>B. subtilis</i>	++	TK (RJ)	T, TK (RJ) et AS (RJ) (±)	+++	+++
34	<i>B. cereus</i>	+++	TK (RJ)	T et TK (RJ) (±)	-	-
215	<i>Brevibacillus brevis</i>	+	AM (Pn)	T et TK (RJ) (±)	-	-
71	<i>Burkholderia caryophylli</i>	+++	AS (RJ)	AS (RJ), AM (RJ) (++)	-	-
80	<i>Bu. gladioli</i>	+++	TK (Pn)	T, AM (Pn), AS (Pn) (++)	-	-
39	<i>Bu. cepacia</i>	+++	TK (RJ)	TK (RJ) (++)	-	-
X7	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+++	TK (ER)	TK (RJ), TK (Pn) (±)	++	++
47	<i>P. fluorescens</i>	+++	TK (Pn)	ER (AS, AM) et Pn (AS, AM, TK) (++)	-	-
41	<i>P. fluorescens</i>	+++	TK (Pn)	TK (Pn) (++)	-	-
305	Bactérie à Gram + corynéforme	+++	TK (RJ) Sol témoin	TK (RJ) (++) T (+)	-	-
23	<i>Arthrobacter</i> sp.	+	TK (RJ)	TK (RJ) (++)	-	-

Note: *B.*: *Bacillus*; *Br.*: *Brevibacillus*; *Bu.*: *Burkholderia*; *P.*: *Pseudomonas*; TK: Takerbucht; AS: Aghamu sain; AM: Aghamu malade; T.: sol non rhizosphérique; RJ: sol rhizosphérique (racines jeunes); ER: endorhizosphère; Pn: pneumatodes; GN: gélose nutritive.

Croissance sur milieu GN: +++, très bonne; +, faible.

Présence: +++, représente plus de 60% du total de la microflore; ++, entre 20 et 60% du total; +, entre 5 et 20% du total; +/-, entre 2 et 5% du total. La dominance des espèces a été appréciée en observant des colonies identiques entre elles (pour chaque espèce) croissant sur milieu GN.

Activité contre *F. o. albedinis* et *F. o. lini*: +++, très forte action; ++, action moyenne; -, pas d'action.

Les souches ont été choisies surtout selon leur dominance au niveau des racines des cultivars Takerbucht (TK), Aghamu sain (AS) ou Aghamu malade (AM). Cependant, certaines ont été sélectionnées uniquement grâce à leur forte action antifongique (ex. *B. subtilis*) ou encore parce qu'elles appartiennent à des genres ou des groupes souvent utilisés dans la lutte biologique (ex. *Arthrobacter*, bactérie corynéforme).

2.2.- Antagonisme *in vitro*

Le nombre de bactéries présentant une action antifongique (stries croisées) contre *F. o. albedinis* et *F. o. lini* est relativement faible. En effet, parmi les 14 souches bactériennes testées, seules celles appartenant aux espèces *Bacillus subtilis* n° 11 et *Pseudomonas fluorescens* X7 présentent une forte activité. Les isolats ressemblant à ces deux souches

sont retrouvés en très faible quantité au niveau du sol non rhizosphérique et au niveau de la rhizosphère des cultivars Aghamu et Takerbucht pour la première espèce et dans l'endorhizosphère et les pneumatodes de Takerbucht pour la seconde espèce (tab. I).

2.3.- Influence des bactéries sur l'expression de la fusariose du lin

Dans ce cas, dans un but comparatif, les souches bactériennes utilisées appartiennent aussi bien à des espèces dominantes dans les racines qu'à des espèces peu fréquentes ou même rares et pouvant présenter ou non une activité antibiotique contre *F. o. lini*.

Parmi les six souches de l'ordre des *Bacillales* testées, deux d'entre elles, *Bacillus firmus* (n° 1) et *B. megaterium* (n° 16), se sont montrées très efficaces. Elles font baisser le taux de plants malades de 67% par rapport au témoin. Par contre les souches n° 11 de *B. subtilis*, n° 34 de *B. cereus* et n° 215 de *Brevibacillus brevis* réduisent faiblement la maladie, de 22, 20 et de 18% respectivement.

La souche n° 200 de *B. circulans* s'est montrée non seulement inefficace mais a tendance à aggraver la maladie de 13,3% par rapport au témoin (fig. 1 et 5).

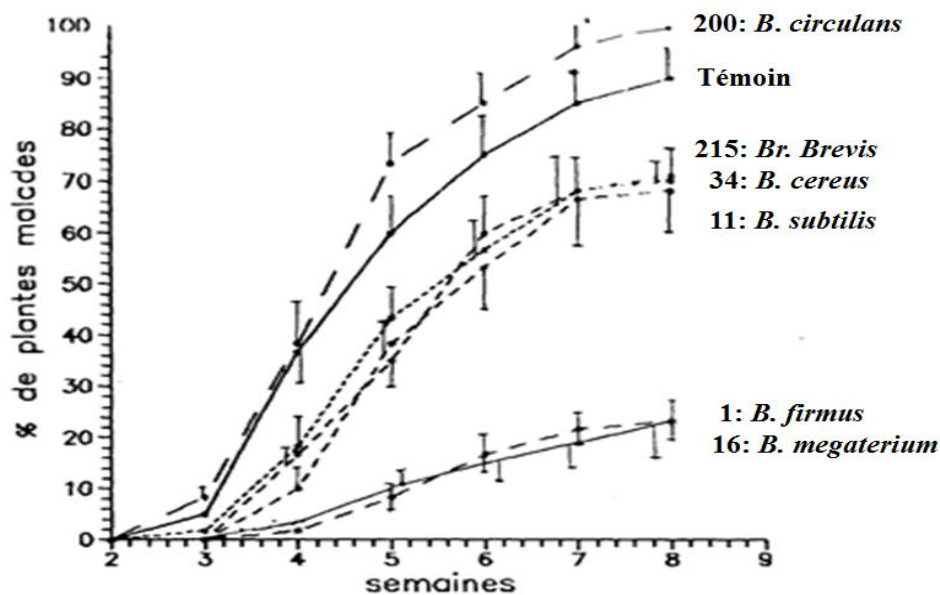


Figure 1.- Influence de cinq souches de *Bacillus* (*B.*) et d'une souche de *Brevibacillus* (*Br.*) sur l'évolution de la mortalité du lin. Nombre de répétitions: 5×12 plantes).

Les souches de *Pseudomonas* et de *Brevibacillus* se sont montrées beaucoup moins intéressantes que celles de *Bacillus*. La meilleure d'entre elles est X7 (*P. fluorescens*). Elle fait baisser le taux de maladie de 42% par rapport au témoin.

La souche n° 80 de *Bu. gladioli* est peu efficace (27% de moins que le témoin). L'aptitude à protéger le lin est pratiquement nulle avec les autres souches, telles que *P. fluorescens* n° 47, *P. fluorescens* n° 41, *Bu. cepacia* n° 39 et *Bu. Caryophylli* n° 71. Cette

dernière espèce a même tendance à aggraver la maladie: 8% de plants malades de plus par rapport au témoin (fig. 2, 3 et 5)

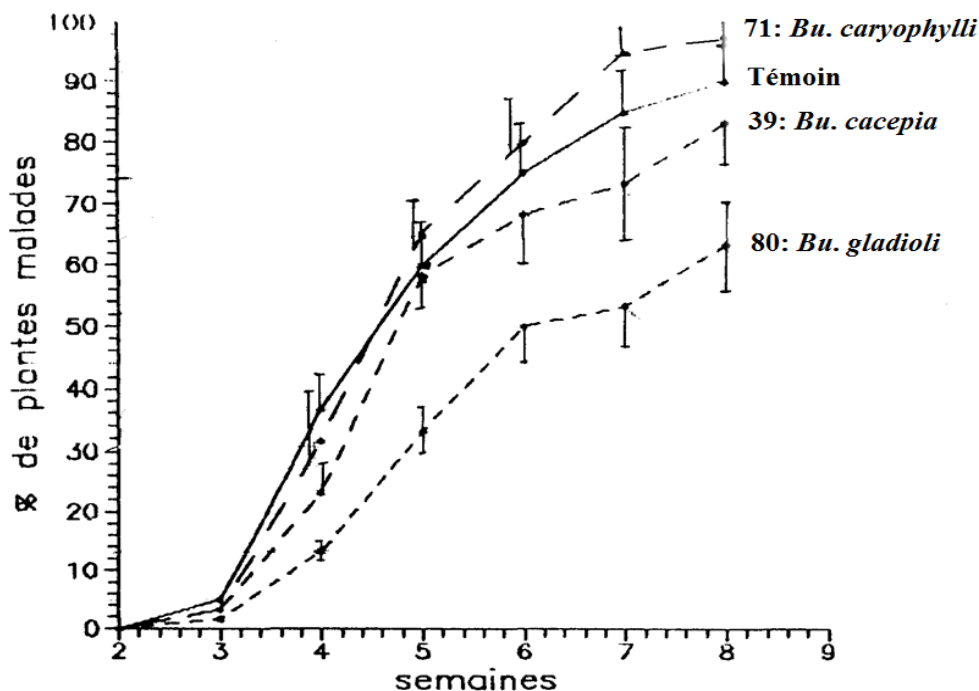


Figure 2.- Influence de trois souches de *Burkholderia* (*Bu.* sur l'évolution de la mortalité du lin. Nombre de répétitions: 5×12 plantes).

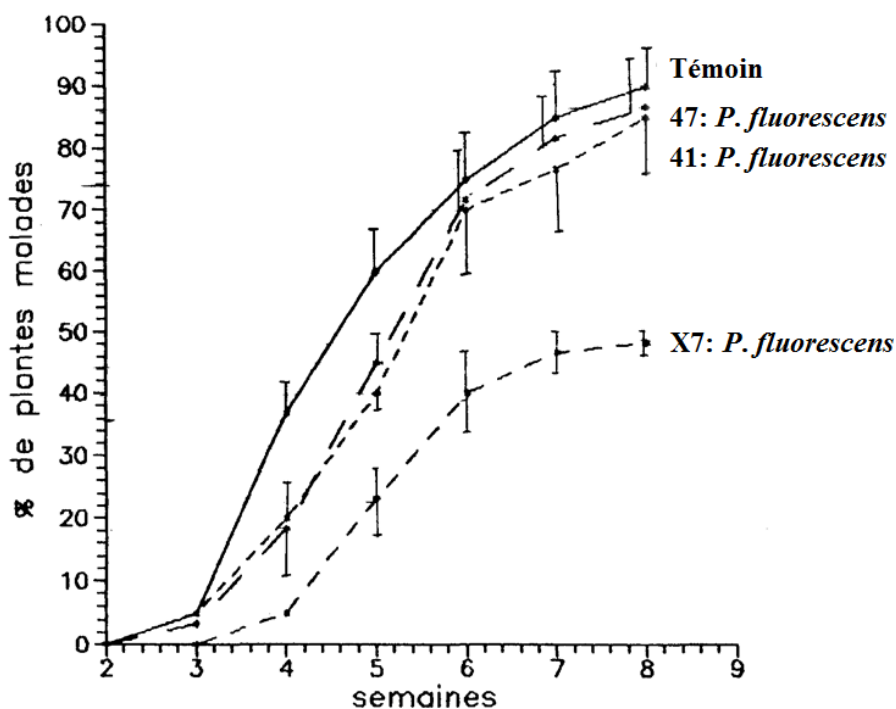


Figure 3.- Influence de trois souches de *Pseudomonas fluorescens* sur l'évolution de la mortalité du lin. Nombre de répétitions: 5×12 plantes.

Parmi les bactéries corynéformes, la souche n° 305 s'est révélée être la plus efficace de toutes les souches bactériennes étudiées. Elle fait baisser le taux de maladie de

77% par rapport au témoin. Des résultats négatifs sont obtenus avec la souche d'*Arthrobacter* sp. n° 23 qui s'est montrée totalement inapte à protéger le lin (fig. 4, 5).

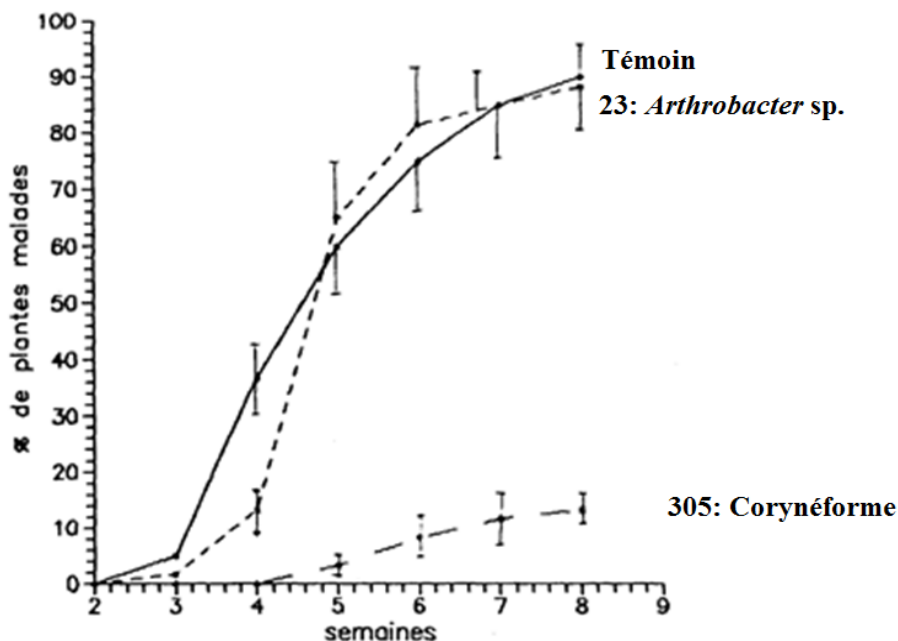


Figure 4.- Influence d'une souche d'*Arthrobacter* et d'une souche bactérienne corynéforme sur l'évolution de la mortalité du lin.
Nombre de répétitions: 5×12 plantes.

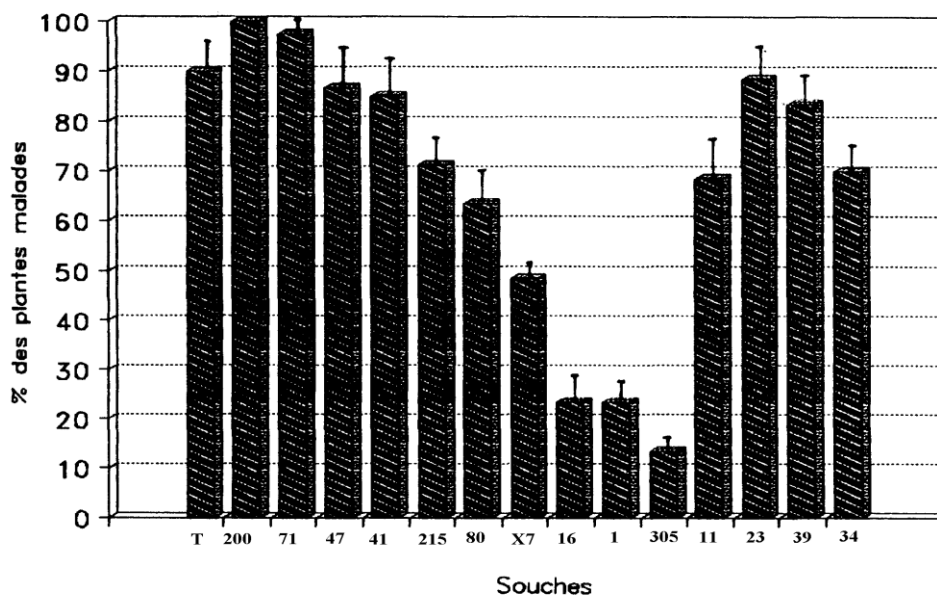


Figure 5.- Aptitude des 14 souches bactériennes à limiter la fusariose du lin.
(T): témoin avec *F. o. l.* et sans bactéries.
Bacillus: *B. circulans* (200), *B. cereus* (34), *B. subtilis* (11), *B. megaterium* (16) et *B. firmus* (1).
Brevibacillus: *Br. brevis* (215).
Burkholderia: *Bu. caryophylli* (71), *Bu. cepacia* (39) et *Bu. gladioli* (80).
Pseudomonas fluorescents: *P. fluorescens* (X7, 47 et 41).
Corynéformes: *Arthrobacter* sp. (23) et bactérie corynéforme (305).

2.4. - Influence des bactéries sur l'expression de la fusariose du palmier dattier

L'expérience sur le palmier dattier a été réalisée avec deux souches de bactéries ayant donné de bons résultats sur le lin: *Bacillus firmus* n° 1 et *Pseudomonas fluorescens* n° X7. La première est dominante dans la rhizosphère de Takerbucht et a donné de très bons résultats sur le lin, bien qu'elle n'inhibe pas les deux agents pathogènes. La seconde est rarement retrouvée au niveau de la rhizosphère, mais a donné des résultats appréciables sur le lin, tout en étant active contre les deux agents pathogènes.

La souche de *B. firmus* n° 1 s'est avérée plus efficace que celle de *P. fluorescens* X7. Les pourcentages de plants malades sont de 3,7% pour la première et 16,7% pour la seconde contre 31,7% pour le témoin (fig. 6).

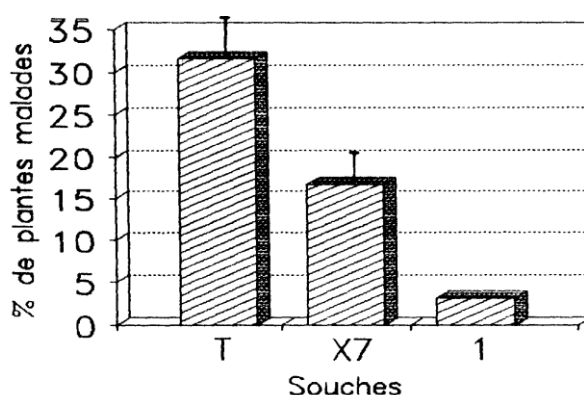


Figure 6.- Influence des souches bactériennes X7 et n° 1 sur l'évolution de la mortalité des plantules de palmier dattier. Nombre de répétitions: 6 × 9 plantes.

3.- Discussion

Diverses approches sont considérées pour lutter contre la fusariose du palmier dattier. La lutte chimique par l'utilisation des fongicides à action systémique, est une méthode écartée car ces produits sont peu stables dans le sol et risquent de favoriser la sélection des souches résistantes. De plus, il est très difficile d'effectuer une lutte chimique sur un arbre. La lutte génétique, en utilisant des variétés résistantes, représente une méthode efficace pour lutter contre la fusariose vasculaire [11].

En Algérie, de nombreux chercheurs se sont intéressés à la fusariose du palmier dattier [5,7,12,13]. L'approche abordée dans ce travail consiste à rechercher des microorganismes antagonistes du champignon *Fusarium*, et qui auraient un pouvoir élevé de colonisation des racines.

Le lin constitue un bon modèle pour l'étude des fusarioses [3]. En effet, sa période de végétation est courte (03 mois au maximum). Il constitue également un bon modèle pour l'étude de la fusariose du palmier dattier car des résultats comparables ont été obtenus entre le couple "lin-*F. o. lini*" et "plantules de palmier dattier-*F.o. albedinis*" [5,10].

Dans le présent travail, les résultats montrent que l'efficacité des bactéries à protéger le lin contre la fusariose est variable selon les souches. Sur les 14 souches, quatre

seulement ont présenté une grande efficacité: les souches n° 1 (*B. firmus*), n° 16 (*B. megaterium*), n° X7 (*P. fluorescens*) et surtout n° 305 (corynéforme). Les quatre bactéries croient rapidement *in vitro* sur gélose nutritive mais, à l'exception de X7, aucune ne possède une activité antifongique inhibant le *F. o. lini* ou le *F. o. albedinis*. Deux d'entre elles (n° 1 et n° 16) appartiennent à des espèces dominantes dans la rhizosphère et l'intérieur des racines du cultivar résistant Takerbucht. La souche n° 305 n'est pas dominante mais est fréquemment retrouvée aussi bien au niveau du sol non rhizosphérique que de la rhizosphère. Leur aptitude à protéger le lin n'est donc pas liée à la production d'antibiotiques mais il est fort probable que leur croissance rapide et leur pouvoir de colonisation des racines assez élevé, leur permettent d'être compétitives pour les sources de carbone et d'autres composés essentiels et d'occuper ainsi les sites racinaires avant l'agent pathogène, phénomènes évoqués dans les mécanismes expliquant l'efficacité des souches [2,14,15,16]. Des souches de *Bacillus*, surtout *Bacillus subtilis*, sont souvent utilisées avec succès dans la lutte biologique [17,18,19].

Dans notre cas, la souche n° 11 de *Bacillus subtilis* qui a présenté *in vitro* une action antifongique puissante contre *F. o. lini*, a montré par contre une faible aptitude à protéger le lin, comparativement aux deux autres souches de *Bacillales* non productrices d'antibiotiques, *B. cereus* et *Br. brevis*. Il faut signaler que *B. subtilis* est rarement isolée de la rhizosphère du palmier dattier (donc apparemment non adaptée). Ceci montre donc qu'une souche sécrétant *in vitro* un composé antifongique à très forte action n'est pas forcément intéressante *in situ*. Tout comme *B. subtilis*, *B. cereus* et *Br. brevis* n'appartiennent pas à des espèces prédominantes dans la rhizosphère, ce qui peut être expliqué par un pouvoir assez faible de colonisation des racines. De plus, *B. subtilis* (n° 11) et *Br. brevis* (n° 215) ont une croissance lente à modérée sur gélose nutritive.

Des résultats analogues ont été obtenus par MOUSTIRI (1992) [20] qui a constaté que l'efficacité des souches d'actinomycètes est beaucoup plus liée à leur aptitude à coloniser les racines qu'à leur action inhibitrice (*in vitro*) envers les champignons pathogènes *F. o. albedinis* et *F. o. lini*.

Les souches de *Pseudomonas* (toutes fluorescentes) n'ont pas donné les résultats attendus. Leur rôle très important, dans la résistance des sols aux maladies et dans la lutte biologique, a été signalé par de nombreux auteurs. L'efficacité de ce groupe a été expliquée par la production de sidérophores, composés chélatant le fer et le rendant indisponible pour les agents pathogènes lesquels sont alors inhibés, ainsi que par des composés antifongiques tels que les phénazines et la pyrrolnitrine [21,22, 23,24].

Dans notre cas, deux souches de *P. fluorescens* (n° 41 et 47) se sont révélées inefficaces et seule une souche (X7) a montré une efficacité moyenne. Il est à noter que cette dernière, à l'inverse des deux autres, produit un composé antifongique. AMIR (1991) [5] a constaté que 4 souches de *Pseudomonas* fluorescents ont montré une aptitude faible ou nulle. LEMANCEAU et ALABOUVETTE (1991) [25] ont constaté que sur 74 isolats de *Pseudomonas* fluorescents, seuls 21% se sont montrés efficaces dans la lutte contre la fusariose de quelques plantes, ce qui montre donc la variabilité que l'on peut avoir selon les souches sélectionnées.

Cependant, dans le cas de notre étude, les souches de *Pseudomonas* ne se sont pas montrées meilleures que les souches de *Burkholderia* telles que *Bu. gladioli* et *Bu. cepacia* ou encore par rapport à certaines espèces de *Bacillus* et d'*Arthrobacter*.

Deux souches de *B. circulans* (n° 200) et *Bu. caryophylli* (n° 71) ont même tendance à aggraver légèrement la maladie. Un cas analogue a été noté par VANCURA et STANEK (1976) [26] qui ont constaté qu'une souche fluorescente de *P. putida* aggrave la fusariose du haricot. Ces auteurs attribuent ce phénomène à la production de vitamines par la bactérie, qui favoriserait le champignon.

La souche n° 1 de *B. firmus* et n° X7 de *P. fluorescens*, testées sur des plantules de palmier dattier, ont donné des résultats intéressants (surtout pour la souche n° 1) et analogues à ceux obtenus sur le lin. Cette analogie a été constatée par AMIR (1991a, 1991) [5,10] et MOUSTIRI (1992) [20].

Les résultats de ce travail peuvent être utilisés pour renforcer les moyens de lutte contre la fusariose du dattier, et incitent à poursuivre cette étude par la recherche d'autres microorganismes antagonistes, notamment les actinomycètes, en utilisant le modèle "*lin-F. o. lini*".

Références bibliographiques

- [1].- Bennaceur M., 1981.- Sur la fusariose du palmier dattier: effets des exsudats racinaires sur le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Killian et Maire) Gordon. Thèse Doctorat, 3^{ème} cycle. Université de Montpellier, 78p.
- [2].- Ryder M. H., Brisbane P. G., Rovira A. D., 1990.- Mechanisms in the biological control of take-all of wheat by rhizosphere bacteria. In: Biological control of soil borne plant pathogens. Hornby D., Cook R. J., Henis Y., Eds., CAB. International, Wallingford, Oxford, UK, Chap. 9, 123-130.
- [3].- Alabouvette C., Rouxel F., Louvet J., 1980.- Recherche sur la résistance des sols aux maladies. VII. Etude comparative de la germination des chlamydozoospores de *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* au contact de sol résistant et sensible aux fusarioses vasculaires. Annales de phytopathologie, 12: 21-30.
- [4].- Dihazi A., Jaiti F., Taktak W., kilani-Feki O., Jaoua S., Driouich A., Baaziz M., Daayf F. Serghini M. A., 2012.- Use of two bacteria for biological control of bayoud disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* in date palm (*Phoenix dactylifera* L) seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, 55: 7-15.
- [5].- Amir A., 1991a.- Rôle des facteurs biotiques et abiotiques dans le déterminisme de la réceptivité de quelques sols de palmeraies algériennes aux fusarioses vasculaires. Thèse de Doctorat ès-Sciences, USTHB, Alger, 129 p.
- [6].- Rapilly F., 1968.- Techniques de mycologie en pathologie végétale. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, 324 p..
- [7].- Lamari L., Sabaou N., 1993.- Etude comparative de la flore bactérienne de la rhizosphère de deux cultivars de palmier dattier sensible et résistant à la fusariose. Canadian Journal of Microbiology, 39: 874-881.

- [8].- Waksman S. A., 1945.- Microbiological antagonism and antibiotic substances. The Commonwealth Fund, New York, 264 p.
- [9].- Alabouvette C., 1983.- La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires. Rôle de la compétition nutritive en microorganismes. Thèse Doctorat ès-Sciences, université de Nancy, Nancy, 158 p.
- [10].- Amir H., 1991.- Interaction entre populations du genre *Fusarium* dans les sols sahariens. Déterminisme de l'aptitude des souches non pathogènes à limiter l'expression de la fusariose vasculaire. Thèse Doctorat ès-Sciences, USTHB, Alger, 122 p.
- [11].- Pereau-Leroy, P., 1958.- Le Palmier dattier au Maroc. Ministère de l'Agriculture, Service de la recherche agronomique, Maroc, 142 p.
- [12].- Bounaga N., 1985.- Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Killian et Maire) Gordon. Agent de la fusariose du palmier dattier. Thèse Doctorat ès-Sciences. USTHB. Alger, 195p.
- [13].- Sabaou N., Bounaga N., 1987.- Actinomycètes parasites de champignons: étude des espèces, spécificité de l'action parasitaire au genre *Fusarium* et antagonisme dans le sol envers *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Killian et Maire) Gordon. Canadian Journal of Microbiology, 33: 445-451.
- [14].- Weller D. M., 1984.- Distribution of take-all suppressive strain of *Pseudomonas fluorescens* on seminal roots of winter wheat. Applied and Environmental Microbiology, 48: 897-899.
- [15].- Howie W. J., Cook R. J., Weller D. M., 1987.- The effect of soil matric potential and cell motility on wheat root colonization by fluorescent Pseudomonads suppressive to take-all. Phytopathology, 77: 286-292.
- [16].- Juhnke M. E., Mathre D. E., Sands D. C., 1987.- Identification and characterization of rhizosphere competent bacteria of wheat. Applied and Environmental Microbiology, 53: 2793-2799.
- [17].- Broadbent P., Baker K. F., Waterwhath Y., 1971.- Bacteria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in australian soils. Australian Journal of Biological Sciences, 24: 925-944.
- [18].- Utkhede R. S., Sholberg P. L., 1986.- *In vitro* inhibition of plant pathogens by *Bacillus subtilis* and *Enterobacter aerogenes* and *in vitro* control of two postharvest cherry diseases. Canadian Journal of Microbiology, 32: 963-967.
- [19].- Maplestone P. A. and Campbell R., 1989.- Colonization of roots of wheat seedlings by *Bacilli* proposed as biocontrol agents against take-all. Soil Biology and Biochemistry 21: 543-550.

- [20].- Moustiri A., 1992.- Etude comparative des actinomycètes de la rhizosphère de deux cultivars de palmier dattier sensible et résistant au bayoud: influence de quelques isolats sur l'expression de la fusariose. Thèse de Magister, ENS, Alger, 130 p.
- [21].- Buyer J. S., Sikora L. J., 1990.- Rhizosphere interaction and siderophores. *Plant and Soil*, 129: 101-107.
- [22]. - Weller D. M., Howie W. J., Cook R. J., 1988.- Relationship between *in vitro* inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* and suppression of take-all of wheat by fluorescent *Pseudomonads*. *Phytopathology*, 78: 1094-1100.
- [23].- Haas D., Défago G., 2005.- Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 3: 307-319.
- [24].- Lemanceau P., Expert D., Gaymard F., Bakker P. A. H. M., Briat J. F., 2009.- Role of iron in plant-microbe interactions. *Advances in Botanical Research*, 51: 491-549.
- [25].- Lemanceau P., Alabouvette C., 1991.- Biological control of *Fusarium* diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non pathogenic *Fusarium*. *Crop Protection*, 10: 279-286.
- [26].- Vancura V., Stanek M., 1976.- Synergistic relations hips of *Pseudomonas putida* and some phytopathogenic fungi in plant rhizosphere. *Folia Microbiology*, 21: 213-221.

IMPORTANCE DES RESSOURCES HYDRIQUES ET LEURS IMPACTS SUR LE DEVELOPPEMENT DURABLE DANS LE BASSIN DE TIMGAD (ALGERIE NORD ORIENTALE)

DJAIZ Fouad^{1*}, ATHAMENA Malika², ATHAMENA Ali³

⁽¹⁾Département des sciences de la terre, Faculté des sciences
Université Hadj Lakhdar 05000 Batna, Algérie

⁽²⁾Institut hydraulique, du génie-civil et d'architecture
Université Hadj Lakhdar 05000 Batna, Algérie

⁽³⁾Département hydraulique, Centre Universitaire de Mila. E-mail: djaizfou@yahoo.fr

Résumé.- La région de Foug Toub située dans les Aurès, est caractérisée par une moyenne annuelle des précipitations de l'ordre de 800 mm. L'hydrologie tribulaire du relief est la conséquence directe des eaux de surface et de la fonte des neiges provenant des hauteurs du massif de Chelia. L'objectif de l'implantation de la retenue de Foug Toub est de minimiser le phénomène d'envasement à l'amont du barrage de Koudiate El Mdaour, de régulariser le débit d'Oued Rebaa qui coule du sud vers le nord et de contribuer à l'irrigation de la plaine de Foug Toub. Cette étude porte sur la mobilisation des ressources en eaux superficielles décidée par le ministère de l'agriculture en vue d'une utilisation rationnelle et planifiée de ce facteur vital qui est l'eau. Le site retenu pour la construction de cet ouvrage est caractérisé par un substratum marneux imperméable, favorable pour implanter la digue et la cuvette. Les matériaux meubles argilo-limoneux-graveleux localisés dans les dépressions ainsi que les grès servent comme zones d'emprunt pour les matériaux de construction de cet ouvrage. La stabilité est un des paramètres les plus importants à prendre en considération pour le choix du site, afin d'éviter tout problème lié aux phénomènes de retrait-gonflement sur les rives de l'Oued. Toutefois, la possibilité de glissement, aussi faible qu'il soit, peut être générée sur la rive gauche de l'Oued au sein des dépôts meubles et récents. Le choix du site d'implantation de cet ouvrage hydraulique reste tributaire des essais de laboratoire.

Mots clés: Retenue collinaire, argile, géotechnique, matériaux de construction.

THE IMPORTANCE OF WATER RESOURCES AND THEIR IMPACT ON SUSTAINABLE DEVELOPMENT IN THE BASIN OF TIMGAD (NORTH EAST OF ALGERIA)

Abstract.- Located in the Aures mountains Foug Toub is characterized by an annual average rainfall of 800mm. The hydrology subordinate to the terrain is the direct consequence of surface waters and of snow melting from the heights of Chelia Mountain. The aim of the implantation of the Foug Toub backwater is to minimize the siltation phenomenon at the upstream of the Koudiate El Mdaour dam, to regularize the Rebaa creek flow which runs from south to north and to contribute to the irrigation of the Foug Toub plain. This study puts the emphasis on the mobilization of surface water resources, a policy of the Ministry of Agriculture and Rural Development with a view to rationalize the use and planning of this vital factor, i.e. water. The site selected for the construction of this structure is characterized by a waterproof marly substratum, favourable for implanting the dike and the basin. The clay-silty-gravelly material furniture localized in the depressions as well as sandstones are used as areas for the construction materials of this structure. Stability is one of the most important parameters to take into account for the choice of the site, so as to avoid any problem linked to the withdrawal-swelling phenomena on the banks of creek. However, the sliding possibility, however weak it is, can be generated on the left bank of the creek within deposit and recent silt. The choice of the site for the implantation of this hydraulic structure remains subject to laboratory tests.

Key words: small dam, Clay, Geotechnics, Construction Materials.

Introduction

La région de Foug Toub appartenant à l'Aurès, est située dans l'Atlas saharien, dans la partie sud est de Batna (longitude: 6° 30' - 6° 35' Est, latitude: 35° 20' - 35° 25' Nord) (fig. 1). Cette région et une petite dépression coincée entre deux massifs montagneux, le premier est situé au nord, c'est le Djebel Tizagrout, le second au sud, est Djebel Aslaf. Les altitudes culminent à des hauteurs de 1331m dans le massif de Tizagrout, et 1606 dans celui de Djebel Aslaf [1].

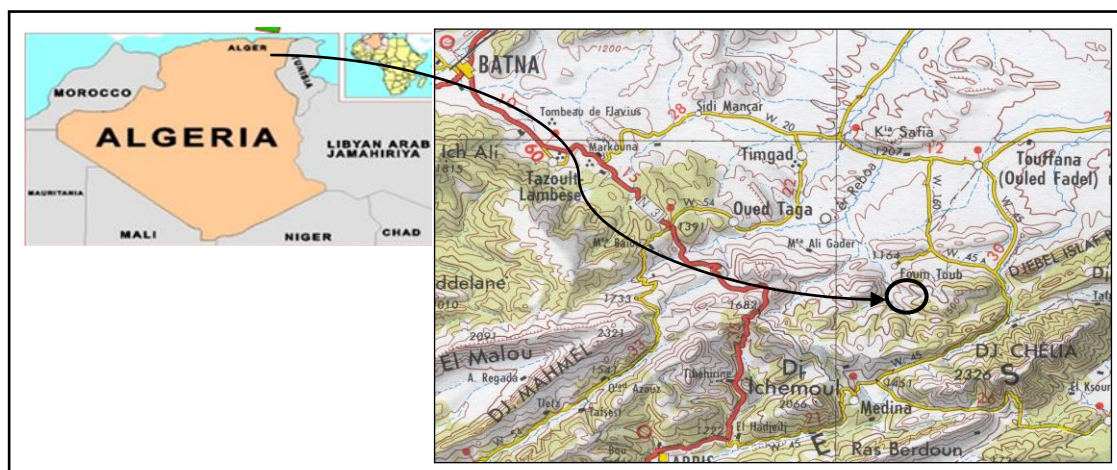


Figure 1.- Situation de Foug Toub (carte Topographique Batna, 1/50000), Institut National de cartographie

L'hydrologie tributaire du relief, permet aux eaux de surface provenant des hauteurs du versant nord du massif de Chélia par la fonte des neiges, de se diriger du sud vers le nord à travers Oued Seba puis Reboa où est prévue la retenue collinaire, pour aboutir dans le barrage de Koudiate El Mdaouar situé au nord de Timgad. Le climat est rude et nettement continental. En plaine, le total des précipitations ne dépasse pas 400 mm, par contre, les massifs montagneux peuvent recevoir jusqu'à 800mm d'eau [2].

1.- Contexte géologique

La région de Foug Toub est à la limite Sud du bassin de Timgad, au Nord du massif du Chélia et au cœur du massif de l'Aurès. Elle est comblée par des dépôts miocènes continentaux et marins. Les sédiments crétacés sont constitués par des niveaux carbonatés, gréseux et argileux. L'ensemble est surmonté de sédiments terrigènes argilo-gréseux. L'Aurès est souligné par de vastes anticlinaux et synclinaux individualisés, réguliers (fig. 2), et orientés NE-SW, engendrés par la phase tectonique atlasique. Cet alignement est affecté par des systèmes de failles qui s'organisent autour des directions suivantes NE-SW, NW-SE, E-W [3,4].

Le quaternaire continentale qui se présente en dépôts fluviatiles anciens, coiffe les sédiments miocènes. Dans les ravins, affleurent des conglomérats métriques formés par des éléments plus ou moins anguleux de taille et d'origine différente [1].

Le bassin versant et la cuvette de cet ouvrage sont constitués par une alternance marno-calcaires constituant un bon tapis étanche pour les infiltrations d'eau associés à des

argiles limono-sableuses. Les limites de cet ouvrage sont constituées de barres gréseuses fracturées ou peut avoir des pertes d'eau par infiltration [2,1, 3].

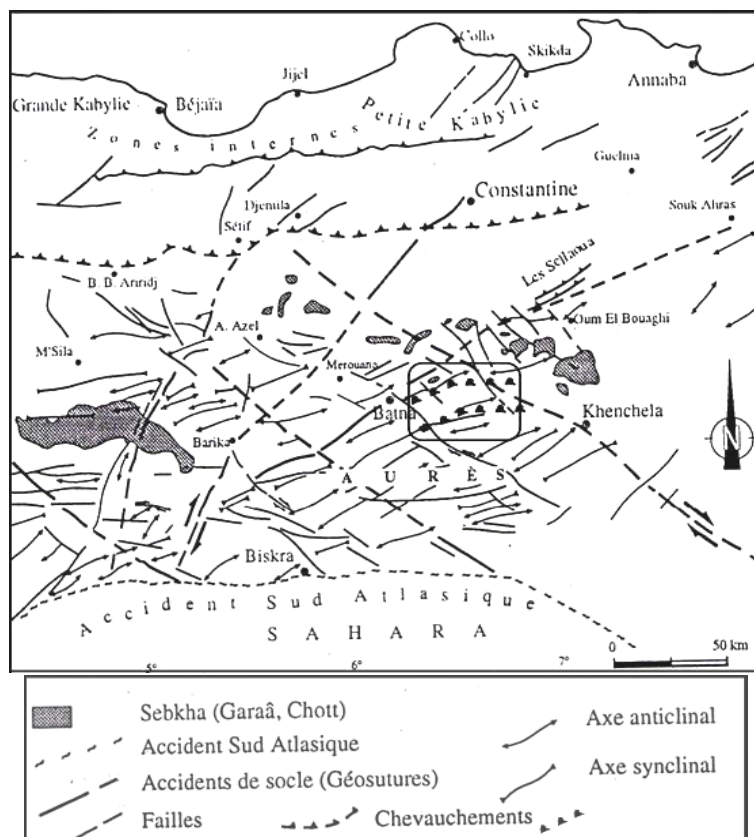


Figure 2.- Esquisse tectonique des Aurès [5]

2.- Contexte tectonique et sismicité

La région d'étude est affectée par des failles visibles à l'échelle de l'affleurement. Les directions de ces dernières sont NW-SE et NNE-SSW longues de 400 m, N-S longue de 250 m [1]. Le traitement linéaire montre une intense fracturation. La sismicité de cette région est influencée par les zones actives de Kherrata-Constantine et des monts des Bibans, où des séismes ont été enregistrées (fig. 3). Le site de cet ouvrage peut être classé dans la catégorie des sismicités faibles, selon la carte de KARNIK (1969) [6]. Les secousses les plus fortes ressenties dans cette région en 1924 sont estimées à $M = 5.6$ [7].

3.- Contexte hydrogéologique

Dans la région d'étude, l'exploitation des eaux souterraines provient essentiellement de l'infiltration des eaux de pluie, piégées dans les roches réservoirs. Ce cortège de roche forme une nappe libre qui est recoupée par des forages sur une profondeur de 137 m, fournissant un débit de 6 l/s., et des grès blancs grossiers fracturés formant une nappe captive à 190 m avec un débit de 28 l/s [8].

L'examen de l'ensemble des coupes géoélectriques établies dans le bassin de Timgad, permet d'aboutir aux faits que les formations du miocène et du crétacé hétérogène contiennent de grandes potentialités d'aquifères à des niveaux différents. La différence topographique par faille, entre le crétacé et le miocène, peut supposer une alimentation de

l'aquifère miocène par celle du crétacé [8].

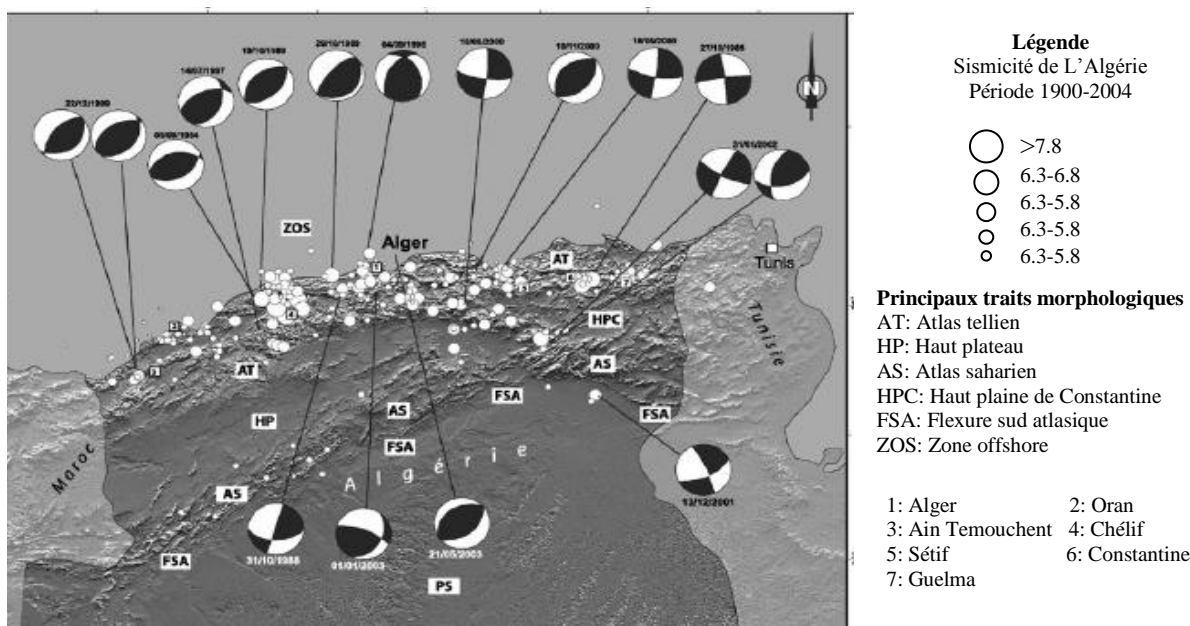


Figure 3.- Sismicité au nord de l'Algérie [7]

Les sondages traversant le miocène et le crétacé décèlent une disposition lithologique gréseuse, marneuse et argileuse, avec des niveaux en feuillets de gypse. Les niveaux susceptibles de représenter des aquifères productifs sont:

- La couverture quaternaire formée de sables et de graviers d'une épaisseur de 30 m, mais de moindre importance du fait qu'elle est souvent associée à une éventuelle pollution,
- Un deuxième aquifère potentiel où il est signalé une perte totale, représentée par les grès fissurés,
- Le substratum marno-calcaire à la périphérie du bassin [8].

4.- Matériels et méthodes

L'étude hydrologique se base essentiellement sur les apports liquides, les apports solides et le débit de crue. Le programme de reconnaissance géotechnique concernant l'étude de la faisabilité de la digue de Foug Toub et des matériaux d'empreint a nécessité 13 puits de profondeurs de 02-03m, 6 pour la digue et 7 pour les matériaux d'empreints. Les échantillons récoltés permettent d'effectuer les essais de laboratoire physique et mécanique [2].

L'étude géotechnique effectuée est basée sur les essais en laboratoires tels que, la granulométrie, les paramètres physiques, les essais de compressibilité, les essais de cisaillement, la granulométrie-sédimentométrie, la densité et teneur en eau, analyse chimique, l'équivalent de sable et l'essai de Proctor [2].

5.- Résultats et discussion

5.1.- Hydrologie

Paramètres de forme et de relief

L'étude hydrologique entreprise dans la région a permis de calculer les différents paramètres de forme et de relief relatifs au bassin versant d'Oued Foug Toub. Ces derniers sont résumés dans le tableau I. Le bassin versant de cette retenue est allongée avec une pente assez faible et un réseau hydrographique dense d'où la faisabilité de cet ouvrage (une petite à moyenne retenue collinaire) hydraulique d'un point de vue morphologique. (fig. 4).

Tableau I.- Paramètres de forme et de relief du bassin versant d'Oued Foug Toub [2]

Paramètre	Symbole	Valeur	Unité
Surface	S	41,64	km ²
Périmètre	P	31,08	km
Longueur du talweg principal	L _p	9,62	km
Indice de compacité de Gravelus	Kc	1.36	/
Longueur du rectangle équivalent	L	12.11	km
Largeur du rectangle équivalent	I	3.44	km
Indice de pente globale	I _g	34.77	m/km
Dénivelé spécifique	D _s	224.36	M
Temps de concentration	T _c	2.89	H
Densité hydrographique	D _h	12.44	Affluents/km ²

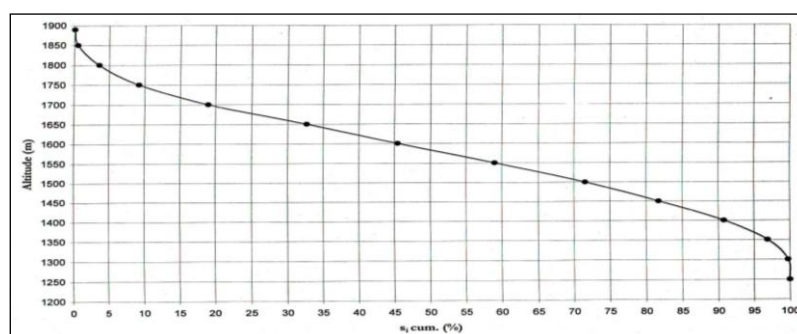


Figure 4.- Courbe Hypsométrique du bassin versant d'Oued Foug Toub [2]

Pluviométrie

La variation de l'intensité de pluie en fonction du temps pour différentes fréquences (fig. 5) est résumée dans le tableau II.

Tableau II.- Intensité de pluie en fonction du temps pour différentes périodes de retour [2]

10 ans							
Durée de la précipitation (min)	5	10	20	30	60	90	120
P_t (mm)	14.43	18.14	22.81	26.07	32.77	37.46	41.19
I_t (l/s/ha)	481.01	302.34	190.09	144.84	91.03	69.37	57.21
20 ans							
Durée de la précipitation (min)	5	10	20	30	60	90	120
P_t (mm)	18.53	23.30	29.28	33.48	42.08	48.10	52.89
I_t (l/s/ha)	617.68	388.34	244.00	186.00	116.89	89.08	73.46
50 ans							
Durée de la précipitation (min)	5	10	20	30	60	90	120
P_t (mm)	24.57	30.89	38.83	44.39	55.79	63.78	70.13
I_t (l/s/ha)	819.02	514.84	323.59	246.62	154.98	118.11	97.40
100 ans							
Durée de la précipitation (min)	5	10	20	30	60	90	120
P_t (mm)	29.66	37.28	46.86	53.57	67.34	76.98	84.65
I_t (l/s/ha)	988.69	621.35	390.51	297.62	187.06	142.56	117.57

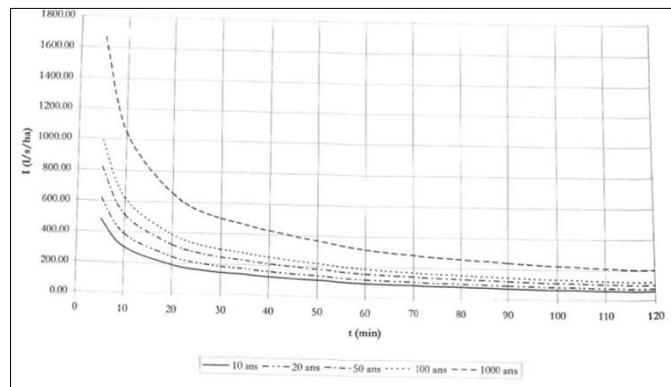


Figure 5.- Intensité de pluie en fonction du temps pour différentes périodes de retour [2]

Apport liquide et solide

L'apport moyen interannuel est estimé par la formule dite algérienne. La lame d'eau écoulee $L_e = 40,92$ mm, et l'apport moyen interannuel $\bar{A} = 1,7$ Hm³. La loi adoptée pour la détermination des apports liquides de fréquences données est la loi de GALTON [9] ou bien la distribution Log Normal [2]. Le tableau III résume les valeurs de ces apports pour des périodes de retour bien précises. L'apport moyen annuel solide de l'ordre de $T_a = 200,58$ tonne/km²/an est calculé par la formule de TIXERONT (1960) [10], sachant, qu'en Algérie, le taux d'abrasion varie de 130 à 2300 t/km²/an.

Tableau III.- Apport liquide fréquentiel [2]

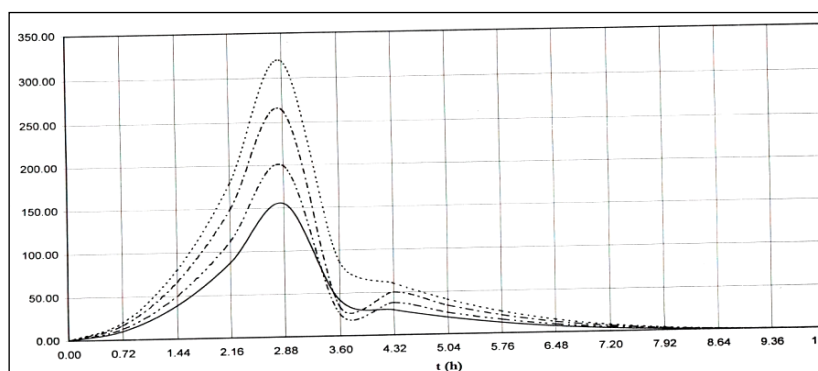
Périodes de retour (an)	100	50	20	10	5
f (%)	1	2	5	10	20
U	2,33	2,05	1,650	1,280	0,840
$\bar{A}_{f\%}$ ($10^6 m^3$)	4,28	3,79	3,18	2,70	2,23

Débit de crue

Le débit maximal de la crue est estimé par la méthode de SOKOLOVSKY [11] (tab. IV). Les valeurs de ce débit pour les différentes périodes de retour servent à l'établissement de l'hydrogramme de crue (fig. 6) qui permet de déterminer les caractéristiques de la crue: forme, volume, temps de montée et temps de décrue.

Tableau IV.- Débit maximal de la crue pour différentes périodes de retour [2]

Périodes de retour (an)	10	20	50	100
Q_{max} (m^3/s)	156.11	200.49	265.81	320.82

**Figure 6.-** Hydrogramme de crue pour différentes périodes de retour [2]

5.2.- Géotechnique

Les sédiments puisés dans les différents puits de la digue et la cuvette donnent au sommet des alluvions, des galets et des graviers polygéniques, à la base des marnes en plaquettes, frittées généralement humides, donnant au substratum les caractéristiques d'un sol imperméable. Seul un échantillon pris à la rive Ouest, présente des caractéristiques favorables à une zone d'empreint. Les autres échantillons montrent des proportions assez élevées du pourcentage de calcium, leur donnant la composition minéralogique d'une roche marneuse [2].

5. 2.1.- Les fondations

Granulométrie

Les essais granulométriques montrent que les formations profondes (1-2m) sont des sols fins argilo limoneux avec une teneur en $CaCO_3$ de 29-30%. La couche sous jacente est

constituée par des marnes dures, compactes et imperméables.

Essais de cisaillement

Les valeurs de ces essais vont dans le sens de l'implantation de cette retenue. La capacité portante indique que ce sol est bon pour un tel ouvrage (10-12m de hauteur).

Analyses chimiques

Les analyses montrent un sol non agressif, donc, le substratum ne présente aucun danger pour les fondations. Concernant l'implantation de cette digue à cet endroit, les essais de laboratoires sont favorables et convergent vers un résultat positif.

5. 2.2.- Zone d'empreint

Les essais de laboratoire: analyse granulométrique, sédimentométrie, densité et teneur en eau, équivalent de sable, essai de Proctor et analyse chimique, effectués sur les matériaux de prélèvements (n°4) retenus pour la zone d'empreint montrent les caractéristiques suivantes [2]:

Granulométrie-Sédimentométrie

L'analyse montre une courbe étalée allant des graviers à l'argile (fig. 7) avec un pourcentage des éléments fins (Argile-Limon-Sable fin de l'ordre de 72%) à diamètre compris entre 2μ et 0.2mm , et un pourcentage d'éléments grossiers (gros sables-graviers de l'ordre des 8%), avec un diamètre situé entre 2.00mm et 20mm (tab. V).

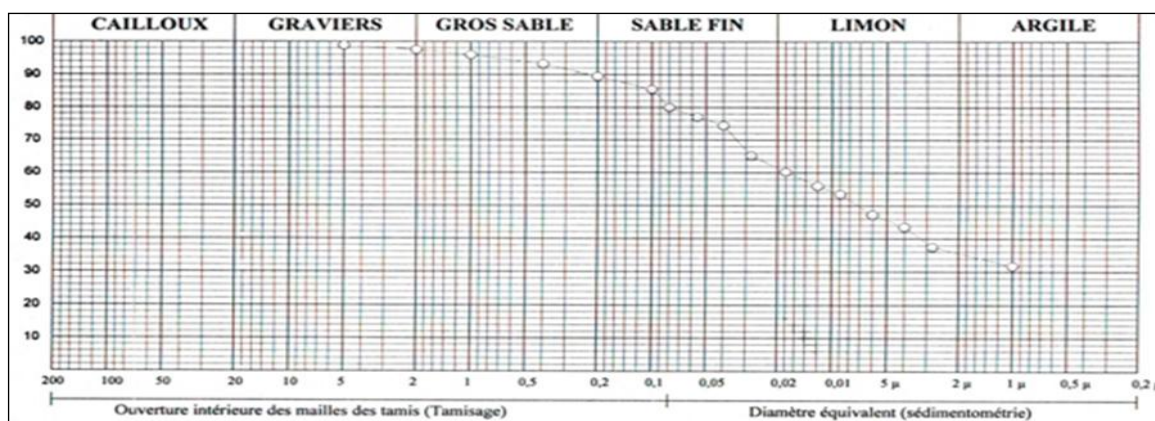


Figure 7.- Analyse granulométrique [2]

Tableau V.- Diamètres et pourcentages des différents éléments

Puits/sondages		Prélèvement n°4
Profondeur en -m-		0.5 m
Granulométrie %	0.08 mm	80.00%
Argile	$d < 2\mu$	36%

Limon	$0.02\text{mm} < d < 2 \mu$	26%
Sable fin	$0.2\text{mm} < d < 0.02\text{mm}$	28%
Gros sable	$2.00\text{mm} < d < 0.2\text{mm}$	8%
Graviers	$20\text{mm} < d < 2\text{mm}$	2%
Cailloux	$d > 2\text{mm}$	-

Densité et teneur en eau-Analyse chimique

Les analyses chimiques effectuées sur le prélèvement n° 4 montrent un sol fortement carbonaté ($\text{CaCO}_3 = 60.00\%$). Les valeurs de la densité humide ($\gamma^h = 1.58$) et la densité sèche ($\gamma^d = 1.51$), indiquent un sol moyennement dense et non saturé.

Equivalent de sable Essai de Proctor

L'équivalent de sable a donné une valeur de 35.77% indiquant un sol peu plastique, identifiant des argiles sableuses sensibles à l'eau. L'essai proctor donne une teneur en eau $W_{opt} = 12.74$ et une densité sèche $\gamma^d_{max} = 1.67\text{t/m}^3$. Ces résultats indiquent que le matériel est acceptable comme matériel d'empreint. Selon la classification RTR, ce matériel se situe en classe A_2 , regroupant des sols sableux fins argileux, limoneux, argileux et marneux peu plastiques, localisé sur les terrasses du quaternaires (fig. 8).

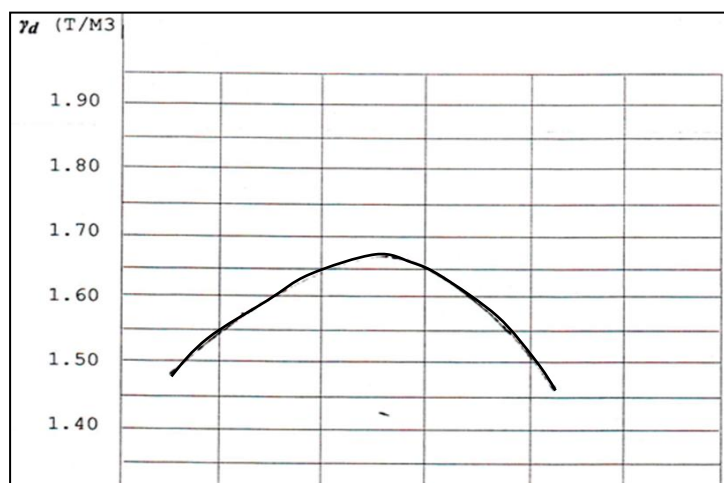


Figure 8.- Proctor normale [2]

Conclusion

L'étude hydrologique du bassin versant de Oued Foug Toub montre qu'il est petit, type allongé, ayant un relief fort et un réseau hydrographique dense. La courbe hypsométrique montre que la tranche de la surface ayant une pente modérée à assez faible est la plus importante, d'où morphologiquement, le site est convenable pour une éventuelle réalisation d'un ouvrage de retenue d'eau. Du point de vue alimentation en eau, l'apport liquide est admissible pour un petit ouvrage, mais il faut prendre en considération le taux d'abrasion qui est assez important.

Le volume d'apport solide pour la période de vie de l'ouvrage est supérieur au volume d'apport d'eau susceptible d'être emmagasiné par la retenue. De ce fait, cet ouvrage est irréalisable hydrologiquement et économiquement, compte tenu de la limite de la hauteur. Si on envisage le même site pour cette réalisation, il est recommandé d'effectuer des solutions en amont pour diminuer le taux des solides et de transformer cette retenue en un petit barrage compte tenu de l'importance des apports liquides. Les résultats géotechniques montrent que le sol présente des caractéristiques satisfaisantes pour son utilisation au niveau de la digue.

Références bibliographiques

- [1].- Djaiz F. 2011.- Le Bassin néogène de Timgad : Etudes Sédimentaire et Tectonique (Algérie nord-orientale). Thèse de doctorat ès sciences, Université de Constantine, 260 p.
- [2].- Djaiz F., Athamena M., Athamena A., 2006.- Etude de la retenue collinaire a vieux Foug Toub. Rapport pour le compte de la DHW de Batna:1-21.
- [3].- Ghandriche H., 1991.- Modalités de la superposition de structures de plissement – chevauchement d'âge alpin dans les Aurès (Algérie). Thèse de l'Université de Paris-Sud, centre d'Orsay, 189 p.
- [4].- Laffitte R., 1939. - Etude de la géologie de l'Aurès. Doctorat ès Sciences Paris, Bulletin Service Carte Géol. Algérie, 1^{re} série, n° 15, 484 p.
- [5].- Guiraud R., 1977.- Evolution post-triasique de l'avant-pays de la chaîne alpine en Algérie, d'après l'étude du bassin du Hodna et des régions voisines. Doctorat ès sciences, Nice, 270 p.
- [6].- Karnik V., 1969.- Seismicity of the European Area Part 1. Ed. Prague and Dordrecht-Holland, 364 p.
- [7].- Yelles-Chaouche A., Boudiaf A., Djellit H. et Bracene R., 2006.- La tectonique active de la région nord-algérienne. Elsevier, Comptes Rendus Géoscience: 126–139.
- [8].- E.NA.GEO., 1993. Etude géophysique par sondages électriques verticaux dans les régions de Tazoult-Timgad et Ouled Fadhel. Rapport pour le compte de la DHW de Batna: 17-27.
- [9].- Chow V.T. 1954.- The log-probability law and its engineering application. Proc. Am. Civil Eng., vol. 80: 1-25.
- [10].- Tixeront J., 1960.- Les débits solides des cours d'eau d'Algérie et de Tunisie. Etude hydrologique. Série II, Secrétariat agricole, Tunis: 117-121
- [11].- Browzin B., Pardé M., 1956.- Sur les régimes des rivières caucasiennes septentrionales. Revue de géographie alpine, 44 (3) : 539-583.

NIVEAUX PERIPHERIQUES DE PROGESTERONE CHEZ LA CHAMELLE CHAAMBI

ADAMOU Abdelkader¹ et BAIRI Abdelmadjid²

⁽¹⁾Université de Ouargla, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Laboratoire Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi-arides
30000 Ouargla, Algérie

⁽²⁾Université Badji Mokhtar, Faculté des Sciences, Département de Biologie
Annaba, Algérie. E-mail:adamoudz@yahoo.fr

Résumé.- Parmi les contraintes majeures qui se dressent en obstacle à l'épanouissement de l'élevage camelin est la reproduction. Aussi, il tenté d'approcher un aspect de l'endocrinologie par l'étude du niveau de sécrétion de la progestérone chez la chamelle Chaambi, une «race» de boucherie par excellence où il n'existe aucune information sur le profil endocrinien et qui demeure pourtant la principale population cameline en Algérie. Cinq (5) chameilles adultes de la «race» chaambi âgées entre six (6) et dix (10) ans avec un poids compris entre 250-400 kg, sont utilisées pour l'étude réalisée en période d'activité sexuelle (fin Octobre 2006 à début Janvier). Des prélèvements de sang sont opérés sur les chameilles à raison d'un prélèvement tous les deux jours et ce durant deux mois. Ensuite, il est procédé à l'introduction du mâle et les prélèvements ont continué mais à un rythme quotidien durant 20 jours (au total 50 prélèvements par chamelle). L'analyse radioimmunologique a permis de relever les résultats suivants:

- les niveaux de sécrétion sont proches des résultats rapportés dans la littérature,
- la mise en évidence de l'évolution des taux de progestérone permet la pratique d'un diagnostic très précoce de gestation basé sur le dosage de la progestérone à partir d'une période inférieure à 12 jours après la saillie,
- la courte période de la phase lutéale (neuf jours) observée chez la femelle du dromadaire permettrait un retour rapide à un stade fertile
- l'étude laisse supposer que l'état corporel a un rôle important sur la précocité de redémarrage d'une activité ovarienne en post-partum.

Mots clés: Sahara algérien, chamelle, endocrinologie, radioimmunologie, progestérone.

PERIPHERAL LEVELS OF PROGESTERONE IN THE CAMEL CHAAMBI

Abstract.- Among the major constraints that stand as an obstacle to the development of camel breeding is reproduction. Also, we tried to approach an aspect of endocrinology by studying the level of secretion of progesterone in the female Chaambi, a "race" meat of choice where there is no information on the endocrine profile and yet that remains the main camel population in Algeria. Five camels adults 'race' Chaambi aged between 6 and 10 years with a weight between 250-400 kg were used for the study period of sexual activity (October to January). Blood samples were carried on camels due to a levy every other day for two months. Then we proceeded with the introduction of the male and sampling continued but on a daily basis for 20 days (total of 50 samples per camel). The radioimmunoassay has allowed us to meet the following results:

- The secretion levels are close to results reported in the literature,
- The detection of changes in progesterone levels can practice a very early diagnosis of pregnancy based on progesterone assay from a period of less than 12 days after mating.
- The short period of the luteal phase (9 days) observed in the female camel allow a rapid return to a fertile stage.
- We study suggests that body condition had a significant role on early restart of ovarian activity postpartum.

Key words: Sahara Algerian, female dromedary, endocrinology, radioimmunoassay, progesterone

Introduction

Le problème de la reproduction demeure l'une des contraintes de l'élevage camelin. En effet, c'est un élevage à rotation lente: la femelle du dromadaire qui est une espèce saisonnière à ovulation provoquée dont la période d'activité sexuelle est courte ne produit qu'un petit tous les deux ans [1]. Et si l'on considère que la mise à la reproduction n'intervient qu'à quatre ans et que la fin de la vie économique intervient à l'âge de 20 ans, la chamelle ne donnerait durant sa carrière que sept à huit chamelons [2]. Toutes ces particularités spécifiques à l'espèce constituent un frein à l'épanouissement de l'élevage camelin. Les connaissances sur la physiologie de la reproduction chez la femelle dromadaire, sont donc indispensables en vue d'une meilleure application des biotechnologies de la reproduction. L'objectif de cette étude est de déterminer les niveaux normaux de la progestérone durant la phase oestrale et le début de gestation en vue d'établir des données basiques pour des chamelles de «race» Chaambi d'autant plus qu'à ce jour, il n'y a aucune information sur le profil endocrinien de cette «race» de chamelle qui demeure la principale population en Algérie et qui est une «race» de boucherie par excellence. Il s'agit d'un animal média ligne, musclé qui se caractérise par diverses variantes de taille et de pelage. C'est un bon animal de selle mais surtout de bât. Sa répartition va du grand erg occidental au grand erg oriental.

1.- Matériels et méthodes

L'étude est réalisée sur six chamelles de la population Chaambi âgées entre six et dix ans. Elles vivaient ensemble sur les mêmes parcours et ramenées pour la circonstance pour être tenues en stabulation durant trois mois. Leurs caractéristiques (âge, poids, ...) sont indiquées dans le tableau I. Elles recevaient comme alimentation du foin (une botte de 25 kg par jour), des écarts de tri à raison de trois kilogrammes deux fois par semaine, de l'orge (deux kilogrammes par jour) et en moyenne une fois par semaine environ 18 kg de drinn (*Stipagrostis pungens*).

Tableau 1.- Caractéristiques du matériel biologique (chamelles Chaambi)

N°Chamelle	Age (ans)	Poids (kg)	Robe	Caractère	Date dernier Chamelage	Observations
A	10	400	Marron clair	Docile	Décembre 2005	Non suivée
B	08	250	Marron clair	Docile	Janvier 2006	suitée
C	08	350	Marron foncé	Docile	Janvier 2006	Suitée
D	06	300	Marron clair	Agitée	Décembre 2005	Non suivée
E	06	250	Blanche	Très agitée	Janvier 2006	Suitée
F	08	300	Marron clair	Docile	Décembre 2005	Non suivée

Le poids a été estimé par barymétrie en optant par la méthode de Boué [3]

Le dosage de la progestérone a été déterminé par la méthode radioimmunologique après extraction par un solvant organique (fig. 1) [4].

Les calculs ont été réalisés sur logiciel RIA SMART, puis les résultats sont présentés et enregistrés dans des fichiers EXCEL (échantillon, gamme, récupération, référence).

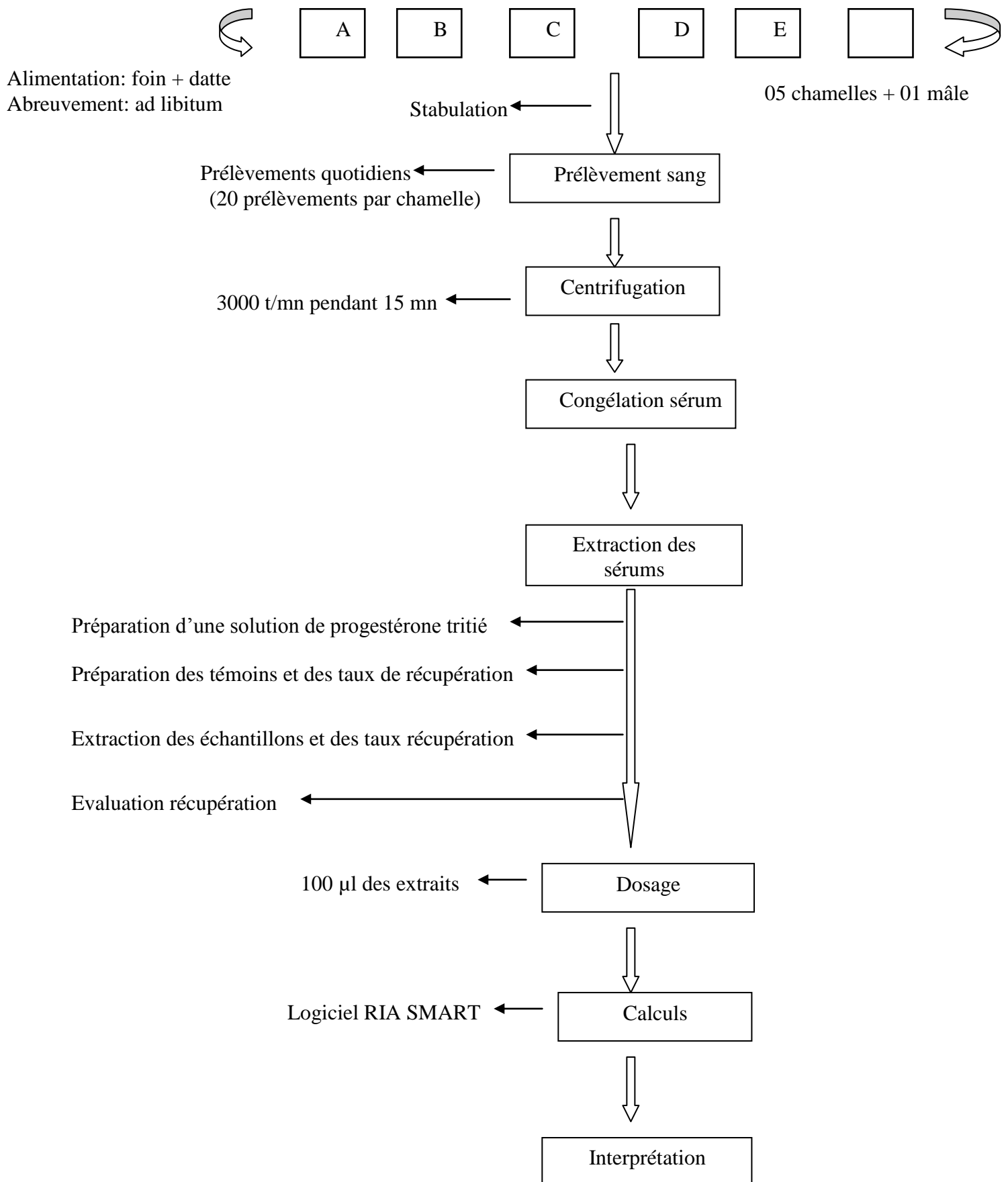


Figure 1.- Protocole du dosage de la progestérone (méthode radio-immunologique) [4]

2.- Résultats et discussion

Les prélèvements sanguins ayant subi un dosage radio-immunologique ont donné des niveaux de progestérone variables (fig. 2). Six jours après l'introduction du mâle, les niveaux de progestérone plasmatique pour l'ensemble des femelles ont donné des concentrations très faibles. Les valeurs étaient égales ou inférieures à 0.5 ng/ml. La chamelle A, a commencé une augmentation progressive à partir du 7^{ème} jour jusqu'au 9^{ème} jour pour atteindre un maximum de 2.1 ng/ml le 10^{ème} jour. Ensuite, elle a enregistré une chute brutale pour retomber à un niveau très bas de 0.2 ng/ml. Elle n'a repris sa montée que 4 jours après et a continué à s'élever pour atteindre une valeur de 4 ng/ml le dernier jour de l'expérience. Les femelles B, D et E ont conservé leur faible concentration (inférieure à 0.5 ng/ml) tout au long de la période. En effet, la littérature révèle que la progestérone a montré un niveau de base constant indiquant un cycle anovulatoire [5]. Toutefois, la chamelle E a atteint un niveau de 0.8 ng/ml après 8 jours pour rechuter ensuite à moins de 0.5 ng/ml. La chamelle, après avoir observé une faible concentration au départ, a commencé une montée à partir du 13^{ème} jour (1.1 ng/ml) pour atteindre une valeur de 2.7 ng/ml le 14^{ème} jour avant de chuter une journée après sans toutefois descendre au-dessous de 2 ng/ml. Cette fluctuation continuera pour finir par atteindre une valeur maximale de 4.1 ng/ml le 19^{ème} jour. Pour les concentrations du plasma périphérique de progestérone, bien que les données soient variables d'un auteur à l'autre, tous s'accordent sur le fait que durant la gestation, les niveaux de progestérone chez toutes les espèces de camélidés demeurent au-dessus de 2 ng/ml et qu'en l'absence d'ovulation, ces concentrations sont à leur niveau le plus faible (inférieur à 1 ng/ml). Certains auteurs parlent d'un niveau stable autour d'une valeur de 0.31 ng/ml [6].

Il est révélé également que le niveau de progestérone est très rapproché chez les femelles gravides (A et C) et non gravides (B, D et E) jusqu'à six jours; ensuite il descend au niveau basique chez les femelles non gravides et reste maintenu au-dessus de 2 ng/ml chez les femelles gestantes. Nos résultats viennent confirmer ce qui a été rapporté par la littérature: en effet, il est constaté que les 3 femelles (B, D et E), ont eu en permanence des niveaux de progestérone inférieurs à 1 ng/ml après introduction du mâle (niveaux plus proches de la valeur avancée par certains auteurs [6], alors que les chammelles C et A qui ont subi un accouplement respectivement le 6^{ème} et 13^{ème} jour après l'introduction du mâle ont des concentrations qui oscillent entre 2.2 et 4.1 ng/ml (fig. 38). Ces chiffres concordent avec certains auteurs qui constatent que la concentration moyenne en progestérone était légèrement plus élevée pendant le début de gestation et fluctue entre 4 et 5.5 ng/ml [7]. Toutefois, l'évolution de la progestéronémie observée sur les chammelles C et A est très loin des valeurs rapportées par les mêmes auteurs. Il est possible que cette faible progestéronémie observée chez la chamelle Chaambi soit un caractère spécifique de cette «race». Ce cas a été observé sur des courbes hormonales suite à des études entreprises sur des races de femelles zébus où des valeurs maximales de la progestéronémie varient entre 7.3 et 13.2 ng/ml chez les N'dama alors qu'elles ne varient que de 5.6 à 10.2 ng/ml chez les zébus Gobra [8].

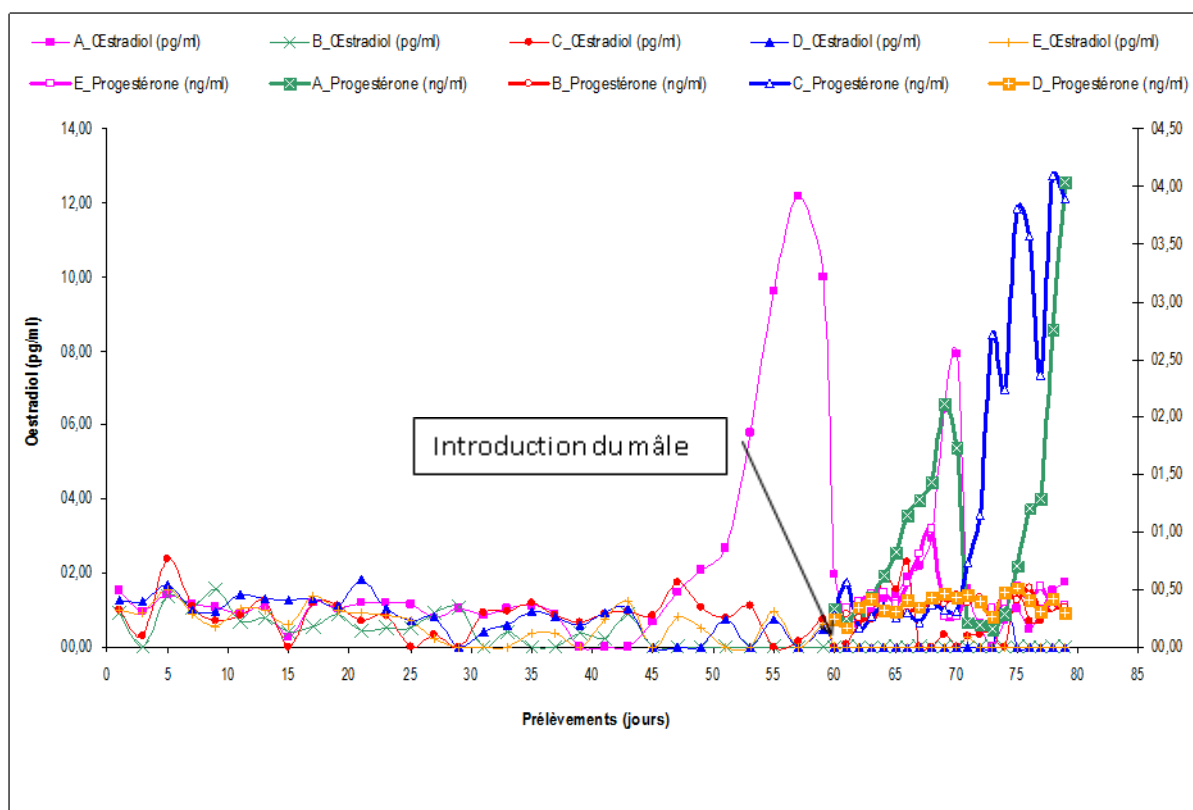


Figure 2.- Niveaux d'oestradiol 17 β et de progestérone sérique périphérique chez les 5 chamelles

Nos résultats se rapprochent de certains auteurs qui mentionnent que la progestéronémie s'élève 3 j après l'accouplement et reste élevée jusqu'au 12^e jour [9]. Chez le lama, une élévation du niveau de progestérone a été également observée 5 jours après l'accouplement [10]. Chez l'alpaca également, l'élévation de la progestérone a été constatée à partir du 4^eme jour après l'accouplement [11]. L'allure de la courbe observée sur la chamelle C se rapproche de très près des résultats de recherche de Skidmore qui a observé que le niveau de concentration de la progestérone reste très faible 3 à 4 jours après ovulation, puis augmente pour atteindre un pic de 3 ng/ml au 8-9^eme jour après l'ovulation pour enregistrer ensuite une chute brutale au 10-11^eme jour [12]. Par ailleurs, on ne relève pas une variation entre les deux chamelles A et C qui présentaient des taux semblables. On remarque également que les résultats de la progestéronémie observés pour les chamelles A et C sont supérieurs à ceux relevés sur le chameau de Bactriane où le niveau des concentrations a atteint 1.71ng/ml 3 jours après l'ovulation et a continué à augmenter pour atteindre une valeur de 2.4 ng/ml le 7^eme jour après l'ovulation [7], alors que chez l'alpaca, le niveau de la progestéronémie s'élève un jour environ après l'ovulation et ce pendant 5 jours pour atteindre un plateau qui dure 5 jours [9]. Après introduction du mâle, des ovulations ont été observées (chamelles A, C et E).

La présence du mâle dans le lot des femelles aurait influencé le fonctionnement ovarien par une décharge importante des gonadotropines hypophysaires qui seraient responsables de l'ovulation [6], Ceci est confirmé par le niveau élevé de sécrétion de la progestérone. Les femelles B et D qui avaient subi une saillie chacune durant les 20 jours de l'expérience n'ont pas enregistré d'ovulation. Nous pouvons donc avancer qu'une seule saillie n'est pas suivie systématiquement d'une ovulation. Les travaux entrepris montraient

qu'une saillie sur deux ne provoquait pas d'ovulation [6].

Concernant le test de gestation par estimation du niveau de progestérone dans le plasma du sang périphérique, nous avons essayé de comparer le niveau de progestérone d'une femelle au début de gestation (Chamelle C) et celui d'une autre femelle ayant développé un corps jaune à la suite d'une saillie stérile (chamelle A). Il ressort de nos résultats qu'il serait possible de poser un diagnostic de non gestation à partir du 13^{ème} jour post-coïtum et ce jusqu'au 15^{ème} jour. En effet, l'évolution de la progestéronémie illustrée par la figure 3 montre une différence dans les deux situations durant cette période (une moyenne de 0.4 ng/ml contre 3.2 ng/ml).

Pour l'estimation de la durée de vie fonctionnelle du corps jaune, nous nous sommes basés sur les seules estimations du niveau de progestérone pour tester l'existence d'une formation lutéale.

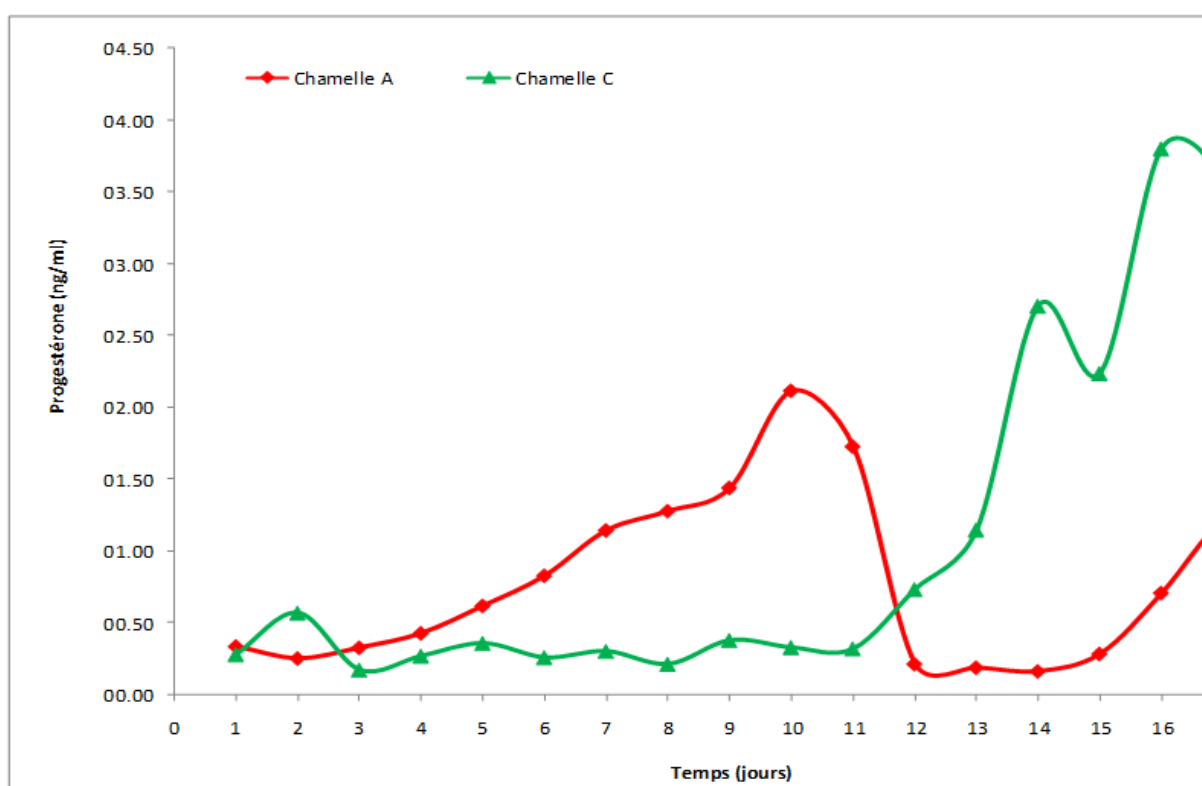


Figure 3.- Evolution de la progestéronémie chez une femelle après une saillie fécondante et une saillie stérile

La durée de vie du corps jaune est reflétée par l'évolution de la progestéronémie après une saillie, la phase lutéale ne débutant normalement qu'à partir du moment de l'ovulation.

Si on observe l'évolution du niveau de progestérone chez la femelle du dromadaire non gestante après un accouplement (fig. 4), nous pouvons constater l'existence de deux périodes bien distinctes:

- une première période où l'on enregistre une augmentation progressive du niveau de progestérone (de 0.3 ng/ml à 2.1 ng/ml) correspondant à la phase lutéosécrétion caractérisée par la transformation du follicule en un corps jaune et son développement,

- une seconde période où l'on enregistre un déclin rapide du niveau de la progestérone correspondant à la phase de lutéolyse.

Sur la base des résultats de dosage de progestérone que nous avons effectué, nous pourrions estimer la durée de vie du corps jaune. Sachant que l'ovulation chez la femelle du dromadaire se produit 36 heures après la saillie [13] et que chez la femelle du chameau la durée est de 30 à 40 heures après la saillie [14] et tenant compte des variations entre les individus, nous avons opté, à l'instar des collègues qui ont travaillé sur des « races » maghrébines, pour une période de 48 heures post-coïtum. La figure 3 illustre donc la durée de vie du corps jaune à 9 jours (intervalle moment d'ovulation - fin de lutéolyse). L'intervalle entre deux saillies est de 12 jours. Le profil de la progestéronémie enregistre un pic (2.2 ng/ml le 10^{ème} jour). Des observations similaires ont été rapportées dans le cas de la chamelle (chameau de Bactriane) [14]. Ce résultat ne concorde pas avec celui trouvé par Assouel qui trouve une durée de vie du corps jaune de 12 jours et le profil de la progestéronémie rapporté par l'auteur n'est pas uniforme [6]. En effet, deux pics ont été observés (1.6 ng/ml le 7^{ème} jour et 5.6 ng/ml le 15^{ème} jour) au lieu d'un seul pic que montre normalement un corps jaune. Notre résultat se rapproche le plus du résultat avancé d'une durée de 9 jours [6]. Si l'on compare ce résultat avec les autres camélidés, nous constatons que la durée de vie du corps jaune est relativement courte chez la femelle du dromadaire. En effet, chez la femelle du chameau, elle serait de 10 à 15 jours [15]. Nous pouvons donc conclure que cette courte durée de la phase lutéale après une saillie non fécondante revêt un avantage pour la femelle du dromadaire au vu d'un retour plus rapide à un stade fertile. En effet, durant notre expérience, nous avons remarqué que la chamelle A a subi une première saillie le premier jour de l'introduction du mâle, saillie qui s'est avérée non fécondante. Elle a subi ensuite une seconde saillie, donc deux saillies consécutives avec une ovulation chacune en l'espace de 13 jours (fig. 4).

Par ailleurs, au vu de cette courte période de vie du corps jaune et en l'absence des signes de pseudo gestation, nous pouvons penser à l'inexistence de la pseudo-gestation après une saillie non fécondante. Cette hypothèse a été confirmée déjà auparavant.

A la fin, il ressort que les 5 chamelles se répartissent en 2 groupes :

- Un premier groupe de 3 femelles (B, D et E) a eu en permanence des niveaux de progestérone inférieurs à 1 ng/ml après introduction du mâle. Ces femelles étaient en anaoestrus post-partum et elles n'ont pas repris leur activité ovarienne pendant la durée de l'expérience. De façon intéressante, ce sont des femelles de petit poids (250 à 300 kg), suggérant que leur état corporel a retardé la reprise d'une activité ovarienne chez ces animaux.
- Un deuxième groupe de chamelles (A et C) a montré des signes d'activité ovarienne et d'ovulation. Ces deux femelles sont plus lourdes que les précédentes (350 et 400 kg). Suite à l'introduction du mâle, la femelle A a eu une ovulation, comme le montre la montée de progestérone pendant 8 jours. Il s'agit d'un cycle court, qui a été suivi d'une deuxième ovulation, avec une montée importante de progestérone montrant que cette femelle a démarré une gestation à ce moment.

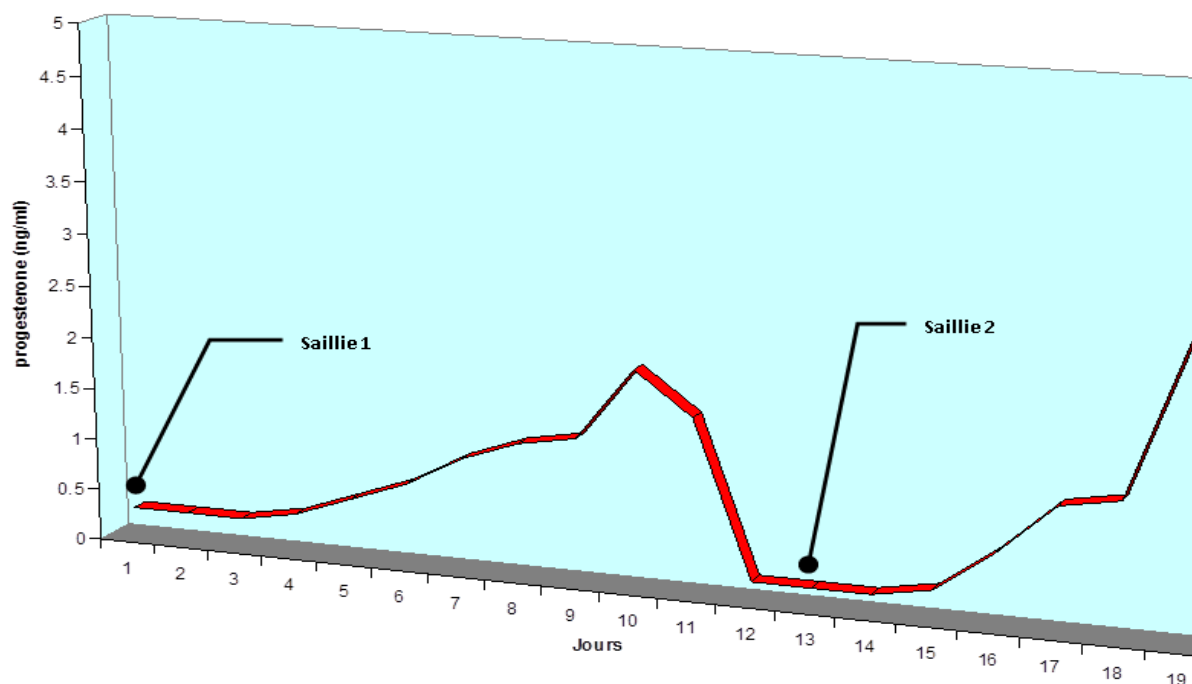


Figure 4.- Progestéronémie entre deux saillies chez la chamelle A

La femelle C a montré une petite montée d'œstradiol après la mise au mâle, puis une montée importante de progestérone, témoignant qu'une ovulation s'est produite démarrant ainsi une gestation.

Les calculs ont été réalisés sur logiciel RIA *SMART* puis les résultats sont présentés et enregistrés dans des fichiers EXCEL (échantillon, gamme, récupération, référence).

Conclusion

La présente étude nous a permis d'établir les caractéristiques chez la chamelle Chaambi des profils de sécrétion de la progestérone au cours de l'évolution du corps jaune.

Les niveaux de concentrations de la progestérone sont très proches de la littérature qu'il s'agisse de l'allure des courbes ou des valeurs obtenues. La mise en évidence de l'évolution des taux de progestérone permet la pratique d'un diagnostic très précoce de gestation basé sur le dosage de la progestérone à partir d'une période inférieure à 12 jours après la saillie. Un nouvel accouplement peut être également réalisé dans la même période après une saillie non fécondante. La courte période de la phase lutéale (neuf jours) observée chez la femelle du dromadaire permettrait un retour rapide à un stade fertile lui donnant ainsi un avantage par rapport aux autres espèces à ovulation provoquée. Par ailleurs, il a été observé également qu'une seule saillie n'est pas toujours suivie d'une ovulation. A notre avis, l'état corporel a eu un rôle important sur la précocité de redémarrage d'une activité ovarienne en post-partum. Ceci est bien connu chez les bovins, par exemple. Peut-être suffirait-il d'améliorer l'alimentation des chamelles en post-partum pour avancer le démarrage d'une gestation ?

Ces travaux, limités à une hormone majeure, s'ils n'apportent, à la lumière de ces résultats, qu'une première lecture sur un aspect de l'endocrinologie chez la chamelle

Chaambi au vu des conditions de travail très contraignantes dans les conditions algériennes actuelles, demandent à être repris et approfondis.

Références bibliographiques

- [1].- Adamou A. et Faye B., 2007.- L'élevage camelin en Algérie: contraintes et perspectives, In: Les cahiers du CREAD. Centre de Recherche en Economie Appliquée pour le Développement, CREAD, Algérie, 80 p.
- [2].-Adamou A., 2012.- Comparison of carcass yield in two Algerian camel populations: the Targui and the Sahraoui. 3rd Conference of the International Society of Camelid Research and Development (ISOCARD), Organized by Département of Animal and Veterinary Sciences College of Agricultural and Marine Sciences, Sultan Qaboos University, Pp 77.
- [3].- Boue A., 1949.- Essai de barymétrie chez le dromadaire nord-africain. Revue Elev. Med. Vét. Pays Trop., 3 (1): 13-16.
- [4].- Saumande J., Tamboura D. et Chupin D., 1985.- Theriogenology. 23. 719-731.
- [5].- Agarwal S. P. and Khanna N. D., 1990.- Endocrine profiles of the indian camel under different phases of reproduction. in: Actes de l'atelier "peut-on améliorer les performances de reproduction des camelins?", Etudes et Synthèses de l'IEMVT, Paris: 77-104.
- [6].- Anouassi A., 1984.- Activité lutéale chez la chamelle non gestante (*Camelus dromedarius*). Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan 2, Maroc, 72 p.
- [7].- Tibary A. and Anouassi A., 1997.- Theriogenology in camelidae: anatomy, physiology, pathology and artificial breeding. Veterinary Research Centre, Abu Dhabi, United Arab Emirates, 489 p.
- [8].- M'Baye M., Diop P. E. H., N'Diaye M., 1989.- Analyse des caractéristiques de la reproduction chez les ruminants: étude du cycle sexuel chez les vaches de race sénégalaise In: Deuxième atelier de travail sur la reproduction du bétail trypanotolérant en Afrique occidentale et centrale, Banjul (Gambie), FAO RAF/88/100: 52-53.
- [9].- Thibault C., Levasseur M. C., 1993.- La reproduction chez les mammifères et l'homme. Ed. INRA/Ellipses, Paris, 936 p.
- [10].- Leon J. B., Smith B. B., Timm K. I., Lecren G., 1990.- Endocrine changes during pregnancy, parturition and the early post-partum period in the lama (*Lama glama*). J. Reprod. Fert., 88: 503-511.
- [11].- Sghiri A., Driancourt M.A., 1999.- Seasonal effects on fertility and ovarian follicular growth in camels (*Camelus dromedarius*). Animal Reproduction Science, 55: 223-237.
- [12].- Skidmore. J. A., Billah M. and Allen W. R., 1996.- Patterns of hormone secretion

throughout pregnancy in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). Journal of reproduction fertility and development, 8: 863-869.

- [13].- Wiliamson G. and Payne W., 1978.- Introduction to animal husbandry in the tropics. Ed. London Longmans, 755 p.
- [14].- Chen B. X. and Yuen Z. X., 1984.- Pregnancy diagnosis by rectal examination in the Bactrian camel in: W. R. Cockrill (Ed): the camelid an all-propose animal. Scand. Instit. Afric. Sudies. Uppsala, Sweden: 399-406.
- [15].- Gao Y. E., Xu Y. S., Wang H., Zeng G and Giang G., 1983.- Changes in the peripheral plasma LH, progesterone and 17beta oestradiol level before and after ovulation induced by semen in bactrian camel. Final report IFS, 595: 1-11.

EFFET DE LA POLLUTION ATMOSPHERIQUE PAR LES HYDROCARBURES SUR LE LICHEN *Xanthoria parietina* (L.) Th (TELOSCHISTACEAE) DANS LA ZONE DE HASSI MESSAOUD (SAHARA SEPTENTRIONAL EST ALGERIEN)

KHELIL Rahma¹, OULD EL HADJ-KHELIL Aminata¹, DADAMOUSA Belkeir¹, CABELLO-HURTADO Francisco² et ESNAULT Marie-Andrée².

⁽¹⁾ *Laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi-Arides*
Université de Ouargla, 30000 Ouargla, Algérie

⁽²⁾ *UMR Ecobio 6553, Université de Rennes 1*
Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France

Résumé.- *Le présent travail porte sur la bio-détection de la pollution atmosphérique par les hydrocarbures dans la zone de Hassi Messaoud située dans la région de Ouargla (Sahara septentrional Est algérien). Les lichens prélevés sur leur support dans le nord-est de l'Algérie (Annaba), sont utilisés comme modèle biologique pour évaluer les effets de cette pollution par transplantation pendant 75 jours. Les teneurs en composés solubles dans l'hexane (CSH) au niveau des transplants lichéniques augmentent puis diminuent au cours du temps d'exposition. La teneur en chlorophylle diminue en fonction de la période d'échantillonnage. Les modifications observées au cours du temps pourraient avoir pour origine deux causes, la pollution atmosphérique d'une part et la déshydratation des thalles sous l'effet de la température du milieu d'autre part.*

Mots-clés : *Lichen, transplantation, pollution atmosphérique, hydrocarbures.*

THE EFFECT OF AIR POLLUTION BY HYDROCARBONS ON THE LICHEN *XANTHORIA PARIETINA* (TELOSCHISTACEAE) IN THE AREA OF HASSI MESSAOUD (SOUTH-EASTERN ALGERIA)

Abstract.- *This work is focused on bio-detection air pollution by hydrocarbons in the area of Hassi Messaoud Ouargla region (Northern Sahara Algerian East). Lichens collected on their support in the northeast of Algeria (Annaba), are used as a biological model to assess the effects of this pollution transplantation for 75 days. The levels of soluble compounds in hexane (CSH) at the lichen transplants increase and then decrease during the exposure time. With respect to the chlorophyll content, it decreases as the sampling period. The changes observed over time could have originated two causes of air pollution on the one hand and dehydration thalli under the effect of the temperature of the other areas.*

Key words: *lichen, transplantation, air pollution, hydrocarbons.*

Introduction

L'exploitation des gisements de pétrole qui n'a cessé d'augmenter avec l'avènement de l'ère industrielle au XIX^{ème} siècle, entraîne des risques de pollution (accidentelle et chronique) pouvant influencer l'équilibre écologique et parfois entraîner la destruction de l'écosystème [1]. La nécessité d'estimer les quantités présentes, de contrôler l'accumulation des produits pétroliers, leur transformation et leur devenir, comme d'en estimer l'impact sur la flore, la faune et l'environnement devient une priorité. Toutefois, les processus d'analyse des compartiments abiotiques sont lourds et onéreux à mettre en œuvre [2]. C'est pourquoi la recherche d'espèces bio-indicatrices et/ou bio-accumulatrices a fait l'objet de nombreux

travaux [3,4].

GARREC et VAN HALUWYN (2002) définissent la bio-surveillance végétale comme l'utilisation d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes à tous les niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement et pour en suivre l'évolution. Pour l'évaluation de la pollution de l'air, les organismes ou organes bio-indicateurs et/ou bio-accumulateurs les plus communément appliqués sont les aiguilles de pin [5], les algues marines [6], les lichens et les mousses [7, 8, 5, 9,10].

Les lichens sont très dépendants de la qualité de l'air et des eaux de pluie d'où ils tirent leur alimentation. Ils sont peu sensibles aux pics de pollution, ce sont des organismes intégrateurs d'une pollution de fond [11]. Ils peuvent donc nous informer sur la qualité de l'air. Ils ont été largement testés comme bio-indicateurs et/ou bio-accumulateurs de la pollution atmosphérique au cours des 40 dernières années depuis les travaux de HAWKSORTH et ROSE en 1970 comme indicateurs de la concentration en SO₂ [12, 13,14].

Récemment, les lichens ont été utilisés pour la bio-surveillance de la contamination par les oligo-éléments en Italie, dans la Province de Pise [15] et en Vénétie [16, 17], pour étudier l'effet de la pollution liée aux activités industrielles en Argentine [18], de la contamination par les métaux lourds en zone subarctique [14, 19] et pour la détermination de la concentration en zinc dans l'Ouest de l'Irlande [6] et en Finlande [20]. Ils ont également été choisis comme bio-indicateurs des hydrocarbures aromatiques totaux (HAP) [5] et se sont révélés accumuler des concentrations de HAP plus élevées que les aiguilles de pins [21].

L'objectif de la présente étude est donc de rechercher une espèce végétale pouvant être bio-indicatrice des niveaux de concentration en hydrocarbures totaux dans un contexte de bio-surveillance. Le choix s'est porté sur un lichen connu comme bio-indicateur du degré de pollution atmosphérique d'où il a été transplanté dans la zone de Hassi Messaoud afin d'évaluer son utilisation potentielle sur une période de 75 jours.

1.- Matériel et méthodes

L'étude a été réalisée dans la localité de Hassi Messaoud (HMD). Aucun lichen de grande taille n'étant présent dans cette zone saharienne, pour cela nous avons choisi d'introduire une espèce bien répandue dans les forêts du nord de l'Algérie (Annaba) comme exemple. Cette méthode avait l'avantage de permettre une introduction de l'espèce sur son support donc sans léser l'échantillon. L'objectif était de déterminer si dans les conditions sahariennes, l'espèce pouvait continuer à se développer pendant le temps d'exposition pour être une espèce utilisable en bio-indication.

L'espèce lichénique retenue est une espèce largement répandue, récoltée au niveau de la localité d'El Chut dans la région d'Annaba (Algérie). Il s'agit du *Xanthoria parietina* (L.) Th. (Teloschistaceae), espèce à thalle foliacé, nitrophile se développant sur différents phorophytes et notamment sur le caroubier *Ceratonia siliqua* L. (Fabaceae) qui a été retenu pour la transplantation. Les branches recouvertes de thalles sont prélevées puis fixées à l'aide d'une ficelle à une hauteur de 1,5 m du sol.

A chaque échantillonnage ou prélèvement, quelques thalles sont détachés du phorophyte à l'aide d'un couteau. Les échantillons sont placés dans des sachets en plastique, afin de limiter les pertes d'eau par évapotranspiration jusqu'à l'arrivée au laboratoire. Les prélèvements ont lieu tous les 15 jours pendant 75 jours. Les thalles transplantés sont tous prélevés le même jour et soumis aux dosages des CSH et de la chlorophylle.

Pour une connaissance des niveaux de pollution dans une zone d'étude, il est important de mettre en place un réseau d'échantillonnage en essayant de choisir des sites en nombre suffisant et répartis autour de la source de pollution. Le nombre de sites doit être plus important sous les vents dominants et plus réduits dans les autres directions [22]. Pour couvrir la zone d'échantillonnage, huit sites sont choisis à Hassi Messaoud, dont 3 sites au niveau du Centre Industriel Naili Abdelhalim (CINA) au Nord de Hassi Messaoud, un site au niveau de la zone industriel au centre de Hassi Messaoud, 4 sites au niveau des cités à densité de population élevée de Hassi Messaoud (cité 1850 logements, cité 136 logements, cité Bouamama et en fin la cité 1666 logements), pour avoir un totale de 8 sites.

Il est à noter qu'il est procédé au dosage de tous les composés solubles dans l'hexane y compris les hydrocarbures (dosage indirecte des hydrocarbures).

Les composés solubles dans l'hexane (CSH) sont obtenus par extraction au soxhlet. La phase organique présente dans la masse biologique est ainsi extraite dans le solvant organique (N-hexane). Dans une cartouche en cellulose préalablement conditionnée à l'hexane (pendant 4 heures), 0.5 g de thalles de lichens sont additionnés de 1g de sulfate de sodium anhydre pour éliminer toute trace d'eau. L'extraction est effectuée avec 100 ml de N-hexane. Le tout est mis dans l'extracteur soxhlet placé sur une plaque chauffante à la température d'ébullition du N-hexane (70°C), durant 3 à 4 heures. Une éprouvette contenant une solution concentrée de NaOH, est reliée au dispositif d'extraction par un tuyau servant à l'échappement des gaz toxiques. Après extraction, les composés sont quantifiés dans un creuset par gravimétrie. L'hexane est évaporé au bain-marie, puis dans un dessiccateur contenant du gel de silice pendant 30 min. La teneur en composés solubles dans l'hexane est exprimée en mg.g^{-1} de matière sèche de thalle lichénique [23].

La quantification de la chlorophylle est effectuée en utilisant la méthode établie par LICHTENTHALER et WELLBURN (1983). Pour cela, 0.5 g de thalle sont pesés puis broyés au mortier en présence de 5 ml d'acétone à 80%. Le mélange obtenu est centrifugé 15 min à 4100 tours.min⁻¹, puis le surnageant est récupéré. L'absorbance (A) est mesurée au spectromètre à 663 nm et 645 nm. Pour calculer les quantités de chlorophylle a et b (Chl a, Chl b), les équations ci-dessous sont utilisées [24]:

- Teneur en chlorophylle a ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)

$$\text{Chl a} = 12,21 A_{663} - 2,81 A_{645}$$

- Teneur en chlorophylle b ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)

$$\text{Chl b} = 20,13 A_{645} - 5,03 A_{663}$$

- Teneur en chlorophylle totale ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)

$$C = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

2.- Résultats

2.1.- Variations des teneurs en composés solubles dans l'hexane (CSH)

Lors de leur installation, les lichens prélevés de la région de Annaba (El chut), une zone loin de toute source de pollution ou *Xanthoria parietina* se développe considérablement, cette espèce végétale renferme une quantité de $5600\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS de GSH qui est retenue comme valeur témoin de la présente étude (T0 avant transplantation). Après transplantation, quelle que soit la date de prélèvement les teneurs en CSH dépassent celles de l'échantillon témoin et fluctuent dans le temps (fig. 1).

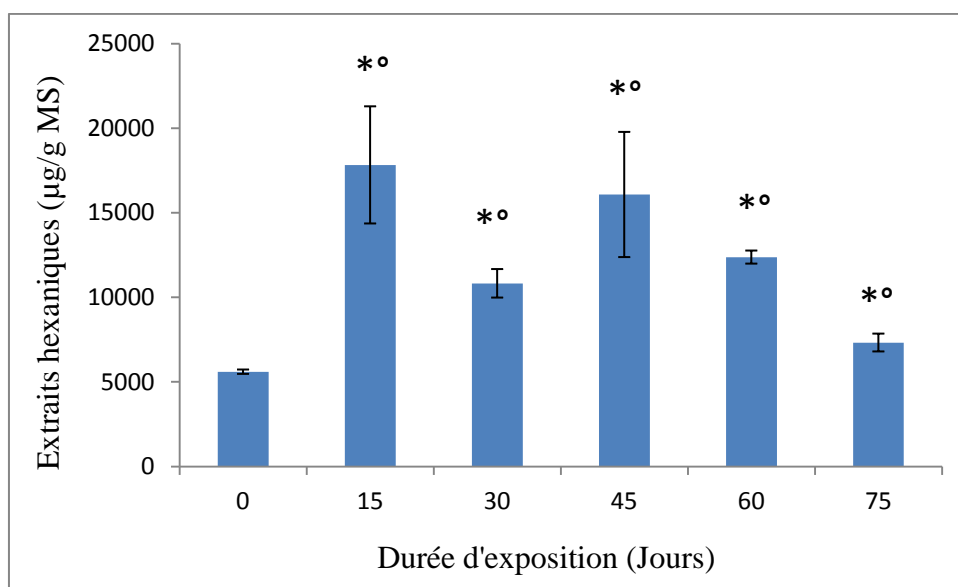


Figure 1.- Evolution des teneurs en composés solubles dans l'hexane (CSH) aux différents temps de prélèvement. La barre sur les histogrammes correspond à l'écart standard à la moyenne. Un test de student (*) et un test de Mann-Whitney (°) ont été utilisés pour comparer les mesures par rapport au témoin ($p < 0,05$).

Les lichens accumulent les CSH en fonction de la durée d'exposition jusqu'à une certaine limite. Le maximum d'accumulation est atteint après 15 jours d'exposition avec une teneur moyenne de $17825\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, soit une augmentation d'un facteur 3,1. Après ce maxima, il y a eu globalement une diminution avec des fluctuations des teneurs en CSH. En fin d'expérimentation (après 75 jours), celles-ci tendent à un retour aux valeurs initiales.

2.2.- Variation de la teneur en chlorophylle

Les teneurs en chlorophylle subissent une régression remarquable dans la zone d'étude, depuis le témoin qui montre une valeur de chlorophylle totale de $5,79\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS jusqu'à la valeur de $1,87\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS à la fin de l'expérimentation (fig. 2).

3.- Discussion

La zone de Hassi Messaoud, située à proximité des torchères d'exploitation pétrolière qui représentent une source d'émission d'hydrocarbures, présente des teneurs en

composés solubles dans l'hexane qui varient au cours de l'expérimentation. L'origine de ces composés solubles dans l'hexane peut être liée à cette pollution mais elle peut également provenir du végétal lui-même. En effet, l'hexane extrait également des molécules synthétisées par les lichens [25]. Toutefois, les lichens ayant une croissance extrêmement lente en raison de quelques millimètres par an, l'augmentation des teneurs en CSH dans les extraits après exposition sur une période relativement courte (75 jours) pour ces espèces, pourrait montrer que l'origine de ces composés serait plutôt liée à la pollution. De plus, la bio-accumulation, définie comme la somme des absorptions d'un polluant par voie directe pour une espèce végétale, est bien connue chez les lichens [26]. Ces phénomènes d'accumulation seraient dus aux particularités physiologiques des lichens qui ont la capacité de stocker les contaminants dans leurs tissus [27]. Pour cela, ils sont utilisés pour la mesure intégrée de la concentration des contaminants dans l'environnement. En effet, chez les lichens, le polluant ne jouerait pas de rôle fondamental dans le métabolisme et semble être stocké à l'intérieur des cellules. Lorsque sa concentration devient toxique pour la cellule, celle-ci est détruite ce qui se traduit par des symptômes de nécrose et des décolorations qui gagnent progressivement toutes les parties du thalle [11]. Des phénomènes d'adsorption et désorption des contaminants impliquant probablement majoritairement des phénomènes passifs expliqueraient les teneurs en polluants relevées dans les études de ce type [28]. Cette accumulation a été démontée dans le cas de la pollution aux hydrocarbures aromatiques polycycliques [4]. Toutefois, les mécanismes impliqués n'étant pas connus, il convient de rester prudent dans l'interprétation des résultats à l'instar de LOPPI *et al.* (2002, 2010) [29, 30].

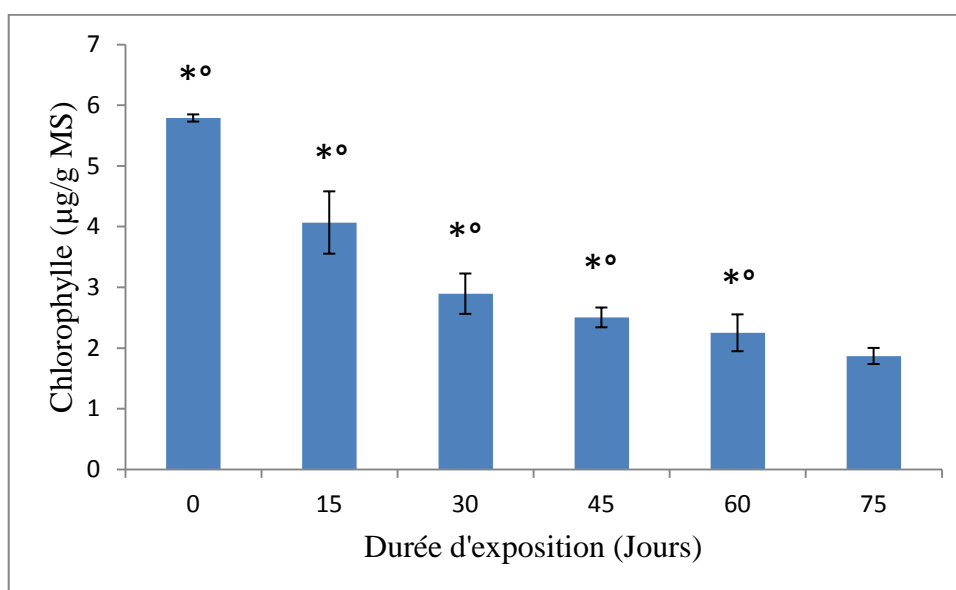


Figure 2.- Evolution de la teneur en chlorophylle des différents temps de prélèvement. La barre sur les histogrammes correspond à l'écart standard à la moyenne. Un test de student (*) et un test de Mann-Whitney (°) ont été utilisés pour comparer les mesures par rapport au témoin ($p < 0,05$).

La teneur en pigments foliaires constitue une des principales signatures de l'état physiologique des plantes. Ils permettent l'assimilation de l'énergie lumineuse par la plante, interviennent lors de sa croissance et la protègent contre une multitude de facteurs tout au long de sa vie. La chlorophylle, principal pigment foliaire, est souvent utilisée comme indicateur pour évaluer le rendement potentiel d'une culture, la biomasse d'une forêt, pour

détecter des carences nutritionnelles ou encore comme témoin pour divers types de pollution. Les teneurs en chlorophylle enregistrées à la fin de l'expérimentation sont très faibles. Ces valeurs diminuent au cours de la durée d'exposition et se traduisent par une décoloration des lobes des thalles, qui atteint par la suite tout le thalle en fonction de l'intensité de la pollution. Ces résultats peuvent être le témoin de la sensibilité de la photosynthèse et de la teneur en chlorophylle dans des conditions de pollutions. La quantification de la chlorophylle est largement utilisée pour évaluer l'état des échantillons et fournir une indication précoce du stress physiologique [31, 32]. Ainsi, elle a été utilisée pour montrer la tolérance et les effets chroniques de métaux lourds et autres xénobiotiques dans les lichens [33, 34, 35]. D'après DERUELLE et LALLEMANT (1983), des observations microscopiques montrent une plasmolyse progressive des cellules algales sous l'effet de la pollution qui perdent finalement leur coloration verte, à cause de la destruction des chlorophylles transformées en phaeophytine avant une dégradation complète de tous les pigments y compris les carotènes et les xanthophylles. La dégradation des chlorophylles en phaeophytine a d'ailleurs été utilisée comme une mesure des dommages causés par des concentrations élevées en SO₂ dans les lichens ou pour l'évaluation des effets de la pollution en métaux lourds dans les lichens épiphytes transplantés [36, 37]. Une étude à grande échelle des lichens a montré que la capacité de la photosynthèse est fortement corrélée à la concentration de la chlorophylle a [38].

Conclusion

Les lichens accumulent les polluants hydrocarbonés sur un intervalle de temps bien déterminé (75 jours). Suite aux résultats obtenus dans la présente étude et compte tenu des travaux antérieurs, *Xanthoria parietina* pourrait être une espèce modèle pour l'étude de la bio-accumulation des polluants hydrocarbonés. Les teneurs en composés solubles dans l'hexane accumulées par cette espèce ainsi que les résultats sur la teneur en chlorophylle, sont probablement dues, d'une part, aux facteurs intrinsèques propres à l'espèce étudiée (pouvoir accumulateur de *Xanthoria parietina*) et d'autre part, aux facteurs climatiques de la zone d'étude. Cependant, l'usage des lichens pour la bio-surveillance végétale pour estimer la qualité de l'air apparaît très limité dans le temps vu les conditions climatiques en zone saharienne caractérisée par des fortes températures et une faible humidité. Pour cela, nous suggérons d'élargir cette approche par l'utilisation d'autres modèles de bio-surveillance comme les végétaux supérieures locaux déjà adaptant aux conditions climatique désertique. Citant le palmier dattier comme bio-indicateurs et bio-accumulateurs de la pollution atmosphérique en zones arides et semi arides.

Références bibliographiques

- [1] - Soltani M., 2004.- Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram-négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, 284 p.
- [2] - Sanderson E.G., Ragbi A., Kyskocil A., Farant J.P., 2004.- Comparaison of particulate polycyclic aromatic hydrocarbon profiles in different regions of Canada. Atmospheric Environment, 38: 3417-3429.
- [3]- Wolterbeek B., 2002.- Biomonitoring of trace element air pollution: principles, possibilities and perspectives. Environmental Pollution, 120: 11-21.

- [4]- Guidotti M., Stella D., Owczarek M., De Marco A., De Simone C., 2003.- Lichens as polycyclic aromatic hydrocarbon bioaccumulators used in atmospheric pollution studies. *Journal Chromatography (A)*, 985: 185-190.
- [5]- Migaszewski Z.M., Galuszka A., Paslawski P., 2002.- Polynuclear aromatic hydrocarbons, phenols, and trace metals in selected soil profiles and plant bioindicators in the Holy Cross Mountains South-Central Poland. *Environmental International*, 28: 303-313.
- [6]- Stengel D.B., Macken A., Morrison L., Motley N., 2004.- Zinc concentrations in marine macro algae and lichen from Western Ireland in relation to phylogenetic grouping habitat and morphology. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 902-909.
- [7]- Gerdol R., Bragazza L., Marchesini R., 2002.- Element concentrations in the forest moss *Hylocomium splendens*: variation associated with altitude, net primary production and soil chemistry. *Environment Pollution*, 166: 129-135.
- [8]- Gerdol R., Bragazza L., Marchesini R., Medici A., Pedrini P., Benedetti S., Bovolenta A., Coppi S., 2002.- Use of moss (*Tortula muralis* Hedw.) for monitoring organic and inorganic air pollution in urban and rural sites in Northern Italy. *Atmospheric Environment*, 36: 4069-4075.
- [9]- Zhang Zh. H., Chai Z. F., Mao X. Y., Chen J.B., 2002.- Biomonitoring trace element atmospheric deposition using lichens in China. *Environmental Pollution*, 120: 157-161.
- [10]- Ra H.S.Y., Geiser L.H., Crang R.F.E., 2005.- Effects of season and low-level air pollution on physiology and element content of lichens from the U.S. pacific North West. *Science of the Total Environment*, 343: 155-167.
- [11]- Deruelle S., Lallemand R., 1983. *Les lichens témoins de la pollution*. Ed. Vuibert. Université de biologie, Paris 108 p.
- [12]- Calatayud M.J., Sanz M.J., Calvo E., Barreno E., Del Valle-Tascon X., 1996.- Chlorophyll a fluorescence and chlorophyll content in *Parmelia quercina* thalli from a polluted region of northern Castellon (Spain). *Lichenologist*, 28: 49-65.
- [13]- Garty J., Karary Y., Harel J., Lurie S., 1993.- Temporal and spatial fluctuation of ethylene production and concentrations of sulphur, sodium, chlorine and iron on/in the thallus cortex in the lichen *Ramalina duriaei* (De Not.) Bagl. *Environmental and Experimental Botany*, 33: 553-563.
- [14]- Thomas H. Nash III, Gries C., 1995.- The response of lichens to atmospheric deposition with an emphasis on the Arctic. *Science of the Total Environment*, 160/161: 737-747.
- [15]- Scerbo R., Ristori T., Possenti L., Lampugnani L., Barale R., Barghigiani C., 2002.- Lichen *Xanthoria parietina* biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Pisa Province (Tuscany, Italy). *Science of the Total Environment*, 286: 27-40.

- [16]- Nimis P.L., Lazzarin G., Lazzarin A., Skert N., 2000.- Biomonitoring of trace elements with lichens in Veneto (NE Italy). *Science of the Total, Environment*, 255: 97-111.
- [17]- Nimis P.L., Andreussi S., Pittao E., 2001.- The performance of two lichen species as bioaccumulators of trace metals. *Science of the Total, Environment* 275: 43-51.
- [18]- Gonzalez C.M., Casanovas S.S., Pignata M.L., 1996.- Biomonitoring of air pollutants from traffic and industries employing *Ramalina ecklonii* (Spreng.) Mey. and Flot. in Cordoba, Argentina. *Environmental Pollution*, 91: 269-277.
- [19]- Poblet A., Andrade S., Scagliola M., Vodopivec C., Curtosi A., Pucci A., Marcovecchio J., 1997.- The use of epilithic antarctic lichens (*Usnea aurantiacoatra* and *U. antarctica*) to determine deposition patterns of heavy metals in the Shetland Islands, Antarctica. *Science of the Total, Environment*, 207: 187-194.
- [20]- Takala K., Salminen R., Olkkonen H., 1998.- Geogenic and anthropogenic zinc in epiphytic and terricolous lichens in Finland. *Jornal of Geochemical Exploration*, 63: 57-66.
- [21]- Augusto S., Máguãs C., Matos J., Pereira M.J., Branquinho C., 2010.- Lichens as an integrating tool for monitoring PAH atmospheric deposition: A comparison with soil, air and pine needles. *Environmental Pollution*, 158: 483-489.
- [22]- Semadi A. 1989.- Effet de la pollution atmosphérique, pollution globale, fluorée, plombique sur la végétation dans la région de Annaba (Algérie). Thèse de Doctorat en sciences naturelles : Université Pierre et Marie Curie, 339 p.
- [23]- Rouidi S., 2001.- Cartographie de la pollution par les hydrocarbures totaux au niveau de la plate-forme industrielle de Skidda. Mémoire de Magister, Université de Constantine, 111 p.
- [24]- Lichtenthaler H.K., Wellburn R.R. 1983.- Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 603: 591-592.
- [25]- Roux C., Coste C., Bricoud O. et Masson D., 2007.- Lichens et champignons lichénicoles du parc national des Cévennes (France). 4- le massif de l'Aigoual- *Bull. Soc. Linn. Provence*, 58 : 103-125.
- [26]- Ramade F., 1982.- *Elément d'écologie appliquée*. Ed. MC Graw Hill 50, 92-93, 452 p.
- [27]- Conti M.E., Cecchetti G., 2001.- Biological monitoring: lichens as bio-indicators of air pollution assessment- a review. *Environmental Pollution*, 114: 471-492.
- [28]- Sloof J.E., 1995.- Lichens as quantitative biomonitors for atmospheric trace-element deposition using transplants. *Atmospheric Environment*, 29: 11-20.
- [29]- Loppi S., Giordani P., Brunialti G., Isocrono D., Piervittori R., 2002.- Identifying

- deviation from naturalness of lichen diversity for bioindication purposes. In: Nimis P.L., Scheidegger C., Wolseley P., Monitoring with lichens- Monitoring Lichens. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands : 281-284.
- [30]- Loppi S., Nascimbene J., 2010.- Monitoring H₂S air pollution caused by the industrial exploitation of geothermal energy: The pitfall of using lichens as bio-indicators. *Environmental Pollution*, 158: 2635-2639.
- [31]- Maxwell K., Johnson G.N., 2000.- Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51: 659-668.
- [32]- Ramade F., 2007.- Introduction à l'éco-toxicologie. Fondements et applications. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 618 p.
- [33]- Chettri M.K., Cook C.M., Vardaka E., Sawidis T., Lanaras T., 1998.- The effect of Cu, Zn and Pb on the chlorophyll content of the lichens *Cladonia convoluta* and *Cladonia rangiformis*. *Environmental and Experimental Botany*, 39: 1-10.
- [34]- Riga-Karandinos A.N., Karandinos M.G., 1998.- Assessment of air pollution from a lignite power plant in the plain of Megalopolis (Greece) using as biomonitors three species of lichens; impacts on some biochemical parameters of lichens. *Science of the Total Environment*, 215: 167-183.
- [35]- Dzubaj A., Backor M., Tomko J., Peli E., Tuba Z., 2008.- Tolerance of the lichen *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. to metal stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70: 319-326.
- [36]- Garty J., 1987.- Metal amounts in the lichen *Ramalina duriae* transplanted at biomonitoring sites around a new coal-fired power station after 1 year of operation. *Environmental Research*, 43: 104-116.
- [37]- Sanz M.J., Gries C., Nash TH. 1992. Dose-response relationships for SO₂ fumigation in the lichens *Evernia prunastri* (L.) Ach. and *Ramalina fraxinea* (L.) Ash. *New Phytologist*, 122: 313-319.
- [38]- Palmquist K., Dahlman L., Valla Dares F., Tehler A., Sancho L.G., Mattsson J-E., 2002.- CO₂ exchange and thallus nitrogen across 75 contrasting lichen associations from different climate zones. *Oecologia*, 133: 295-306.

CARACTERISATION PHYTOCHIMIQUE DE DEUX EXTRAITS DE *Brocchia cinerea* Vis. (ASTERACEAE) PAR GC-MS: ACTIVITE ANTI-CLOSTRIDIUM

BOUZIANE Mebarka¹, MAHFOUD HADJ-Mahammed¹, BADJAH-HADJ-AHMED Ahmed
Yacine² et OULD-ELHADJ-Mohamed Didi³

⁽¹⁾Laboratoire de Biogéochimie des milieux désertiques
Université de Ouargla, 30000 Ouargla, Algérie

⁽²⁾Department of Chemistry, College of Science, King Saud Universit
Ryadh, Kingdom of Saudi Arabia

⁽³⁾Laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi Arides,
Université de Ouargla, 30000 Ouargla, Algérie. Email: bmebarka@yahoo.fr

Résumé.- Le présent travail constitue une contribution à l'élucidation de la composition chimique des parties aériennes de la plante *Brocchia cinerea* et à la mise en évidence de ses principes actifs ainsi que son activité anti-Clostridium. Deux extraits sont préparés par deux différentes méthodes d'extraction. L'une d'elles s'est effectuée par Soxhlet en utilisant le chloroforme, et l'autre technique réalisée par hydrodistillation pour l'obtention de l'huile essentielle. L'analyse des extraits par GC-MS a permis l'identification de 54 constituants; la présence des composés terpéniques a été dominante avec un pourcentage de 71%, notamment dans l'huile essentielle tels que: le camphre, la thujone et l'eucalyptol. De même, des acides (exemple de l'acide heptadécanoïque) et des esters gras (hexadécanoate), ont été identifiés. L'activité biologique de l'huile essentielle vis-à-vis de la souche bactérienne *Clostridium perfringens*, par la méthode de diffusion, a montré que cette huile est biologiquement bactériostatique.

Mots clés: *Brocchia cinerea*, huile essentielle, GC-MS, *Clostridium perfringens*, bactériostatique.

PHYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF TWO EXTRACTS OF *Brocchia cinerea* Vis. (ASTERACEAE) BY GC-MS: ANTI-CLOSTRIDIUM ACTIVITY

Abstract.- This work is a contribution to the chemical composition elucidation of *Brocchia cinerea* aerial parts, and its anti- *Clostridium* activity. Two extracts were prepared by two different methods, the first extract was obtained by Soxhlet using chloroform, and the second one is a crude essential oil obtained by hydro- distillation. Their analysis by GC-MS enabled identification of 54 components, the presence of the terpenes has been dominant, with a percentage of 71 %, particularly in essential oils such as camphor, thujone and eucalyptol. Similarly, fatty acids (heptadecanoic acid) and fatty esters (hexadecanoate) , were identified. Anti-*Clostridium* activity of the essential oil was verified by diffusion method. Essential oil showed bacteriostatic effect against *Clostridium perfringens* bacteria strain.

Key words: *Brocchia cinerea*, essential oils, GC-MS, *Clostridium perfringens*, bacteriostatic.

Introduction

La flore en zones arides, telle que montrée dans la littérature, est très diversifiée en particulier les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui appartiennent à différentes familles botaniques [1-2]. Parmi ces plantes, nous citons la plante spontanée *Brocchia cinerea* qui appartient à l'une des plus vastes familles dans le règne végétal: les Asteraceae [1-4]. Ses applications variées en médecine traditionnelle et les effets thérapeutiques qu'elle présente l'ont rendue très populaire dans les régions sahariennes Algériennes, entre autres la région de

Ouargla [3-5]. Dans cette région, *Brocchia cinerea* est préconisée, entre autres, dans le traitement des maladies broncho-pulmonaires, la diarrhée, etc. En outre, elle est utilisée dans l'aromatisation du lait et du thé [2].

Plusieurs autres activités biologiques sont attribuées aux extraits obtenus de la plante telle que celle collectée au Maroc où les activités: anti-inflammatoire, antiseptique, analgésique, anti-bactérienne et fébrifuge ont été signalées [6-9]. *Clostridium perfringens* Veillon et Zuber. (Clostrideaceae) [10] sont des bactéries anaérobiques strictes et sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux, mais on les rencontre fréquemment dans la nature en particulier dans le sol (bactéries telluriques)) et dans les matières organiques en cours de putréfaction. Ce germe est très souvent responsable de toxi-infections d'origine alimentaire après une mauvaise manutention/gestion d'un aliment après cuisson. Ces germes sont très résistants en raison de leur caractère sporulé. Ils sont souvent, quelquefois avec d'autres germes sporulés, les seuls survivants d'une contamination ancienne de l'aliment [11].

Dans ce travail nous présentons une étude analytique par GC-MS de deux extraits obtenus des parties aériennes de cette plante afin de caractériser sa composition chimique volatile, ainsi qu'une pré-évaluation de l'activité anti-Clostridium de son huile essentielle.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Collecte du matériel végétal

La plante *Brocchia cinerea* est récoltée en stade de floraison, à 10 km au Nord-Est de la localité de Ouargla (Algérie). Après son séchage à l'ombre dans un endroit aéré, les parties aériennes de la plante sont broyées à l'aide d'un broyeur mécanique (diamètre du tamis: 4mm), la poudre végétale ainsi obtenue a servi pour l'extraction par Soxhlet [12] et par hydrodistillation.

1.2.- Méthodes d'extraction

1.2.1.-Hydrodistillation

Cent grammes (100g) de la poudre végétale ainsi préparée, sont soumis à une hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger pendant 3h [13], pour obtenir de l'huile essentielle brute (HE). L'huile essentielle obtenue a été séchée sur sulfate de Sodium, pour éliminer toutes traces d'eau résiduelles dans l'huile après sa séparation de la phase aqueuse. HE a été conservée dans un flacon brun hermétiquement fermé à 4°C jusqu'à son utilisation.

1.2.2.-Extraction au Soxhlet

Vingt cinq grammes (25g) de la poudre issue des parties aériennes de la plante sont extraits au Soxhlet en utilisant 250 ml de chloroforme (CH_3Cl : $T_{\text{eb}} = 61.2^\circ\text{C}$). Après l'évaporation totale du solvant, 130 ml d'eau chaude sont ajoutés au résidu sec. Cette dernière solution, laissée au réfrigérateur durant une nuit, a subi une extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle (25ml x 4). La phase organique a été évaporée à sec et le résidu a été repris par 5ml de MeOH. L'extrait final (A) a été conservé dans un flacon hermétiquement fermé à 4°C jusqu'à son analyse [12].

Le protocole entrepris pour cette extraction est résumé sur la figure (1).

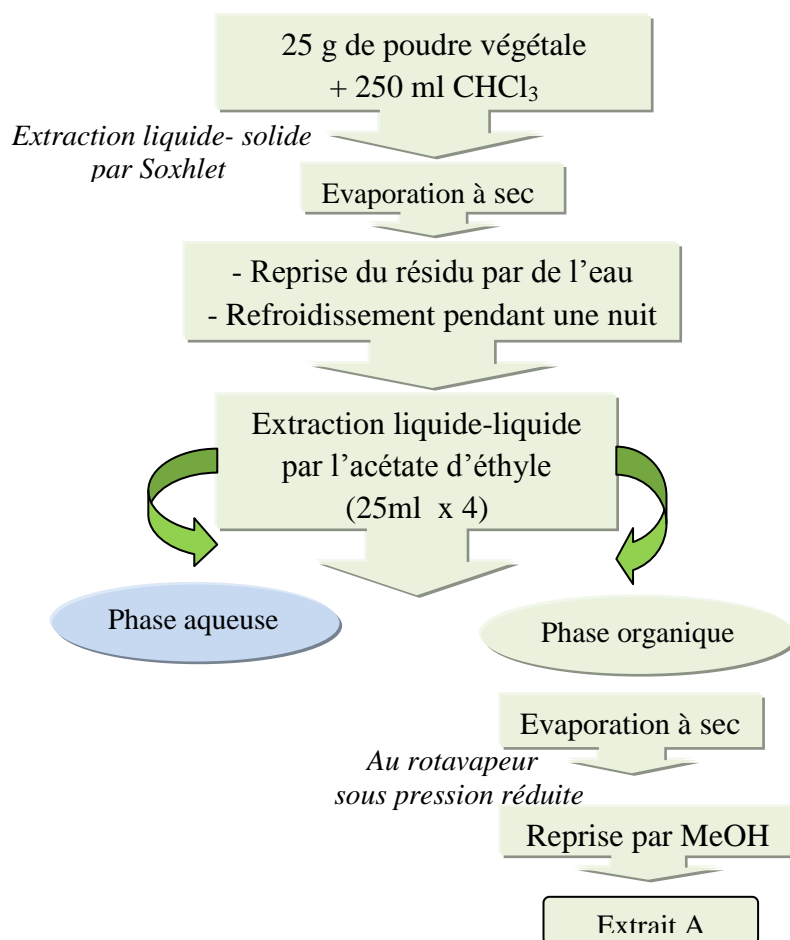


Figure 1.- Protocole d'extraction par Soxhlet [12]

1.3.- Analyse chromatographique GC-MS

L'huile essentielle (HE) a été analysée par un chromatographe en phase gazeuse de type Agilent HP6890 GC-MS, sur une colonne capillaire apolaire type: DB5 (30m x 0.25 mm, 0.25 μ m), sous les conditions chromatographiques suivantes:

- débit du gaz vecteur (He): 0.5 ml. min⁻¹,
- température de l'injecteur et du détecteur: 250 °C,
- Le gradient de température a débuté par 45°C pendant 8 min, suivi d'une élévation à 2°C/min jusqu'à 250°C et enfin, cette température a été maintenue pendant 14 min.

L'extrait A, a été analysé sous les conditions chromatographiques suivantes:

- un chromatographe de type GC 800Top muni d'une colonne capillaire apolaire ECTM-1 (30 m x 0.25 mm, 0.25 μ m),
- un spectromètre de masse de type Finnigan MAT, Automass II,
- température de l'interface: 279°C,
- température de l'injecteur : 260°C,
- gradient de température: 100 °C pendant 5 min, 8 °C/min et enfin 260 °C pendant 20 min,
- débit du gaz vecteur: 40 ml.min⁻¹.

Dans les deux cas l'énergie de l'impact électronique a été 70 eV sur l'intervalle m/z: 29-550. L'identification des substances séparées s'est faite par deux méthodes:

- le calcul des indices de rétention selon l'équation de Van Den Dool en utilisant les temps de rétention de la série des n-alcanes injectés (C₅-C₃₀) sous les mêmes conditions de chaque échantillon, et leur confrontation avec ceux de la littérature [14-24];

$$I_K = 100 \times [(t_{R_s} - t_{R_Z}) / (t_{R_{(Z+1)}} - t_{R_Z})] + 100 \times Z \quad \text{équation de Van Den Dool}$$

où t_{R_s} , t_{R_Z} , $t_{R_{(Z+1)}}$ sont respectivement les temps de rétention du soluté et des alcanes à Z et (Z+1) atomes de carbones encadrant le soluté.

- par comparaison de leurs spectres de masse obtenus par GC-MS avec ceux fournis par les bibliothèques Wiley, NIST et la bibliothèque de CNRS Lyon-France.

1.4.- Analyses microbiologiques

1. 4. 1.- Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur la gélose

Plusieurs travaux antérieurs ont révélé que *Brocchia cinerea* possède un potentiel biologique très intéressant [6-9]. Il s'agit de tester l'effet de l'huile essentielle de la plante sur *Clostridium perfringens*.

La méthode utilisée permet d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle (HE). Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs, en indiquant l'existence ou l'absence d'une action biologique.

La technique utilisée est une modification de la méthode citée dans la littérature [22]. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé dans l'huile essentielle, sur la culture bactérienne au tout début de sa croissance et de mesurer la surface où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre de la zone d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'huile essentielle, est ainsi déterminé [23;24].

Dans ce présent travail l'huile essentielle extraite des parties aériennes de *Brocchia cinerea* a été testée sur *Clostridium perfringens* IP 104880 de l'institut Pasteur de Lyon (France).

L'activité anti microbienne a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion agar-well. L'huile essentielle a été utilisée pure (SM: solution mère) avec des dilutions préparées dans le mélange DMSO/EtOH (v/v) à savoir: SM/10, SM/100, SM/1000, SM/10000. L'inoculum de bactéries, préparé à partir de la souche bactérienne *Clostridium perfringens* IP 104880 de l'institut Pasteur de Lyon (France), a été étalée sur la surface du milieu Hinton Muller agar, dans des jars totalement anaérobioses, par la suite des disques celluloseux stériles imprégnés pendant 30 min dans les différentes dilutions de l'huile essentielle, sont ensemencés. L'incubation des jars traitées à 37°C durant 72 heures.

L'activité antibactérienne est évaluée par observation et mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques après 24h, 48h et 72h.

2.- Résultats et discussions

Les analyses par GC-MS, en programmation de température, des deux extraits (par soxhlet (A) et l'huile essentielle (HE) obtenus à partir des parties aériennes de *Brocchia cinerea* ont fourni les chromatogrammes illustrés respectivement par les figures 2 et 3. Ces analyses révèlent le nombre important de produits contenus dans les deux extraits, bien que la

composition de HE est la plus riche. Ceci est dû aux méthodes d'extraction, à la nature et à la sélectivité des solvants organiques utilisés [12]. Le Soxhlet s'est révélé efficace dans l'entraînement d'un nombre important de constituants volatils lorsque des solvants tels que le CHCl_3 et l'acétate d'éthyle (AcOEt) sont utilisés. Cependant l'hydrodistillation reste la méthode la plus fiable pour l'entraînement de la majorité des substances terpéniques contenues dans le matériel végétal, ce qui est clairement exprimé, sur la figure 4, par les pourcentages des différentes classes terpéniques.

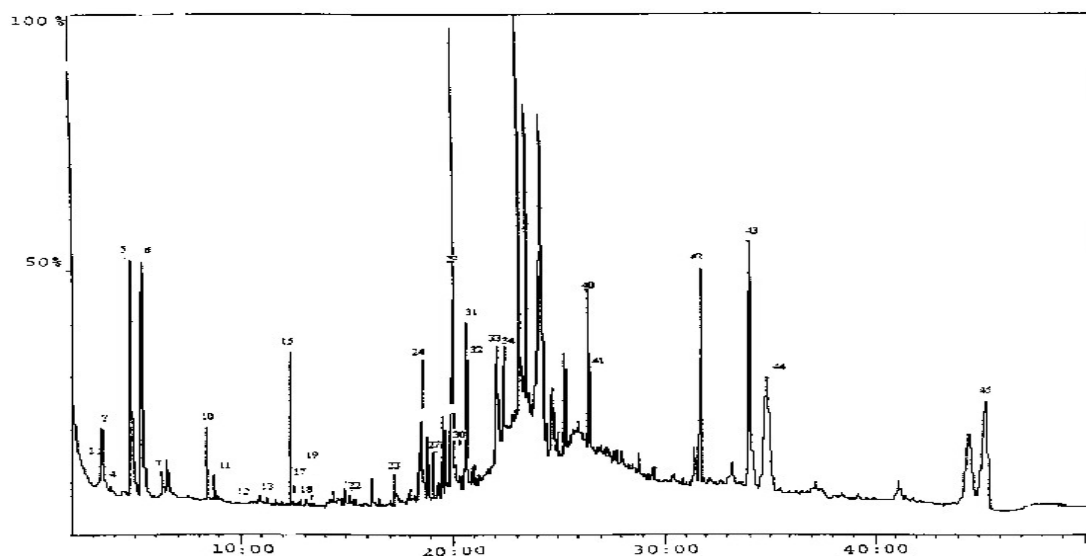


Figure 2.- Chromatogramme obtenu par GC-MS pour l'extrait par Soxhlet

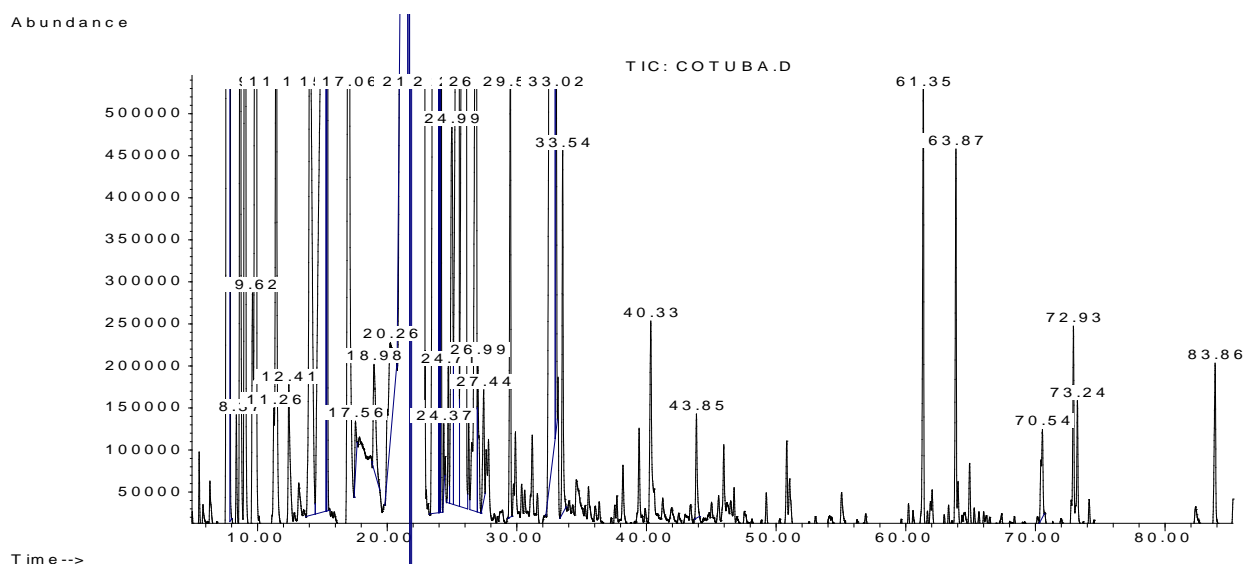


Figure 3.- Chromatogramme obtenu par GC-MS pour l'huile essentielle.

Après le calcul des indices de rétention et dépouillement des spectres de masse obtenus, les identifications des substances éluées sont regroupées dans les tableaux I et II dont les temps de rétention et/ou les indices de rétention, les données spectrales sont reportés et confrontés à ceux de la littérature.

Tableau I.- Résultats d'analyse par GC-MS de l'extrait par Soxhlet
[tr (min): temps de rétention, MS(exp): spectre de masse expérimental,
MS (ref): spectre de masse référentiel, Nist (ref): N° de référence Nist]

Composés identifiés	Tr (min)	MS (exp)	MS (ref)	Nist (ref)
α -thujone	4:45	110(100), 81(75), 95(66), 109(53), 67(40), 68(39), 69(38), 55(24), 152(5)	110(100), 81(88), 95(70), 67(68), 68(58), 69(53), 109(43), 55(32), 70(25)	776014
Camphre	5:17	95(100), 81(75), 95(66), 109(53), 67(40), 68(39), 69(38), 55(24), 152(5).	95(100), 81(88), 108(39), 69(39), 55(38), 27(35), 83(33), 109(28)	151971
4-carvomenthenol	6:13	71(100), 111(75), 93(70), 86(25), 91(25), 55(20)	71(100), 93(51), 111(49), 55(27), 86(25), 69(23), 67(18)	157898
1,3,8-para-menthatriène	8:21	119(100), 91(45), 93(35), 79(26), 105(25), 77(20), 134(15), 121(15)	119(100), 91(74), 134(66), 105(21), 77(21), 92(17), 79(16), 93(16)	
Bornyl acetate	8:41	95(100), 93(45), 121(44), 136(30), 108(15), 80(11), 69(9), 55(9), 154(5).	95(100), 93(45), 136(39), 121(34), 80(17), 55(15), 108(134), 69(131).	249545
Dodéc-6-yn-5-one.	10:55	109(100), 124(95), 95(71), 71(39), 81(34), 55(29), 132(30), 117(9), 143(8)	109(100), 124(91), 53(62), 55(42), 81(40)	267000
Isocaryophyllène.	11:43	93(100)133(86), 109(62), 79(55), 91(50), 120(44), 105(44), 95(40), 81(40), 67(37), 148(20), 161(20), 119(32)	93(100), 69(76), 133(67), 161(56), 79(53), 105(47), 81(41), 107(38)	140072
1-Méthyl-4-(5-méthyl-1-méthylène-4-hexenyl) cyclohexène	12:20	69(100), 93(81), 133(31), 120(26), 79(25), 91(25), 81(24), 67(21), 55(16), 107(15), 161(9), 204(2), 148(2)	69(100), 93(69), 94(27), 67(26), 204(25), 109(24), 79(24), 107(18), 161(17).	9219
Cadina -1,4-diène	12:49	119(100), 57(50), 105(30), 91(30), 79(15), 161(15), 134(14), 77(14), 85(30)	119(100), 105(68), 161(51), 204(26), 91(22), 121(22), 91(22), 120(19), 92(18)	9229
Dihydroactinolide	13:06	111(100), 137(29), 67(16), 124(10), 95(9), 81(8), 152(5)	111(100), 109(43), 137(39), 67(30), 110(21), 59(7)	7400
(2E,6E)Acétate de Farnésyl.	13:25	69(100), 93(32), 121(21), 81(21), 107(16), 55(14), 136(11), 163(9), 145(5)	69(100), 81(30), 93(29), 136(26), 68(26), 67(11), 107(11), 121(10)	164111
Citrate d'éthyle.	15:23	157(100), 115(72), 111(16), 129(14), 203(14), 87(11), 139(5)	157(100), 115(47), 203(28), 111(12), 158(11), 87(10), 129(9)	189977

Acide Tétradécanoïque.	17:14	73(100), 60(78), 129(63), 57(60), 55(55), 71(35), 69(34), 83(30), 85(27), 97(26), 87(25), 115(20), 185(18), 228(16), 143(13), 171(6), 199, 157(3)	73(100), 60(92), 55(75), 57(65), 129(38), 69(34), 71(33).	113060
Acide 2,5-Octadéca-2,5-diynoate de méthyle.	19:14	91(100), 105(60), 131(50), 117(49), 79(45), 77(44), 145(25), 159(24), 202(10), 188(9), 230(9), 215(5), 173(6)	91(100), 105(71), 117(61), 79(47), 77(45), 55(43), 67(37), 131(35).	35988
2-hydroxy-3-(1-propenyl) Naphthalen-1,4-dione	19:28	214(100), 115(76), 156(62), 129(50), 102(50), 76(44), 185(31), 87(25), 143(24), 55(24), 171(21), 199(6), 50(25).	214(100), 199(58), 76(57), 171(50), 115(50), 77(46), 158(42), 50(42), 51(41).	9971
Acide Heptadécanoïque.	19:58	73(100), 60(74), 55(54), 129(54), 85(35), 97(34), 115(24), 256(23), 213(14), 157(11), 71(9).	73(100), 60(78), 57(60), 55(46), 69(35), 71(35), 129(33), 83(25).	73673
Hexadécanoate d'éthyle.	20:22	88(100), 119(95), 101(75), 55(65), 73(52), 113(26), 185(20), 157(19), 133(19), 145(14), 207(14), 256(14), 171(7), 227(5), 241(6)	88(100), 101(70), 55(50), 57(40), 69(23), 73(22), 71(19), 70(15)	43659
2-methyl, 6-(p-tolyl) hept-2-énol.	20:33	119(100), 132(76), 145(39), 105(36), 95(20), 55(11), 81(10), 157(4), 199(4)	119(100), 132(62), 105(36), 91(35), 93(23), 120(19), 121(18), 117(17)	141052
(4E)2,2,6-triméthyl-1-(2-méthyl-2-cyclobuten-1-yl) hepta -4,6-dièn-3-one	20:57	95(100), 81(90), 93(66), 67(47), 107(44), 119(43), 123(42), 55(34), 134(20), 135(10), 161(12), 187(9), 201(2)	95(100), 81(85), 123(66), 67(64), 119(58), 105(38), 91(37), 93(36)	188728
Acide octadéca-9-ynoate de méthyle.	21:59	81(100), 67(96), 95(85), 82(70), 96(64), 55(60), 79(46), 109(44), 111(34), 123(19), 150(15), 280(10), 136(9)	81(100), 67(95), 55(86), 68(74), 95(70), 82(67), 54(60), 69(47)	36329
Tétracosane	26:26	57(100), 71(85), 85(75), 99(31), 113(20), 127(10), 141(5), 155(2)	57(100), 71(80), 85(72), 43(62), 99(26), 41(25), 55(22), 113(20), 127(14), 69(14)	195773
E,E,E,E,E-2,6,10,15,19,23-hexaméthyl tétracosane-1,6,10,14,18,22-hexaen-	31:44	69(100), 81(69), 95(24), 121(16), 109(14), 136(14), 149(5)	69(100), 81(62), 93(39), 107(27), 55(23), 68(19), 135(18), 67(18)	162138

3- ol				
2,6,10,14,18-pentaméthyl- Eicosane	33:57	57(100), 71(85), 85(80), 99(35), 113(22), 218(10), 141(6), 169, 203, 239(1)	57(100), 71(81), 85(51), 113(26), 127(25), 99(23), 56(18), 55(17), 70(17), 183(17)	5179416 2
β -Amyrin	34:15	218(100), 203(44), 95(30), 69(26), 107(25), 119(25), 135(20), 189(20), 147(10), 175(7)	218(100), 203(26), 219(18), 189(10), 95(9), 69(8), 109(8), 135(7), 81(6), 207(6)	63149

La présence des substances terpéniques est remarquable, ce qui reflète la forte odeur aromatique (camphrée) dégagée par le matériel végétal.

Tableau II.- Résultats d'analyse de l'huile essentielle par GC-MS
[Ir (exp): indice de rétention expérimental, MS (exp): spectre de masse expérimental, MS (ref): spectre de masse référentiel]

Composés identifiés	Ir (exp)	SM (exp)	SM (ref)
Hexanal	800	44(100), 56(79), 41(60), 43(55), 29(35), 27(33), 72(15)	44(100), 56(82), 41(66), 43(53), 29(38), 27(33), 72(19)
Cis-Salvène	837	41(100), 67(98), 81(96), 68(80), 69(60), 55(50), 39(45), 109(40)	41(100), 67(72), 81(64), 55(38), 109(22), 95(10), 124(1)
Isoamyl acétate	864	43(100), 70(45), 55(42), 41(20), 42(18), 32(12), 61(10)	43(100), 55(43), 73(38), 41(37), 42(33), 61(27)
Santolinatrienne	907	93(100), 121(80), 79(70), 91(50), 77(47), 67(40), 105(32), 41(25)	93(100), 41(72), 79(70), 121(55), 77(51), 67(49), 53(34)
Tricyclène	916	93(100), 79(32), 91(30), 79(32), 92(30), 77(30), 41(29), 121(25), 136(20), 39(20)	93(100), 91(31), 92(27), 79(25), 41(24), 39(22), 77(22), 121(20).
α -thujène	921	93(100), 91(60), 77(47), 92(43), 79(15), 136(15), 41(10)	93(100), 77(23), 91(21), 92(20), 41(15), 39(14), 79(10), 121(5)
α - Pinène	928	93(100), 91(35), 92(32), 77(29), 79(25), 121(19), 41(15), 39(10)	93(100), 92(35), 91(32), 77(29), 79(23), 41(20), 39(19), 121(14)
Camphène	942	93(100), 121(75), 79(40), 91(37), 67(35), 107(32), 77(30), 41(20)39(18), 136(15)	93(100), 121(58), 79(40), 91(37), 39(34), 41(32), 67(29), 77(28)
4-méthylène-1-(1-méthylethyl) bicyclo[3,1,0] hexane.	965	93(100), 77(50), 91(50), 41(40), 57(39), 79(40), 39(30), 136(15)	93(100), 41(61), 69(35), 39(32), 91(31), 77(28), 79(27), 27(21)
β -Pinène	968	93(100), 69(40), 41(39), 79(37), 77(36), 91(36),	93(100), 41(61), 69(35), 39(32), 91(31), 77(28),

		121(18), 136(15)	79(27), 27(21)
α - Phellandrène	998	93(100), 91(60), 77(55), 92(40), 136(30), 41(25), 32(22), 39(20), 57(18), 79(18), 85(15)	93(100), 91(33), 77(31), 91(25), 136(16), 41(14), 39(11), 27(10)
Eucalyptol	1027	43(100), 81(98), 108(90) 154(85), 111(80), 139(75), 71(70), 84(68), 93(65), 55(50)	43(100), 93(55), 81(55), 71(47), 69(40), 84(38), 68(38), 108(36)
γ -terpinène	1053	93(100), 91(50), 77(35), 136(35), 121(30), 43(20), 39(10)	93(100), 91(33), 77(32), 136(29), 121(27), 39(23), 43(23), 27(23)
α -Thujone	1115	110(100), 81(95), 95(80), 67(60), 69(57), 68(55), 109(55), 41(48)	110 (100), 81(88), 95(70), 67(68), 68(58), 41(58), 69(53), 109(43)
8-méthylène-3-oxatricyclo[5,2,0,0(2,4)]nonane	1136	79(100), 91(95), 96(75), 77(73), 39(55), 109(55), 81(50), 41(50), 69(53), 93(45)	79(100), 92(83), 39(69), 91(62), 77(57), 41(50), 27(47), 93(41)
Camphre	1150	95(100), 81(82), 108(45), 69(40), 152(42), 55(35), 41(38)	95(100), 41(73), 81(74), 108(39), 69(39), 55(38), 27(35), 39(34)
Borneol	1166	95(100), 41(20), 110(22), 55(12), 67(11), 139(10), 121(8), 93(9)	95(100), 41(18), 110(16), 93(12), 55(11), 67(10), 139(10), 121(9)
α -Thujénal	1186	79(100), 77(40), 107(35) 105(30), 108(18), 91(17) 106(17), 41(15), 43(14)	79(100), 107(51), 77(33), 105(29), 108(29), 106(28) 41(17), 43(16)
<i>p</i> -Cymen-8-ol	1189	43(100), 135(85), 91(27), 67(20), 39(15), 41(17), 79(18), 55(12), 82(9), 105(7)	43(100), 135(52), 91(21), 39(9),
<i>p</i> -menth-1-en-8-ol	1194	59(100), 93(60), 121(49) 136(45), 81(33), 43(31), 67(20)	59(10), 93(60), 121(49), 136(45), 81(33), 43(31), 67(16) , 92(17)
Trans-Piperitol	1207	84(100), 83(40), 41(35), 139(32), 55(25), 91(20), 79(20), 67(15)	84(100), 41(27), 83(27), 136(26), 93(25), 43(22), 55(20), 77(18), 69(17), 67(8)
Cis-3-hexenylisovalerate	1232	82(100), 67(99), 57(98), 41(35), 85(32), 55(20), 54(9)	82(100), 67(77), 57(73), 85(55), 41(48), 55(27), 43(22), 29(22)
Lyratyl acétate	1280	119(100), 43(67), 91(50), 93(47), 79(45), 77(38), 105(35), 134(22)	119(100), 43(67), 134(47), 93(42), 91(41), 79(34), 105(26), 77(22)
Bornyl acétate	1281	95(100), 43(58),	95(100), 43(76), 93(45),

		93(48), 121(45), 136(40), 41(20), 80(18), 55(18)	136(39), 121(34), 41(27), 80(17), 55(15)
Lavandulyl acétate	1289	69(100), 43(85), 93(75), 41(65), 68(45), 91(25), 121(23), 67(20), 136(10)	69(100), 43(74), 93(73), 41(50), 68(46), 121(24), 67(20), 136(12)
Carvacrol	1296	135(100), 150(35), 91(38), 43(48), 32(45), 79(28), 77(25), 107(19), 115(18), 136(10)	135(100), 150(31), 91(13), 136(10), 77(7), 107(7), 117(6), 115(5)
Neryl acétate	1359	69(100), 43(67), 41(65), 3(45), 68(40), 67(27), 121(25), 80(19)	69(100), 41(67), 43(45), 68(37), 93(35), 67(18), 80(13), 121(11)
Geranyl acétate	1379	69(100), 43(65), 41(62), 68(45), 93(24), 121(18), 138(14), 67(20)	69(100), 43(65), 41(63), 68(49), 93(24), 136(22), 121(14), 67(13)
Cis jasmone	1392	79(100), 91(75), 110(75), 164(68), 55(65), 149(62), 41(61), 93(60), 77(60), 122(58), 135(58)	79(100), 91(98), 39(97), 77(64), 164(60), 91(58), 93(54), 53(50), 55(49), 110(45), 149(42), 135(40), 122(40)
Spathulenol	1566	43(100), 41(63), 91(62), 119(57), 205(50), 93(48), 105(48), 159(38)	43(100), 41(63), 205(61), 119(57), 91(50), 93(48), 159(43), 105(40)
Caryophyllène oxide	1570	43(100), 41(97), 79(82), 93(70), 91(54), 69(45), 55(42), 09(35), 121(25), 135(10)	43(100), 41(97), 79(82), 93(70), 91(54), 69(45), 55(42), 109(35), 121(25), 135(10)
Methyljasmonate	1643	83(100), 41(58), 151(40), 67(40), 95(40), 55(43), 93(35), 109(38)	83(100), 41(53), 151(46), 67(33), 95(32), 55(29), 93(28), 109(28)

Les monoterpènes notamment les oxygénés sont les prédominants en présence et en quantités avant les 30 min comme il est illustré sur les deux chromatogrammes (fig. 2 et 3), ce qui est aussi confirmé par leurs pourcentages de présence dans la composition chimique figurants sur l'histogramme (fig. 4) pour chaque extrait soit: 21% dans A et 42% dans HE. En plus des monoterpènes oxygénés, dont certains ont déjà été cités dans la littérature [25] tels que: le camphre, l'eucalyptol et la thujone (principes actifs très utilisés en thérapie [26]). Il est noté la présence d'hydrocarbures monoterpéniques avec un pourcentage de 30% dans HE et seulement 3.5% dans l'extrait A. Ce faible pourcentage dans l'extrait A revient probablement aux conditions d'extraction par le Soxhlet où les petites molécules peuvent s'échapper du montage ce qui influe sur leur rendement ou bien la non-conformité de la polarité des solvants utilisés et/ou le gradient de température sous lequel l'extrait A est analysé par GC-MS (température initiale élevée soit 100°C pendant 5min).

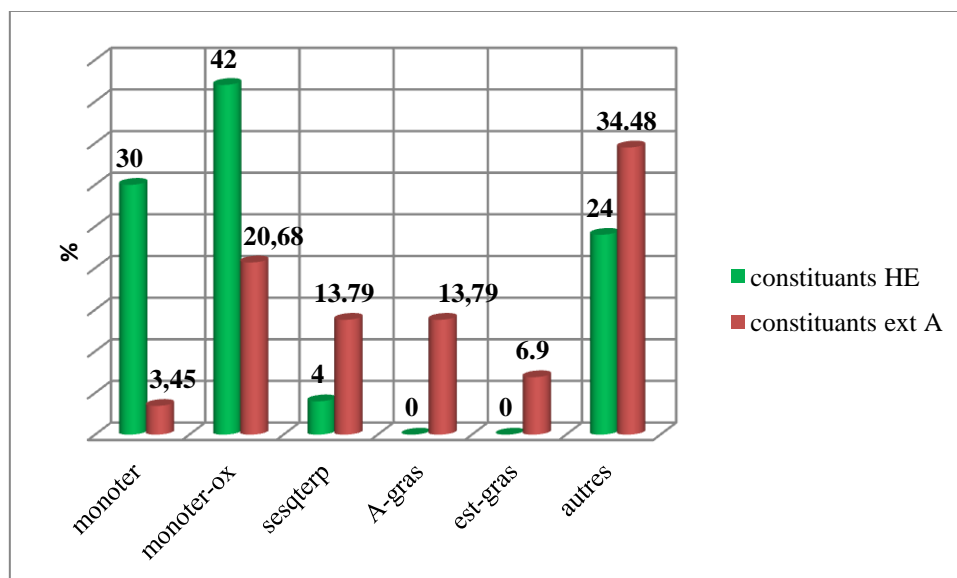


Figure 4.- Histogramme des familles chimiques présentes dans l'huile essentielle (HE) et l'extrait par Soxhlet (A) (Monoterp: hydrocarbures monoterpéniques, Monote-ox: monoterpènes oxygénés, sesquiterp: sesquiterpènes, A-gras: acides gras, est-gras: ester gras, autres: autres composés)

Les sesquiterpènes contribuent par environ 4% dans HE et à un taux plus important dans l'extrait A qui est de 14%. D'autres composés sont identifiés dans HE mais n'ont pu être caractérisés dans l'extrait A et inversement. Parmi ceux-ci, il faut noter pour l'extrait A, des esters gras $C_{17}H_{28}O_2$, $C_{18}H_{36}O_2$, $C_{19}H_{30}O_2$, $C_{19}H_{34}O_2$, une lactone $C_{11}H_{16}O_2$, le citrate d'éthyle et des acides gras $C_{14}H_{28}O_2$ et $C_{17}H_{34}O_2$. La figure 4 signale les taux significatifs des constituants qui n'ont pas pu être identifiés (24% dans HE et 34.48% dans l'extrait A).

La figure 5 représente les chemins de fragmentation proposés pour le camphre et la thujone respectivement.

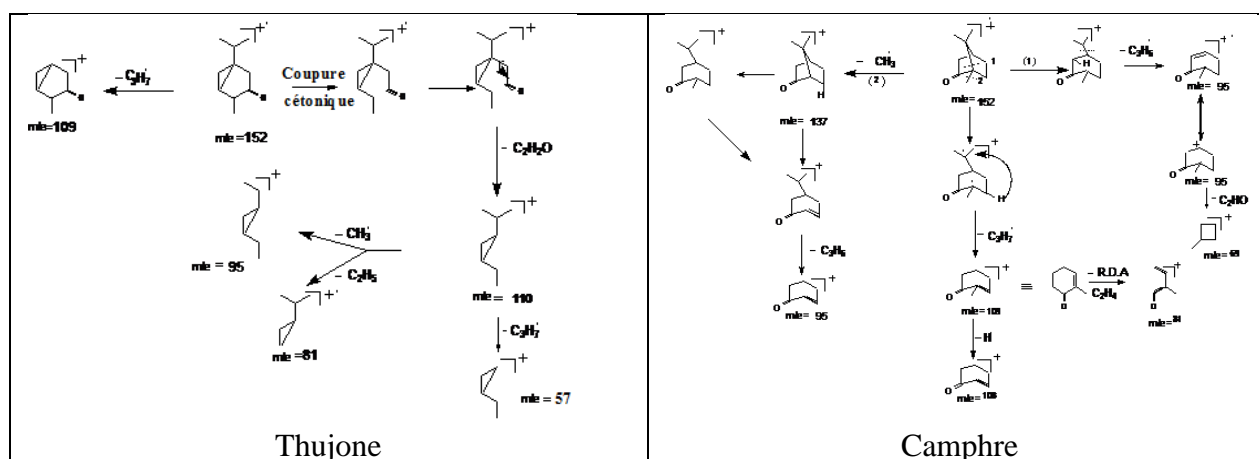


Figure 5.- Schémas de fragmentations proposés pour les deux molécules majoritaires de l'huile essentielle: le camphre et la thujone, analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) en mode impact électronique

En ce qui concerne l'évaluation de l'action biologique de l'huile essentielle vis-à-vis de *C. perfringens*, réalisée dans ce travail, l'observation de la zone d'inhibition autour des disques après 24 h, 48 h et 72 h, n'a montré aucun changement.

Les résultats ainsi obtenus figurant sur la photo 1 ont montré que l'huile essentielle est sans aucun effet bactéricide en milieu solide, l'action bactériostatique [27] de l'huile essentielle pure et quelques unes de ses dilutions se traduit par l'apparition de zones d'inhibition autour des disques où il apparait un arrêt de l'augmentation de la population [27]. En effet, le diamètre de cette zone autour du disque saturé par l'huile pure SM a été 40mm et 30mm autour du disque imbibé par SM/10 avec une absence d'activité pour les deux dernières dilutions SM/100 et SM/1000.

La résistance de la souche de *C. perfringens* à l'huile testée est attendue puisque cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides (les terpènes contenus dans l'huile) qui est en relation avec la nature de sa membrane externe (Gram +) [10,28]

Les huiles essentielles disposent d'une variété d'activités biologiques (antibactérienne, antiseptiques,..) et cela revient à leur richesse en composés terpéniques porteurs de divers groupes fonctionnels (alcools, carbonyles,...) et à leurs effets synergiques entre eux [29,30].

L'activité de ces molécules est liée, à la fois, au caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et au caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées [26,31,32] à titre d'exemple les composés carbonylés tels que la thujone, le camphre et l'eucalyptol sont décrits comme très actifs vis-à-vis d'un large spectre de microorganismes dont *C. perfringens* fait partie [26; 31;32]. Des fractions très riches de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L, dont les composés majoritaires sont α -pinene, 1,8-cineole, camphre et borneol (présents aussi dans l'huile essentielle de *Brocchia cinerea*) et verbenone, ont été cités biologiquement actifs contre une variété de microorganismes, bactéries (Gram+ et Gram-), avec une activité plus notable pour celles qui sont plus riches en camphre, borneol, et verbenone [33].

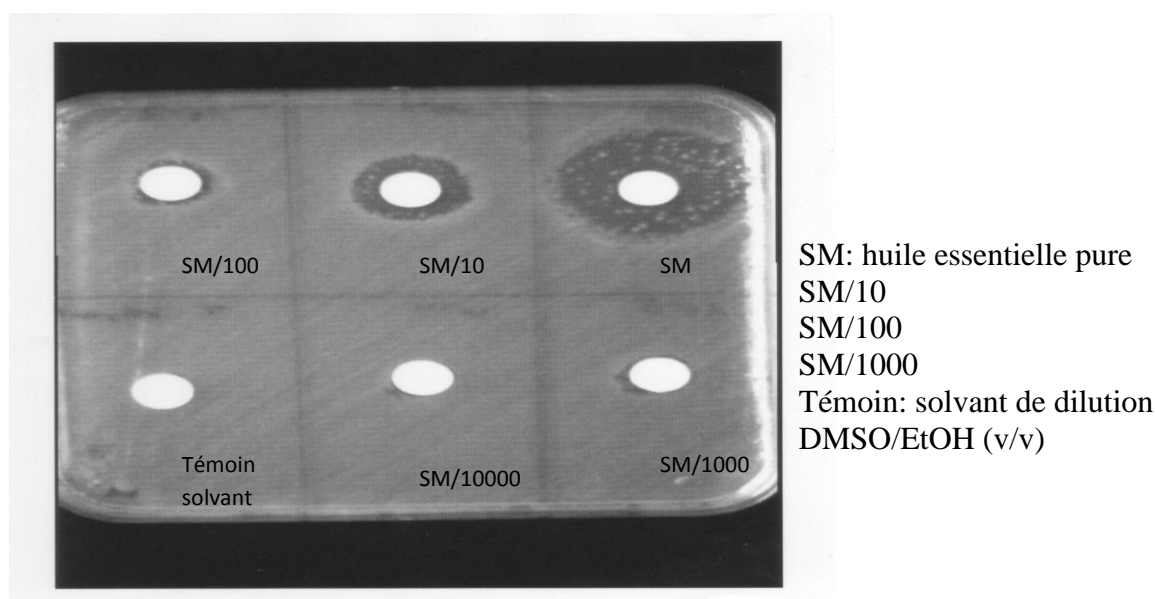


Photo 1.- Représentation de l'activité anti-Clostridium de l'huile essentielle de *Brocchia cinerea* Vis

Conclusion

Le présent travail a permis de mettre en évidence la composition chimique de la constitution volatile de la plante *Brocchia cinerea* Vis. par des analyses GC-MS de deux extraits obtenus de cette plante à savoir l'huile essentielle et l'extrait par Soxhlet. Les composés terpéniques, ont montré une présence notable dans cette composition. Certains constituants ont été confirmés dans les deux extraits obtenus par Soxhlet et par hydrodistillation tels que: α - thujone, Camphre, 1,3,8-para-menthatriène et Bornyl acétate. Notons aussi la caractérisation d'autres composés tels que l'hexadecanoate d'éthyle et l'acide heptadecanoïque.

L'huile essentielle de *Brocchia cinerea* Vis. a montré un effet bactériostatique sur *Clostridium perfringens* avec un diamètre de zone d'inhibition égale à 4cm.

Références bibliographiques

- [1].- Ozenda P., 1993.- Flore et végétation du Sahara. Ed. CNRS, Paris, 162 p.
- [2].- Maiza K., Brac De La Perrière R.A., Hammiche V., 1993.- Pharmacopée traditionnelle saharienne: Sahara septentrional. 2th European Ethnopharmacology Colloquium and 11th International Ethnomedicine Conference, Heidelberg, Germany: 169-171.
- [3].- Ould El Hadj M.D., Hadj Mahammed M., Zabeirou H., 2001- Inventaire et recherche de l'usage des plantes spontanées médicinales de la pharmacopée traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional Est algérien), Annales de l'Institut National Agronomique El Harrach, vol. 22, N°1-2: 97-123.
- [4].- Chehma A., 2006.- Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Ed. Dar El Houda, Algérie, 158 p.
- [5].- Hammiche V. et Maiza K., 2006.- Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. Ethnopharmacology, 105 (3): 358-367.
- [6].- Larhsini M., Markouk M., Jaouhari J.T., Bekkouche K., Lazrek H.B., Jana M., 2002.- Phytotherapy Res., 16 (Suppl 1), 97-98.
- [7].- Markouk M., Radwane A., Lazrek H.B., Jana M., Benjama A., 1999.- Fitotherapia, 70: 314-316.
- [8].- Markouk M., Lazrek H.B., Larhsini M., Bekkouche K., Jana M., 1999-. Therapie, 54 (6): 759-761.
- [9].- Markouk M., Lazrek H.B., Jana M., 1999- Phytotherapie. Res, 13: 229-230.
- [10].- http://fr.wikipedia.org/wiki/Clostridium_perfringens.
- [11].- Cuq J-L., 2007.- Contrôle microbiologique des aliments, Manuel technique. Polytech Département STIA, Univ Montpellier II, 52 p.

- [12].- Bouziane M., 2002.- Caractérisation de la composition chimique de la plante *Cotula cinerea* de la région de Ouargla. Mémoire de Magister, univ de Ouargla, 152 p.
- [13].- Zaim A., El Ghadraoui L., Farah A., 2012.- Effets des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* sur la survie des criquets adultes d'*Euchorthippus albolineatus* (Lucas, 1849). Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie, 34 (2), 127-133.
- [14].- Javidinia K., Miri R., Kamalinejad M., Jamalian A., 2004.- Chemical composition of the essential oils of *Anthemis altissima* L. grown in Iran. J Flavour and Frag, 19: 213-216.
- [15].- Yu H.H., Kim Y.H., Kil B.S., Kim K.J., Jeong S.I., You Y.O., 2003.- Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Artemisia iwayomogi*. Planta Med, 69 (12):1159-62.
- [16].- Sahin F., Gulluce M., Daferera D., Sökmen A., Sökmen M., Polissiou M., Agar G., Ozer H., 2004.- Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. Food Control, 15: 549-557.
- [17].- Shang C., Hu Y., Deng C. Hu K., 2002.- Rapid determination of volatile constituents of *Michelia alba* flowers by gas chromatography-mass spectrometry with solid-phase microextraction. J. Chromatogr A, 942: 283-288.
- [18].- Goodner. K.L., 2008.- Practical retention index models of OV-101, DB-1, DB-5, and DB-Wax for flavor and fragrance compounds. LWT, 41: 951-958.
- [19].- Lee S.J., Umamo K., Shibamoto T., Lee K.G., 2005.- Identification of volatile components in Basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Food Chem., 91: 131-137.
- [20].- Adams R.P., 1989.- Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Appendix I, II, Academic Press, N. York, 116 p.
- [21].- http://www.flavornet.org/d_kovats_ov101.html Accessed 10 June 2000.
- [22].- Hayes A.J., Markovic B., 2002.- Toxicity of Australian essential oil *Backhousiacitriodora* (Lemonmyrtle). Part 1. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. Food ChemToxicol, 40 (4), 53: 5-43.
- [23].- Guynot Me., Ramos AJ., Seto L., Purroy P., Sanchis V., Marin S., 2003.- Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products, J.Appl. Micobiol, 94 (5): 893-899.

- [24].- Kalembe D., Kunicka A., 2003.- Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem*, 10 (10):813-29.
- [25].- Fournier G., Baghdadi H., Ahmed S.S., Paris M., 1989.- Contribution to the Study of *Cotula cinerea* Del Essential Oil. *Planta Medica*, 55, 580 p.
- [26].- Sökmen A., Vandar-Ünlü G., Polissiou M., Daferera D., Sökmen M., Dönmez E., 2003.- Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub. Mor. (Asteraceae). *Phytotherapy. Res.* (7): 1005-1010.
- [27].- Boulahbal F, 1993.- *Microbiologie clinique* .Ed Ben aknoun, OPU, 169 p.
- [28].- Grigore A., Colceru-Mihul S., Parschiv I., Nita S., Christof R., Iuksel R., Ichim M., 2012.- Chemical analysis and antimicrobial activity of indigenous medicinal species volatile oils. *Romanian Biotechnological Letters*, 17 (5): 7620-7627
- [29].- Sienkiewicz M., Denys P., Kowalczyk E., 2011.- Antibacterial and immunostimulatory effect of essential oils. *Int. Rev. Allergol. Clin. Immunol.*, vol. 17: 1-2.
- [30].- Jaime A., Da Silva T., 2004.- Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology*, vol. 3 (12): 706-720.
- [31].- Bencheqroun H. K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Chaouch A., 2012.- Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco *Artemisia mesatlantica*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, vol. 81: 4-21.
- [32].- Pierozan M. K., Pauletti G. F., Rota L., Atti Dos Santos A. C., Alberto L., Diluccio M., Oliveira J. V., 2009.- Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of *salvia L.* species. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 29(4): 764-770.
- [33].- Santantoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibanez E., Senorans FJ., Reglero G., 2005.- Chemical composition and antimicrobial activity of *rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J. Food. Prot.*, vol. 68 (4):790-795.