

MSAS

Malian Society of Applied Sciences
Société Malienne des Sciences Appliquées



12^e SYMPOSIUM MALIEN SUR LES SCIENCES APPLIQUÉES

**Cahier des présentations orales
MSAS 2021
Published June 2022**

BIOCHIMIE ET BIOTECHNOLOGIE

EFFICACITÉ DES TRAITEMENTS DE LAVAGES COURANTS POUR RÉDUIRE LES NIVEAUX MICROBIENS SUR LA LAITUE AU MALI



Sanata TRAORÉ*, Fassé SAMAKÉ, Eric W. CORNELIUS, Amadou H. BABANA, Gloria L. ESSILFIE, Daouda DIABATÉ, Mamoutou BENGALY, Abou KONÉ, Habibatou CISSÉ

Effacité des traitements de lavage courants pour réduire les niveaux microbiens sur la laitue au Mali

Sanata TRAORÉ*, Fassé SAMAKÉ¹, Eric W. CORNELIUS², Amadou H. BABANA¹, Gloria L. ESSILFIE², Daouda DIABATÉ¹, Mamoutou BENGALY¹, Abou KONÉ¹, Habibatou CISSÉ¹

Laboratoire de Recherche en Microbiologie et Biotechnologie Microbienne, USTTB Bamako, Mali

*Email de correspondance : sanatatraore21@yahoo.fr

RESUMÉ : La laitue est l'un des légumes les plus cultivés (consommés crus) au Mali avec un pourcentage de 69,4 parmi les légumes feuilles et 30,4 de tous les légumes. Les légumes consommés crus, en particulier la laitue, sont des sources d'agents pathogènes d'origine alimentaire. Cette étude a été menée pour évaluer la contamination bactérienne de la laitue non lavée et l'efficacité de sa désinfection avec de l'eau du robinet et des concentrations variables de certains désinfectants chimiques à savoir eau de javel et vinaigre (0,00285 ; 0,00570 et 0,00855 ppm), permanganate de potassium (170 ; 340 et 510 ppm) et sel ordinaire (500 ; 1000 et 1500 ppm) sur la base des trois lavages consécutifs, protocole recommandé pour les légumes au Mali. Des échantillons de laitue ont été sélectionnés au hasard dans des fermes irriguées avec de l'eau de rivière non traitée dans les communautés cinq et six du District de Bamako. Les feuilles de laitue ont été exposées à une faible concentration des désinfectants chimiques à 15 min, intermédiaire à 10 min et élevée à 5 min. Une désinfection combinée eau de javel (0,00285 ppm)/vinaigre (0,00285 ppm) a également été testée à 15 min. L'eau du robinet, l'eau de javel, le permanganate de potassium, le vinaigre et le sel ordinaire ont réduit les populations de coliformes fécaux de 1,3–2,9 ; 1,5–3,0 et 1,9–3,5 log UFC/100 g, à 5, 10 et 15 min, respectivement. Tous les désinfectants ont complètement éliminé *Salmonella* spp. à tous les temps de contact avec le traitement. Tous les désinfectants chimiques, y compris l'eau du robinet à 15 min, réduisent les populations de coliformes fécaux en dessous du niveau indésirable de l'ICMSF (2011) (1000 UFC/100 g de poids frais). Celles-ci pourraient contribuer à réduire le risque sanitaire lié à la consommation de laitue au Mali.

Mots clés : *Tilapia zillii*, sexe ratio, croissance, lac de Selingué, Mali.

Plan

I. INTRODUCTION

II. MATERIEL ET METHODES

III. RESULTATS ET DISCUSSION

IV. CONCLUSION

V. RECOMMANDATIONS

INTRODUCTION

- La consommation de salade crue est courante dans les pays francophones d'Afrique de l'Ouest dont le Mali. La restauration rapide à Bamako et ses zones périurbaines a la laitue comme l'un de ses ingrédients communs.
- La plupart des laitues fraîches utilisées à Bamako sont cultivées le long des réseaux d'évacuation des eaux usées, des cours d'eau, à proximité des déchets d'ordures où l'eau d'irrigation non traitée est couramment utilisée (Dia, 2017 ; Traoré et al., 2018).
- L'utilisation de ces sources d'eau d'irrigation présentait des niveaux élevés de contamination par les coliformes fécaux supérieurs aux normes recommandées par l'OMS pour l'irrigation sans restriction (Samaké, 2011; Traoré, 2020). Le fumier et les sols contaminés sont aussi des sources potentielles (Traoré, 2020) et sont difficiles à contrôler.



- Le Service de santé du Mali (SSM) a prescrit le protocole suivant pour la désinfection des légumes consommés crus avec le NaClO (0,00285 ppm) ou le KMnO_4 (170 ppm) pendant 15 min.
- La majorité des Maliens ne sont cependant pas au courant de cette méthode de désinfection, signalée comme inefficace pour une désinfection complète de la laitue (Traoré et al., 2013).
- L'efficacité des désinfectants courants des légumes au Mali pour réduire les coliformes fécaux sur la laitue irriguée de Bamako ont ainsi été évalués dans cette étude.



II. MATERIEL ET METHODES

Evaluation de l'efficacité des désinfectants de légumes couramment utilisés afin de réduire la contamination microbienne de la laitue irriguée avec l'eau non traitée

- Matériel experimental- Echantillons composites des feuilles de laitue des fermes de Bamako irriguées avec l'eau de rivière non traitée.

Protocol de désinfection		
Disinfectants	Concentration de desinfectant (ppm)	Temps de contact (mn)
Eau de robinet	-	5
	-	10
	-	15
Eau de javel et Vinaigre	0,00855	5
	0,00570	10
	0,00285	15
Permanganate de Potassium	510	5
	340	10
	170	15
Sel	1500	5
	1000	10
	500	15
Eau de javel/Vinaigre	0,00143/0,00143	15

- *Analyse de données*: Les populations de coliformes fécaux et d'*E. coli* (CFU/100 g) ont été log-transformées et soumises à une ANOVA, et comparés au test HSD de Tukey à ($P < 0,05$) à GenStat 11^{ème} édition.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS... 1/2

Tableau 1 : Populations de coliformes fécaux et réduction du logarithme sur la laitue cultivée avec de l'eau non traitée des rivières de Bamako et lavée avec des désinfectants végétaux à différents moments de contact

Temps de contact (min)	Désinfectant de légume (ppm)	Coliformes fécaux moyens (UFC/100 g)	Réduction logarithmique moyenne des coliformes fécaux (UFC/100 g)
5	Non lavée	4,5	-
	Eau de robinet	3,2 ^c	1,3 ^c
	NaClO (0,00855)	2,0 ^{abc}	2,5 ^{abcd}
	KMnO ₄ (510)	1,6 ^{abc}	2,9 ^{ab}
	Vinaigre (0,00855)	2,1 ^{abc}	2,4 ^{abc}
	NaCl (1500)	2,1 ^{abc}	2,4 ^{abc}
10	Eau de robinet	2,9 ^{bc}	1,6 ^{bc}
	NaClO (0,00570)	1,7 ^{abc}	2,8 ^{abc}
	KMnO ₄ (340)	1,5 ^{ab}	3,0 ^{ab}
	Vinaigre (0,00570)	1,8 ^{abc}	2,7 ^{abc}
	NaCl (1000)	1,7 ^{abc}	2,8 ^{abc}
15	Eau de robinet	2,6 ^{abc}	1,9 ^{abc}
	NaClO (0,00285)	1,0 ^a	3,5 ^a
	KMnO ₄ (170)	1,2 ^a	3,3 ^a
	Vinaigre (0,00285)	1,3 ^{ab}	3,2 ^a
	NaCl (500)	1,1 ^a	3,4 ^a
	NaClO (0,00143)/Vinegar (0,00143)	1,7 ^{abc}	2,8 ^{abc}

Les moyennes dans la colonne suivie de lettres différentes sont significativement différentes (test HSD de Tukey P < 0,05).

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS... 2/2

Tableau 2 : Populations d'*E. coli* et réduction sur la laitue cultivée avec de l'eau non traitée des rivières à Bamako et lavée avec des désinfectants végétaux à différents moments de contact

Temps de contact (min)	Désinfectants de légume (ppm)	Moyenne de la population d' <i>E. coli</i> (UFC /100 g)	Réduction moyenne des populations d' <i>E. coli</i> (UFC/100 g)
	Non lavée	2,8	-
5	Eau de robinet	0,8	2,0
	NaClO (0,00855)	0,7	2,1
	KMnO ₄ (510)	0,7	2,1
	Vinaigre (0,00855)	0,7	2,1
	NaCl (1500)	0,7	2,1
10	Eau de robinet	0,7	2,1
	NaClO (0,00570)	0,7	2,1
	KMnO ₄ (340)	0,7	2,1
	Vinaigre (0,00570)	0,8	2,0
	NaCl (1000)	0,8	2,0
15	Eau de robinet	0,7	2,1
	NaClO (0,00285)	0,7	2,1
	KMnO ₄ (170)	0,7	2,1
	Vinaigre (0,00285)	0,7	2,1
	NaCl (500)	0,7	2,1
	NaClO (0,00143)/Vinaigre (0,00143)	0,0	2,8

- Désinfection complète de *Salmonella* spp. sur des échantillons de laitue avec des désinfectants à tout moment de contact.

IV. CONCLUSION

- Le lavage de la laitue avec les désinfectants chimiques, y compris l'eau du robinet à 15 min, ont réduit les populations de coliformes fécaux en dessous de la concentration maximale acceptable de l'ICMSF (2011) (1000 UFC/100 g de poids frais).
- Les concentrations faibles, intermédiaires et élevées de tous les désinfectants chimiques appliquées respectivement pendant 5, 10 et 15 min, ont réduit les populations de coliformes fécaux sur la laitue de 2,4–2,9 ; 2,7–3,0 et 2,8–3,5 log UFC/100 g.
- Les réductions des populations de coliformes fécaux sur la laitue avec de l'eau du robinet étaient de 1,3 ; 1,6 et 1,9 log UFC/100 g à 5, 10 à 15 min respectivement. Les réductions des populations de coliformes fécaux sur la laitue avec de l'eau du robinet à 15 min étaient similaires à celles des désinfectants chimiques.
- Tous les désinfectants chimiques et l'eau du robinet ont réduit les populations d'*E. coli* sur la laitue et éliminé complètement *Salmonella* spp. indépendamment de la concentration et du temps de contact.
- L'association eau de javel/vinaigre à 15 min a réduit les populations de coliformes fécaux sur la laitue de 2,8 log UFC/100 g et a complètement éliminé *E. coli* et *Salmonella* spp.

V. RECOMMANDATIONS

- Service de Santé du Mali devrait:
 - Etudier l'efficacité de ses deux désinfectants végétaux recommandés, en particulier l'eau de javel à une concentration plus élevée et à plus grande échelle sur les personnes, surtout les enfants.
 - Vérifier si un lavage successif et rinçage entre les lavages avec de l'eau dans une solution de permanganate, d'eau de javel, de sel peut éliminer complètement les niveaux microbiens de la laitue dès la cueillette en faisant un premier lavage et rinçage.

- Les méthodes de désinfection testées dans cette étude devraient être évaluées par les vendeurs d'aliments et les restaurateurs afin de déterminer leurs efficacités sur la laitue et autres légumes crus consommés à grande échelle.

- Une analyse sensorielle suivant les méthodes de désinfection doit également être effectuée.

REFERENCES

- [1] D. Paugy, C. Lévêque C. et G.G. Teugels, Poissons d'eaux douces et saumâtres de l'Afrique de l'Ouest. *Collection faune et flore tropicales, n° 40, MARC/MNHN/IRD*, tome 2, Paris, 2003b.
- [2] J. Quensière, La pêche dans le delta central du Niger. Approche pluridisciplinaire d'un système de production halieutique. *IER/ORSTOM/Karhala*, volume 2, Paris, 1994.
- [3] Y.d.Y. Karambé, Y. Sanogo, I. Savané et I. Yakubu, *Ichthyological diversity trend of sélingué hydroelectric dam lake in Mali. African Journal of Earth and Environmental Sciences*, Maiden edition, 2019, pp. 85-98.
- [4] J. Kantoussan, *Impacts de la pression de pêche sur l'organisation des peuplements de poissons : Application aux retenues artificielles de Sélingué et de Manantali, Mali, Afrique de l'Ouest*. Thèse de doctorat, Agrocampus Rennes, 2007.
- [5] M. El Bakali, M. Talbaoui et A. Bendriss, Période de reproduction, sex-ratio et maturité sexuelle du Rouget de roche (*Mullus surmuletus* L., Téléostéens, Mullidae) de la côte nord-ouest méditerranéenne du Maroc, In *Biologie et Ecologie des poissons d'eau douce africains*, C. Levêque, M. N. Bruton et G. W. Ssentogo, ORSTOM, Paris, pp. 153-175, 1988.
- [6] C. Lévêque, "Croissance et ontogénie", in *Les poissons des eaux continentales africaines. Diversité, écologie, utilisation par l'homme*, C. Lévêque et D. Paugy, Édts IRD, Paris, 2006, pp. 177-190.
- [7] G. Teissier, La relation d'allométrie, sa signification statistique et biologie. *Biometris*, pp. 14-53, 1948.
- [8] A. Q. Siddiqui, 1979. Reproductive biology of *Tilapia zillii* (Gervais) in Lake Naivasha, Kenya. *Environmental Biology of Fishes*, vol. 4, pp. 257-262, 1979.
- [9] H. K. H A. El-Sayed et S.G. Moharram, Reproductive biology of *Tilapia zillii* (Gerv, 1848) from Abu Qir Bay, Egypt. *Egyptian journal of aquatic research*, vol. 33, pp. 379-394, 2007.

- [10] Y. N'guessan, C. Diaha N'Guessan, J. Monin Amande, J.P. Angui Kouamé, E. Edoukou Abekan, F. N'dri Assan et K. N'Da, Sex-ratio, stades de maturité, taille de première maturité et facteur de condition de *Canthidermis maculata* capturé dans l'océan Atlantique Est. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* vol. 11(6): pp. 2876-2886, décembre 2017.
- [11] B.C. Atsé, K. Konan, N.J. Kouassi, Biologie de la reproduction du Cichlidae *Tylochromis jentinki* dans la lagune Ebrié (Côte d'Ivoire). *Cybium*, vol. 33 (1): pp. 11-19, 2009.
- [12] E. D. Zouakh, F. Chebel, A. Bouaziz et M. Karah., Reproduction, age and growth of *Tilapia zillii* (Cichlidae) in Oued Righ wetland (southeast Algeria). *Cybium : International Journal of Ichthyology*, vol. 40 (3): pp. 235-243 2006.
- [13] L. Boni, C. S. K. Nobah, K.J. Konan, S. Coulibaly, A. S. Tidou et B. C. Atsé., Relation longueur-poids pour 15 espèces de Poissons exploitées dans la Lagune Ebrié, Côte d'Ivoire (Afrique de l'Ouest). *European Scientific Journal*, vol. 15, n°.21, pp. 1857-7881, 2019.
- [14] W. F. A. Mahomoud, A. M. M. A. Amin, K. F. E. Ramadan et R. A. M. El-Halfawy, 2011. Reproductive biology and some observation on the age, growth, and management of the *Tilapia zillii* (Gerv, 1848) from Lake Timsah, Egypte. *International Journal of Fisheries and Aquaculture* , vol. 3 (2), pp. 16-26, février 2011.
- [15] D. Plisnier, J. C. Micha et V. Frank, *Biologie et exploitation des poissons du Lac Ihema (Bassin Akagera, Rwanda)*. Presses Universitaires de Namur, 1988.
- [16] J. C Micha, *Etudes des populations piscicoles de l'Ubanguï et tentatives de sélection et d'adaptation de quelques espèces à l'étang de pisciculture*. Centre Technique Forestier Tropical, Nogent-sur-Marne, 1973.
- [17] A. Bladier, *Relation entre sex ratio et taille de population chez les vertébrés*. DESS en informatique documentaire, Université Claude Bernard, Lyon 1, 1995.
- [18] T.B. Bagenal et F. W. Tesch, "Age and Growth", in *Methods for Assessment of Fish Production in Freshwater*, T. Bagenal Ed., IBP Handbook 3. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, 1978, pp. 101- 136.

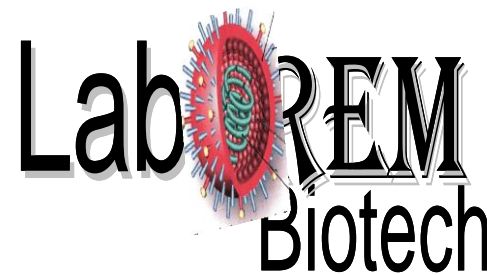


Borlaug Higher Education for
Agricultural Research and Development



INTERNATIONAL
FOUNDATION FOR
SCIENCE

*Je vous remercie pour votre
aimable attention*



SEXE RATIO ET RELATION TAILLE POIDS CHEZ LE CICHLIDE *TILAPIA ZILLII* (GERVAIS, 1853) PECHE DANS LE LAC DE SELINGUE AU MALI

Youssef Sanogo¹, Adama Konaté¹, Namourou Dembélé¹, Kadiatou Traoré¹, Ramata Diop¹, Fassé Samaké² et Diakaridia Traoré¹.

1. Faculté des Sciences et Techniques (FST), Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), BP E 3206 Bamako, Mali. Tél. (223) 20 22 32 44, Fax (223) 20 23 81 68.

2. Institut des Sciences Appliquées (ISA), Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, BP E 3206 Bamako, Mali.

**12^{ème} Conférence MSAS
(Bamako, 01 au 06 août 2021)**

Effets des phytohormones sur la production des semences chez *Ananas comosus* merrill var. *cayenne* par les techniques de culture *in vitro*

Hubert Dieu Béni Elian^{1,3*}, Fotso^{1,2} et Denis OmokoloNdoumou¹

¹Laboratoire de Physiologie et Biochimie Végétales, Ecole Normale Supérieure, Université de Yaoundé 1. Yaounde, Cameroun

²Département de Biologie, Ecole Normale Supérieure de Bamili, Université de Bamenda, Bamenda, Cameroun

³Département d'Agriculture, Institut Supérieur de Développement Rural, Université de Bangui, Bangui, République centrafricaine

Courriel de l'auteur correspondant : eliandieubeni@gmail.com

RESUME : *Ananas comosus* (Bromeliacée) est une herbacée pérenne purement tropicale dont les fruits sont appréciés. L'espèce cultivée est diploïde auto-incompatible et produit peu de semences. La présente étude a pour principal objectif de rechercher les conditions de culture *in vitro* favorables à la régénération rapide et en masse des plants d'*Ananas comosus* afin d'établir un protocole pour la propagation. L'explant utilisé est l'apex issu de la couronne. Après désinfection, les apex prélevés sur les couronnes d'*Ananas comosus* var. *cayenne*, sont mis en culture sur un milieu Murashige et Skoog (MS) complet contenant différentes concentrations de Benzylaminopurine (BA), de la kinétine (Kin), d'acide 2,4-Dichlorophénoxyacétique (2,4-D), d'acide Naphtalène Acétique (NAA) ainsi des combinaisons BA/NAA et BAP/2,4-D ont été étudiés. L'ANA favorise la callogenèse avec des maxima de 87,5 % avec 3 ou 4 mg.l⁻¹ contre 100 % en présence de 1,5 ou 2 mg.l⁻¹ 2,4-D. La BAP à 2 mg.l⁻¹ et la Kin à 3 mg.l⁻¹ ont permis la prolifération de plus de 100 bourgeons par cal. Le rapport BAP/ANA à 2/2 mg.l⁻¹ a permis l'enracinement et la néoformation des feuilles des vitroplants avec un nombre moyen de maximal de 11,16 ± 1,4 feuilles et 8,8 ± 1,2 racines par vitroplants et 11,41 ± 2,00 feuilles et 9,8 ± 2,5 racines en présence de 2/3 mg.l⁻¹ de BAP/2,4-D.

Mots clés : Phytohormones, *Ananas comosus*, culture *in vitro*, vitroplants.

certains plantules ont été acclimatées sur un mélange terre vermiculite. L'acclimatation des vitroplants pendant 70 jours a réussi à 86 %. Les apex sont de bons matériels de départ pour la régénération indirecte d'*Ananas comosus*. Leur utilisation permet de régénérer un grand nombre de vitroplants et augmente ainsi les potentialités de production *in vitro* de matériel végétal sain chez *A. comosus*.

PLAN DE L'EXPOSE

I. Introduction

II. Matériel et méthodes

III. Résultats/discussion

IV. Conclusion

Remerciements

I. INTRODUCTION

Tilapia zillii est un poisson largement reparté en Afrique de l'Ouest.

Au Mali, on le rencontre dans les bassins des fleuves Sénégal et Niger.

Dans le haut bassin du Niger, *Tilapia zillii* est présent et on le rencontre dans les captures de la pêche artisanale.

Au lac de Sélingué, l'espèce occupe une place importante parmi les 20 principales espèces pêchées où elle a occupé la 4^{ème} place en 2007 avec 219 tonnes soit 6,80%.

I. INTRODUCTION

Au regard de son importance pour la pêche artisanale, le sexe ratio et la relation taille-poids, deux processus importants dans la reproduction ont été étudiés.

- ✓ La proportion de mâles et de femelles (sexe ratio) peut affecter le succès reproductif.
- ✓ La relation taille-poids permet d'évaluer la croissance, l'un des processus les plus complexes de l'organisme. La forme du poisson peut changer avec cette croissance dite allométrique.

I. INTRODUCTION

- Une partie de l'énergie consommée par le poisson va être utilisée pour accroître la masse pondérale, mais cette part d'énergie mobilisée pour fabriquer de la matière vivante dépend de l'âge des individus, de leur état physiologique, des conditions de leur environnement, etc.

Le sexe ratio et la relation taille poids chez *Tilapia zillii* ont été étudiés dans d'autres localités en Afrique (Egypte, Côte d'Ivoire, Kenya...).

A notre connaissance, la présente étude est la première chez cette espèce dans les eaux du lac de Sélingué.

II. MATERIEL ET METHODES

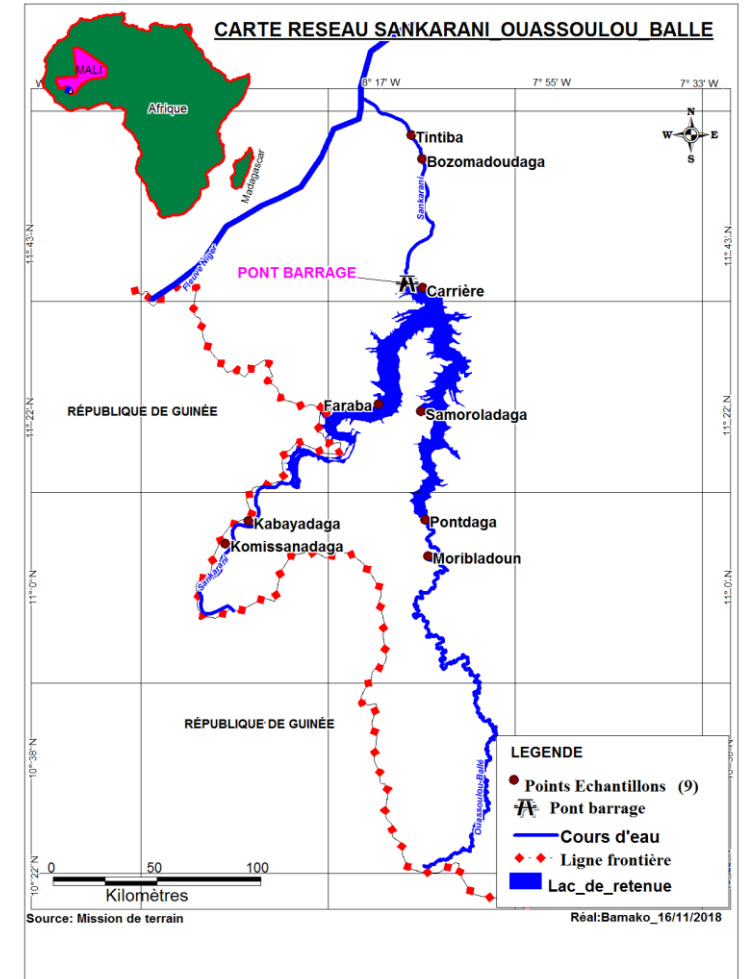
Site de l'étude

L'étude a été menée au lac de Sélingué situé sur la rivière Sankarani, principal affluent du fleuve Niger (Figure 1).

Matériel et méthodes

- Les poissons ont été prélevés au débarcadère de Carrière de juin 2019 à mai 2020
- Les poissons ont été mesurés et pesés respectivement à l'aide d'un pied à coulisse gradué en mm avec 0,01mm de précision et d'une balance de 2000g portée et 0,01g de précision.

Figure 1 : Localisation de la zone d'étude



II. MATERIEL ET METHODES

Matériel et méthodes (suite)

- Les mensurations ont porté sur la longueur standard
 - Les opérations de pesée sur le poids total.
 - La détermination des sexes a été faite après dissection grâce à l'échelle de maturité sexuelle des gonades de De Kimpé.
- Ces opérations ont été faites sur le terrain.

II. MATERIEL ET METHODES

Matériel et méthodes

Détermination du sexe ratio

$$\textit{Sex - ratio} = \frac{\textit{Nombre de mâles}}{\textit{Nombre de femelles}}$$

Il permet de suivre le comportement des individus de chaque sexe durant leur cycle vital en fonction des saisons et peut conditionner la fécondité d'un stock reproducteur.

Détermination du taux de féminité

$$\textit{Taux de féminité} = \frac{\textit{Nombre de femelles}}{\textit{Nombre de mâles} + \textit{Nombre de femelles}} \times 100$$

II. MATERIEL ET METHODES

Matériel et Méthodes

Détermination de la relation taille-poids

La relation entre la longueur (L) des poissons et leur poids (P) est en général de type exponentiel. Elle est déterminée par la relation de Teissier :

$$Pt = aLt^b$$

Par transformation logarithmique, on obtient une relation de type linéaire :

$$\log P = \log a + b \log L$$

➤ Cette transformation permet de réduire la variabilité et d'homogénéiser les variables (P et L).

✓ Nous avons utilisé pour la présente étude le poids total (Pt) en gramme et la longueur standard (Ls) en mm.

II. MATERIEL ET METHODES

Matériel et Méthodes

Détermination de la relation taille-poids

Le coefficient b : Pente de la droite de régression exprime la forme relative du corps d'un poisson par rapport à la taille dans un environnement donné.

Si $b = 3$: la croissance est dite isométrique.

Si $b \neq 3$: la croissance est allométrique :

- $b < 3$: la croissance est allométrique minorante (meilleure en taille qu'en poids) ;
- $b > 3$ la croissance est allométrique majorante (meilleure en poids qu'en longueur) ;

Les tests Chi^2 et t de Student ont été utilisés pour les analyses statistiques.

III. RESULTATS/DISCUSSION

Tableau 1: Le sexe ratio global pendant la période de juin 2019 à mai 2020

Mois	Nombre de mâles	Nombre de femelles	Sexe ratio
Juin	33	16	2,06
Juillet	36	22	1,64
Août	45	10	4,50
Septembre	42	15	2,80
Octobre	51	3	17,00
Novembre	35	18	1,94
Décembre	36	15	2,40
Janvier	37	16	2,31
Février	23	28	0,82
Mars	42	8	5,25
Avril	37	13	2,25
Mai	36	16	2,25
Total	453	180	2,52
Valeur de Chi2 à 95% = 42,396 ; p<0,0001 Valeur du t-test de Student à 95% : t =2,212 ; p-value = 0,0377			

III. RESULTATS/DISCUSSION

Evolution mensuelle du sexe ratio

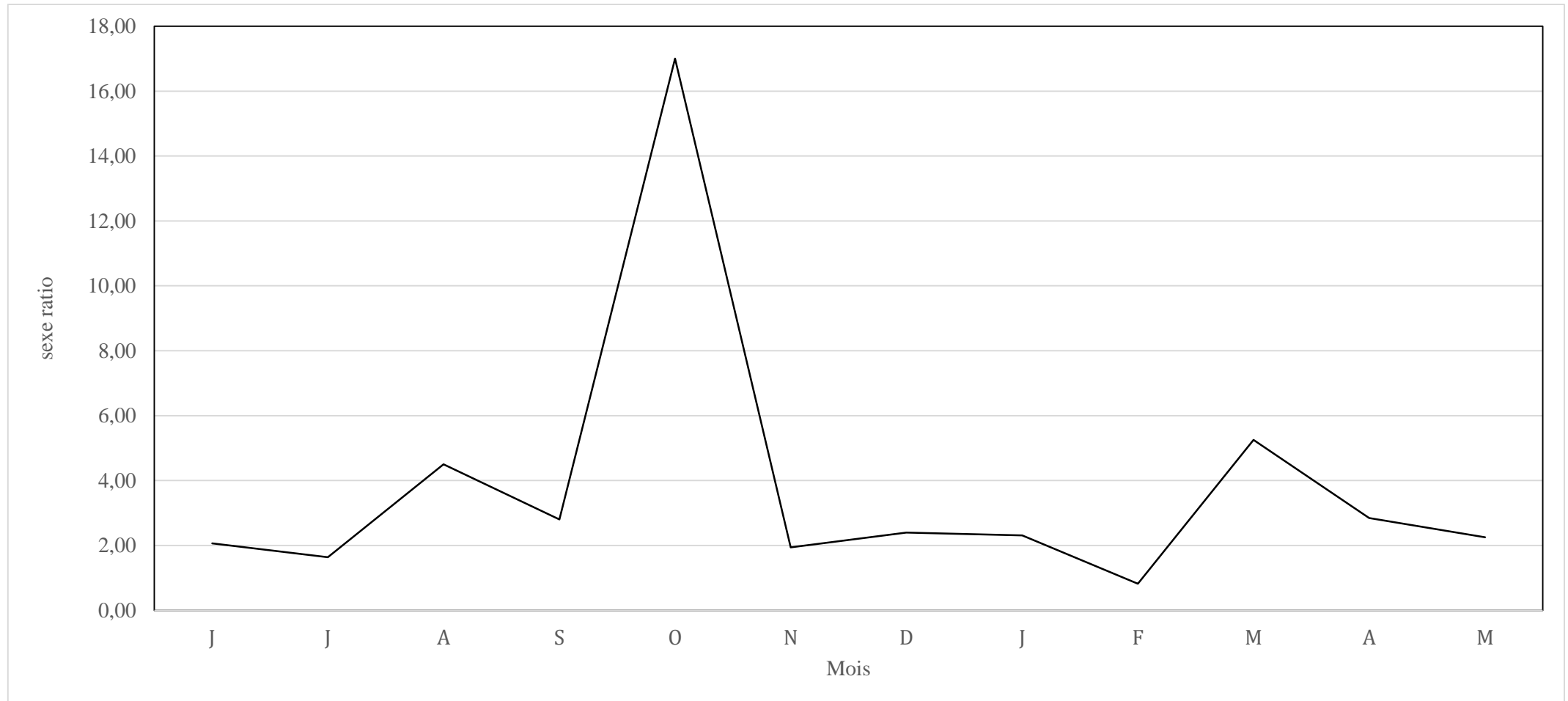


Figure 2. Courbe de l'évolution mensuelle du sexe ratio

III. RESULTATS/DISCUSSION

Tableau 2. Répartition du taux de féminité de *T. zillii* pendant la période de juin 2019 à mai 2020

Mois	Nombre de femelles	Nombre de mâles	Nombres femelles + mâles	Taux de féminité (%)
Juin	16	33	49	32,7
Juillet	22	36	58	37,9
Août	10	45	55	18,2
Septembre	15	42	57	26,3
Octobre	3	51	54	5,6
Novembre	18	35	53	34,0
Décembre	15	36	51	29,4
Janvier	16	37	53	30,2
Février	28	23	51	54,9
Mars	8	42	50	16,0
Avril	13	37	50	26,0
Mai	16	36	52	30,8
Total	180	453	633	Taux global = 28,4
Valeurs du test-t de Student à 95% : $t = 8,06$; $p\text{-value} = 0,0000$				

III. RESULTATS/DISCUSSION

L'étude a montré que, dans les captures de la pêche artisanale explorées, le sexe ratio global chez *Tilapia zillii* était en faveur des mâles.

Le taux global de féminité était faible.

- Contrairement à notre étude, certains auteurs ont trouvé une distribution des sexes de *Tilapia zillii* en faveur des femelles :
 - dans le lac Naivasha au Kenya (Siddiqui, 1979) ;
 - dans la zone humide saharienne de l'Oued Righ au Sud-Est algérien (Zouakh et al., 2006) ;
- Dans de nombreux cas, il existe un équilibre entre le mâle et la femelle (1:1) dans la population de poissons (N'guessan et al., 2017) signalé chez l'espèce dans la baie d'Abu Qir en Egypte (El-Sayed et Moharram, 2007).

III. RESULTATS/DISCUSSION

Selon Bladier (1995), les facteurs pouvant amené un déséquilibre du sexe ratio chez une population sont :

- une dispersion à la fin de la période d'investissement parental différente selon les sexes ;
- *des schémas de migration différents ;*
- *des différences de distribution spatiale ;*
- une mortalité sélective et une structure sociale avec harem.

Le déséquilibre constaté au cours de notre étude en faveur des mâles pourrait être expliqué aussi par le niveau d'investissement parental pendant la période de reproduction et la vulnérabilité des mâles aux engins de pêche.

III. RESULTATS/DISCUSSION

La relation taille-poids

Tableau 3: Les paramètres de la relation taille-poids des échantillons de juin 2019 à mai 2020.

Sexe	Nombre	a	b	R
Mâle	352	0,0117	3,03	0,98
Femelle	134	0,0126	2,99	0,98
Mâle + Femelle	486	0,012	3,02	0,98
Test-t de Student (t= 1,1094 ; p-value = 0,3295)				

La pente b traduisant la croissance était de 3,02 pour les poissons échantillonnés. Cependant, elle était variable selon le sexe soit 3,03 pour les mâles contre 2,99 pour les femelles. Les valeurs des pentes b étaient statistiquement différentes au test t de student.

III. RESULTATS/DISCUSSION

Variation mensuelle de l'allométrie

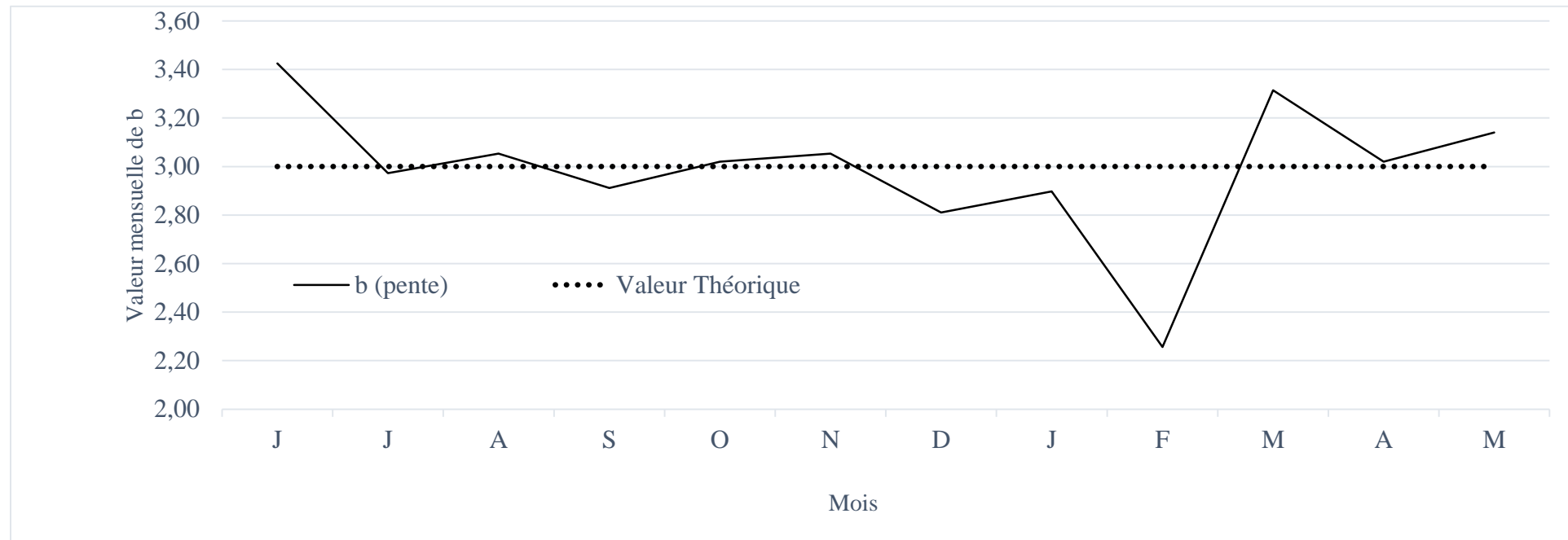


Figure 3. Courbe de la variation mensuelle de l'allométrie chez les poissons récoltés de juin 2019 à mai 2020.

Allométrie était sous la courbe de la valeur théorique 3 (isométrie) en juillet et septembre puis de novembre à février. Elle est restée au-dessus de la courbe de la valeur théorique ou légèrement au cours des autres mois.

III. RESULTATS/DISCUSSION

- Pour l'ensemble des échantillons et des deux sexes, la croissance était isométrique.

- Par contre, il existe une variation temporelle de la croissance qui était allométrique positive (majorante) en saison des pluies ou négative (minorante), en partie, en saison sèche (différence statistique avec la valeur théorique 3).

- Ces variations sont dues aux fluctuations saisonnières des paramètres environnementaux, aux conditions physiologiques du poisson au moment de la collecte, au sexe, au développement des gonades et aux conditions nutritives dans l'environnement des poissons (Boni et al., 2019).

III. RESULTATS/DISCUSSION

- *Tilapia zillii* a présenté des coefficients b de 2,975 chez le mâle et 3,0055 et chez la femelle au lac de Timsah, 2,9 dans la population du lac de Quaurun et 2,69 au lac Edko en Egypte (Mahomoud et al., 2011).
- En Côte d'Ivoire, dans la lagune Ebrié, des hybrides *Tilapia zillii* et *Tilapia guineensis* ont présenté une croissance isométrique, b non différent de la valeur théorique 3 [Boni et al., 2019).
- Cependant, les valeurs de b de notre étude étaient dans les limites déclarées (entre 2 et 4) pour la plupart des poissons (Bagenal et Tesch, 1978).

IV. CONCLUSION

- L'étude a montré plus de mâles que de femelles dans les captures avec un taux de féminité de 28,4%.
 - L'allométrie, variable d'un mois à l'autre, restait négative pendant une longue période de la saison sèche mais positive pendant la saison des pluies.
 - La croissance globale de l'espèce était isométrique malgré les variations mensuelles.
 - L'étude doit se poursuivre pour confirmer les tendances obtenues.
- Les résultats semblent indiquer que *Tilapia zillii* serait un bon candidat, pour les aménagements hydroagricoles, dans le cadre de la pisciculture villageoise.

REFERENCES

- [1] N.D. Omokolo, Fotso, M. A. Tita, N. Niemenak, “Régénération directe *in vitro* de l’*Ananas comosus* (L) Merrill var. *Cayenne* à partir des couronnes cultivées en milieu liquide”. *Fruits* 56 (6) : 415-421, 2001.
- [2] M. F. Duval, J. L. Noyer, X. Perrier, G. Coppens d’Eeckenbrugge, P. Hanon, “Molecular diversity in pineapple assessed by RFLP markers”. *Acta Hort*, 102 :83-90, 2001.
- [3] Z. E. Koulong, “Etude du marché des rejets et son influence sur l’instabilité de la production du plantain”. Mémoire du DESS, Université de Yaoundé 1, 42p, 1999.
- [4] T. Murashige, F. A. Skoog, “Revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue”. *Physiol. Plant* 15: 473-497, 1962.
- [5] G. Morel R. H. Wetmore. “Fern callus tissues culture. *Ann. J. Bot.* 38:141-143, 1951.
- [6] R. A. Drew, “Pineapple tissue culture unequalled rapid multiplication”, *Qld. Agric. J.* 106 (5) 447-451. 1980.
- [7] S. Dos Silveira, “Bouturage et microbouturage et *Fraxinus excelsior* L. Aspects morphogéniques et cytophysiologiques”. Thèse de doctorat. Université de Paris VI. 310 p, 1994.
- [8] P. Dublin, “Les techniques de production végétative *in vitro* et amélioration de *Cola nitida* chez les caféiers cultivés”. *Café Cacao Thé* 28 :231-244, 1984.
- [9] A. D. Leege and R. R. Triperi, “Rapid adventitious shoot regeneration from leaf explants of European birch”. *Plant Cell*. 32:123-129, 1993.
- [10] Fotso, “Organogenèse *in vitro* de quelques espèces forestières à usages multiples”. Thèse de doctorat d’Etat, Université de Yaoundé 1. 160 p. 2005.

- [11] F. Graciela and B. P. Alicia, "Optimized Growth Conditions and determination of the catalytic type of the peptidase complex from a novel callus culture of pineapple (*Ananas comosus*)". *Plant Cell*. pp. 39-49, 2003.
- [12] Oumar, Fotso, N.D. Omokolo, "Données préliminaires sur la morphogenèse *in vitro* chez *Irvingia gabonensis* et *Irvingia wombolu*". *Biosciences proceedings*. 8:173-177, 2001.
- [13] G. Ducreux, J. Butser, R. Haicour, D. Lavergne, E. Picard, D. Shihachakr, "Recherche récente et Biotechnologie de multiplication végétative". Cahier d'Agriculture 7 : 447-448, 1988.
- [14] M. Signone, "Effet de l'ANA, du 2,4-D et de la BAP sur l'induction des bourgeons et la régénération *in vitro* d'*Ananas comosus* var. Cayenne (Broméliacée)". Mémoire de DIPES II ENS, université de Yaoundé I. 30p, 2000.
- [15] M. Fokone, "Effet de l'ANA et de la BAP sur la régénération *in vitro* de l'ananas (*Ananas comosus* Merrill)". Mémoire de DIPES II ENS, Université de Yaoundé I. 30p. 1999.
- [16] M. Toubia, "Effets de la BAP et de la Kinétine sur la prolifération *in vitro* des bourgeons d'*Ananas comosus* var. Cayenne à partir des apex". Mémoire de DIPES II ENS, Université de Yaoundé I. 33p, 2001.
- [17] J.P. Zrýd, 1988. "Méthodologie générale. In : culture des cellules, tissus et organes végétaux. Fondements théoriques et utilisation pratiques". *Presses polytechniques*. Romandes, Lausanne, Suisse. 3-11.
- [18] R. Auge, "Les phénomènes physiologiques liés à la réalisation des cultures *in vitro*. In : La culture *in vitro* et ses applications horticoles". 3è (eds). pp.7-15, 1989.
- [19] M. Belaizi, M.R. Bolen, P. Boxus, "Régénération *in vitro* et acclimation du caroubier (*Cerotonia siliqua* L.)" Ed. AUPEL-UREF. Paris. pp. 227-232, 1994.
- [20] H. D. B. Elian. "Micropropagation du manioc (*Manihot esculenta* Crantz) et évaluation des marqueurs biochimiques de résistance à *Colletotrichum gloeosporioides* Penz". Thèse de Doctorat/Ph.D. Université de Yaoundé I. 143 p, 2017.

REMERCIEMENTS

Ils sont adressés :

- au Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST) du Mali et le Secrétariat Exécutif du Fonds Compétitif pour le Recherche et l'innovation Technologique (FCRIT) pour le financement de l'étude.
- aux communautés de pêche et les services techniques de la pêche de la commune de Baya pour les collaborations dans la recherche des poissons.
- aux anonymes qui ont bien voulu participer à la lecture de l'article.

MERCI DE VOTRE AIMABLE ATTENTION



Tilapia zillii

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique (MESRS)



REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple – Un But – Une Foi



**ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE DES FARINES DE
BLE ET INFANTILE RECEPTIONNEES AU
LABORATOIRE NATIONAL DE LA SANTE DE
JANVIER A JUIN 2020**

**Rokiatou Lamine MAIGA^{1,2}, Brahima B. TRAORE², Hamadoun Abba TOURE¹,
Alou BARRY²**

¹ Laboratoire National de la Santé

² Institut des Sciences Appliquées – USTTB

Qualité physico-chimique des farines de blé et infantiles réceptionnées au Laboratoire National de la Santé (Ins) de janvier à juin 2020

Rokiatou L Maiga^{1*}, Brahima B Traoré^{2*}, Hamadoun A Touré³, Alou Barry²

¹Laboratoire National de la Santé, Mali

²Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako/ Institut des Sciences Appliquées, Mali

³Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako/ Faculté de Pharmacie, Mali

*Courriel de l'auteur de correspondance: brahimab.traore@usttb.edu.ml

RESUME : Au Mali, le pain occupe une part non négligeable dans la ration alimentaire journalière des zones urbaines. Il est le résultat de la mise en œuvre de la farine de blé, d'eau, de levure, de sels et de divers améliorants. Aujourd'hui en plus de la quantité, le consommateur est de plus en plus exigeant en termes de qualité du pain, ce qui nécessite un blé de bonne qualité technologique. Cette dernière est actuellement très recherchée.

Par ailleurs, la malnutrition est la cause la plus importante de mortalité infantile dans notre pays. Elle est caractérisée sur le plan clinique par un apport insuffisant ou excessif de protéines, d'énergie et de micronutriments ainsi que par les infections et les troubles fréquents qui en résultent. La malnutrition se répercute également sur la croissance physique et le développement psychomoteur des enfants (OMS, 2000). Aussi, laisse-t-elle chez des millions de survivants des séquelles permanentes sous forme d'infirmité, de maladies caractérisées par un retard de croissance physique et intellectuelle (FAO, 2009).

L'alimentation de l'enfant participe étroitement aux différents processus de son développement par le choix des aliments progressivement introduits et par des apports quantitativement et qualitativement adaptés à ses besoins évolutifs (Ancellin et Dumas, 2004). Actuellement la farine infantile enrichie est proposée comme solution alternative à la malnutrition.

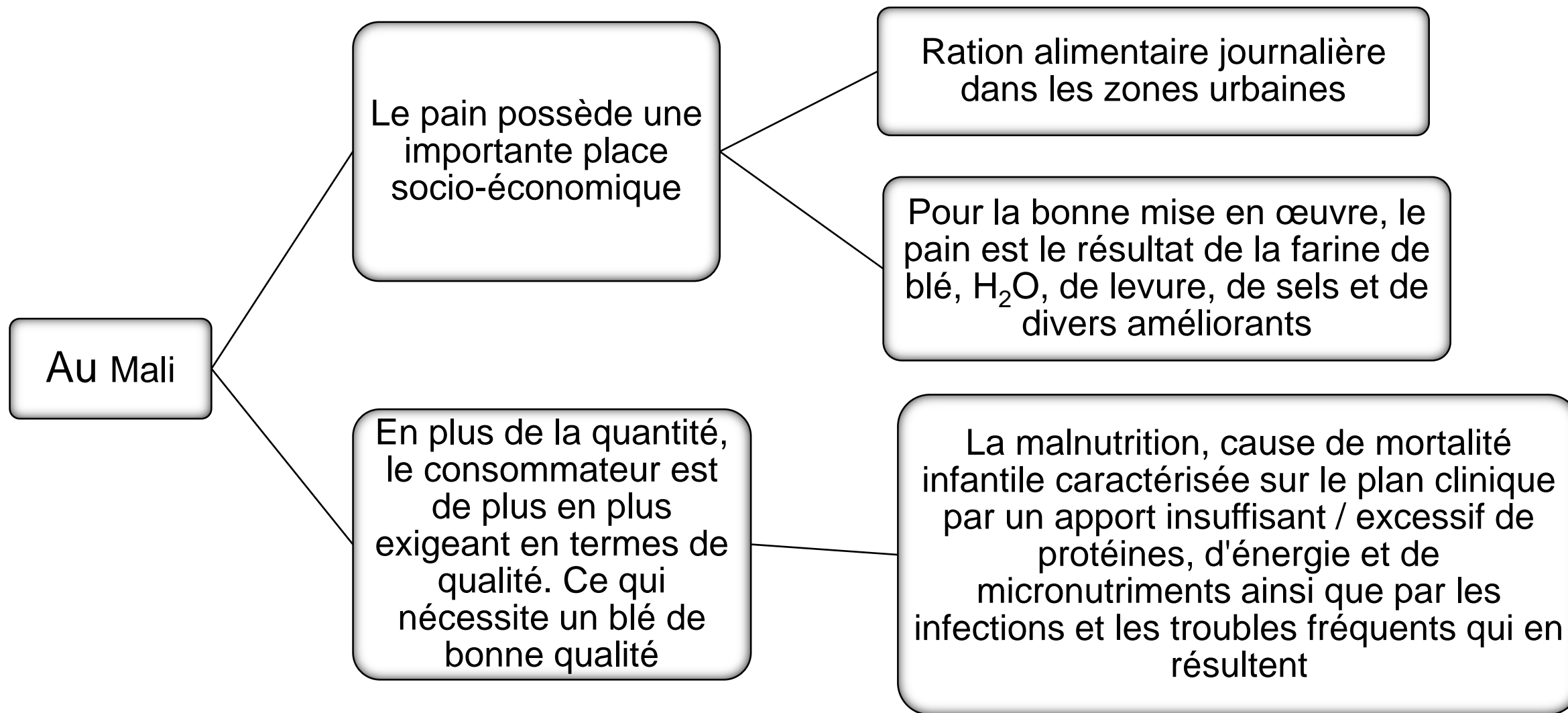
Mots clés : Qualité physico-chimique, farine de blé, Farine infantile, Mali.

Face aux différents constats qui précèdent, il urge d'ouvrir une étude sur la qualité physico-chimique des farines de blé et infantiles. Cette étude a pour objectif d'évaluer la qualité physico-chimique des farines de blé et infantiles produites et vendues localement. Au total 21 échantillons dont 9 farines de blé et 12 farines infantiles de production locale ont été analysés au Laboratoire National de la Santé. L'évaluation des caractéristiques physico-chimiques a été faite par la mesure des paramètres chimiques et physiques des farines. Ces analyses ont porté principalement sur la détermination du pH, du taux d'humidité, de la teneur en cendre, de l'acidité totale, de la matière grasse, du gluten, des protéines et des glucides. L'analyse a révélé une présence de non-conformité (en référence aux normes du Codex Alimentarius et de l'AMANORM) pour certains paramètres des farines de blé et infantiles. Les analyses physico-chimiques ont mis en relief pour l'ensemble des échantillons certaines valeurs de pH légèrement élevées : farine de blé (pH 7,8-7,9-7,9 et farine infantile pH 7,8) bien que la teneur en humidité des variantes de farines analysées soit conforme aux standards utilisés (Codex Alimentarius et AMANORM) excepté deux échantillons de farine infantile (humidité 8,9 et 10,0). Aussi la teneur en matière grasse est en deçà des valeurs normatives (Codex Alimentarius et AMANORM). Cependant la totalité des farines infantiles analysées pour leur taux de glucides est conforme aux spécifications du laboratoire (Codex Alimentarius et AMANORM). L'étude des paramètres physicochimiques nous a conduits à la conclusion suivante : le taux d'humidité pour les échantillons de farine de blé était conforme aux normes du codex Alimentarius et de l'AMANORM ; le taux de cendre a permis de renseigner la pureté des échantillons.

Plan

- INTRODUCTION
- OBJECTIFS
- MATERIEL ET METHODES
- RESULTATS ET INTERPRETATIONS
- CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

INTRODUCTION



OBJECTIFS

OBJECTIF GENERAL

Contribuer à améliorer la qualité des farines de blé et infantile

Evaluer quelques paramètres physico-chimiques des farines de blé(humidité, cendres ...)

**OBJECTIFS
SPECIFIQUES**

Analyser la qualité physico-chimique de quelques farines infantiles à base de céréales,

MATERIEL ET METHODES (1/2)

MATERIEL



Fig. 1 : Balance analytique



Fig. 2 : Extracteur des lipides



Fig. 3 :Titrteur automatique



Fig. 4 : Etuve



Fig. 5 : Dessiccateur

MATERIEL ET METHODES (2/2)

METHODES

- Taux d'humidité (dessiccation) ;
- Dosage de l'acidité ;
- Dosage du gluten ;
- Taux des cendres (incinération) ;
- Détermination des matières grasses ;
- Détermination des glucides totaux ;
- Détermination des protéines ;
- Mesure du pH.

RESULTATS ET INTERPRETATIONS (1/4)

RESULTATS

Tableau I : valeurs des caractéristiques physico-chimiques de la farine de blé

Farines de blé	pH	Humidité %	Cendres %	Acidité totale (g H ₂ SO ₄ /100)	Matière grasse %	Gluten %
E1	6,25	11,05	0,8	45,46	1,28	10,67
E2	6,2	10,97	0,7	44,59	1,48	9,9
E3	6,81	11,31	0,63	4,73	12,27	2,09
E4	6,86	10,52	0,64	32,86	7,87	8,56
E5	6,68	10,98	1,17	41,34	8,95	9,63
E6	6,85	9,48	4,19	32,48	1,21	9,53
E7	7,91	11,96	3,89	41,74	1,55	14,74
E8	7,84	4,08	6,69	68,96	1,17	9,39
E9	7,86	8,26	3,18	52,07	1,34	9,42
Valeurs guides	6,20 ≤ pH ≤ 7,91	4,08 ≤ TH ≤ 11,96	C ≤ 0,75	4,73 ≤ AT ≤ 68,96	1,17 ≤ MG ≤ 12,27	2,09 ≤ G ≤ 14,74

RESULTATS ET INTERPRETATIONS (2/4)

RESULTATS

Tableau II : valeurs des caractéristiques physico-chimiques des farines infantiles

Farines de céréales	pH	Humidité %	Matière grasse %	Protéines %	Glucides totaux %
E1	4,89	3,94	7,87	0,86	89,56
E2	4,94	6,29	7,96	0,78	57,61
E3	4,91	3,99	1,84	0,12	71,16
E4	4,9	4,18	7,64	1,14	61,3
E5	4,56	8,9	7,75	0,69	63,5
E6	5,05	3,15	7,87	0,78	61,04
E7	4,65	4,71	9,42	0,34	61,04
E8	6,48	9,96	7,04	2,62	62,76
E9	7,79	4,57	12,07	1,22	77,63
E10	6,38	2,98	7,11	10,42	70,99
E11	6,4	2,08	8,81	10,60	65,71
E12	6,425	1,71	7,7	9,96	61
Valeurs guides	$6,20 \leq \text{pH} \leq 7,91$	$4,08 \leq \text{TH} \leq 11,96$	$1,17 \leq \text{MG} \leq 12,27$	$\text{P} \geq 8$	$\text{G} > 60$

RESULTATS ET INTERPRETATIONS (3/4)

INTERPRETATIONS FARINES DE BLE

- ❑ Les échantillons E3 et E4 analysés, les taux des cendres n'étaient pas conformes aux spécifications du laboratoire ;
- ❑ Les résultats du taux d'humidité obéissent tous à la norme indiquée ;
- ❑ Le gluten de mauvaise qualité s'hydrate facilement, plus visqueux et moins élastique que celui de bonne qualité.

RESULTATS ET INTERPRETATIONS (4/4)

INTERPRETATIONS FARINES INFANTILES

- ❑ Sept (07) échantillons analysés n'étaient pas conformes aux spécifications du laboratoire ;
- ❑ Cinq (05) échantillons avaient au moins un paramètre non-conforme ;
- ❑ Seule la teneur en matière grasse répondait aux normes de spécifications.

CONCLUSION

- ❑ Cette étude visait à évaluer la qualité physico-chimique des farines de blé et infantile produites localement et analysées au Laboratoire National de la Santé ;
- ❑ Sur 21 échantillons analysés (farines de blé et infantile), 7 ne répondaient aux normes de spécifications du Laboratoire (soit 33,33 % de non-conformité) ;
- ❑ Soixante quinze (75%) des échantillons de farine infantile ne répondaient pas normes admises en protéines et plus de la moitié était non conforme pour la mesure du pH.
- ❑ Pour la teneur en gluten, la presque totalité des échantillons était conforme à la norme

RECOMMANDATIONS

AUX AUTORITES ET
CONSOMMATEURS

- Sensibiliser la population pour l'achat de farine contrôlée selon le règlement analytique
- Renforcer le suivi et l'évaluation des unités de productions et de transformations

AUX
PRODUCTEURS

- Veiller sur la qualité des farines produites par un contrôle systématique des paramètres

Références

- [1] ADRAIN J. Composition et valeur nutritionnelle du pain .In : GUINET R., GODON B., 1996. La panification française. Paris, Lavoisier, p .p . 481-489. (collection sciences et technique agroalimentaires).
- [2] Ancellin, R. & Dumas C. (2004). La santé vient en mangeant et en bougeant. Livret d'accompagnement du "Guide nutrition des enfants et ados pour tous les parents" destiné aux professionnels de santé. Programme National Nutrition-Santé. AFSSA, 15lp.
- [3] BENGRICHE, Thoraya, Tiliouine, Nasrine, Youyou, Soroya. Analyse physicochimiques et technologiques des farines issues du moulin de Baghlia 2017.
- [4] BENHANIA Z. Etude de la fabrication de la farine et contrôle de sa qualité, mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie .p ; 52. 2013.
- [5] BENSEDDIK S. Evaluation de la qualité technologique et physico-chimique des farines produites par les différentes minoteries de la Wilaya de Tlemcen.2017.
- [6] FAO (2009). La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture. <http://www.fao.org/3/i0680f/i0680f.pdf>. Février 2021. Rome, 202 p.
- [7] FEILLET P. Le grain de blé composition et utilisation. Ed. INRA. Paris, 308p, 2000.
- [8] GODON B. La panification française. Paris, (collection sciences et technique agroalimentaires). Lavoisier, p .481-489. 1996.
- [9] KOUASSI, K. A. A., ADOUKO, A. E., GNAHE, D. A., GBOGOURI, G. A., KOUAKOU, B. D. & GNAKRI, D. Comparaison des caractéristiques nutritionnelles et rhéologiques des bouillies infantiles préparées par les techniques de germination et de fermentation. International Journal Biogotcal and Chemical Sciences, 9 (2) : 944-953. 2015.
- [10] LEVEQUE E, HAYE B, BELARBI A. L'amidon et ses dérivés, applications industrielles, Collection Bio Campus, Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS. P 14. 2000.

- [11] MALKI R., MALKI Y., Détermination des caractéristiques physico-chimiques et technologiques des différents passages d'un moulin industriel ERIAD TADEMAIT 2016.
- [12] OMS (2000). Turning of the malnutrition: responding to the challenge of the 21st century. WHO, Geneva, Switzerland, 2000, 2 p.
- [13] ROMAIN J., THOMAS C., PIERRE S., GERARD B. Science des aliments : biochimie-procédés-produits. Lavoisier, Paris ; p 449. 2007.

**MERCI DE VOTRE AIMABLE
ATTENTION !!!**

MSAS 2021
12^{ÈME} SYMPOSIUM MALIEN SUR LES SCIENCES APPLIQUEES
<http://www.msas.ml>

**Haematological and Biochemical Blood profile of African
catfish *Clarias gariepinus* Brooders Anaesthetised with
Aqueous solution of Clove Bud Powder.**

M. Mahamadou KELEPILY ¹

Dr. Oyediran Olusegun OYEBOLA ²

Dr. Siaka DEMBELE ¹

M. Aboubacar KANE ¹

¹ IPR/IFRA de Katibougou, Koulikoro, Mali

² University of Ibadan, Nigéria

Haematological and Biochemical Blood profile of African catfish *Clarias gariepinus* Brooders Anaesthetised with Aqueous solution of Clove Bud Powder

Mahamadou KELEPILY ^{1*}, Oyediran Olusegun OYEBOLA², Siaka DEMBELE¹, Aboubacar KANE¹

¹IPR/IFRA de Katibougou, Mali

²University of Ibadan, Nigéria

*Corresponding author's email address: mkelepily@yahoo.com

ABSTRACT: The haematological and biochemical blood profile of *Clarias gariepinus* anaesthetised with aqueous clove bud powder were investigated. Aqueous solution of CBP treatments: 0.00 g/l (T1, control), 0.1g/l (T2), 0.2g/l (T3) and 0.3g/l (T4) were assessed. Ten random samples (5 male : 5 female) of *C. gariepinus* brooders (mean length, 53.50± 1.28 cm and mean weight, 1.86 ±0.17 kg) were immersed in T1 to T4 in a completely randomised design. During 3weeks post induction period, the fish were assessed for survival, physiological response through indices of haematology (Packed cell volume PCV; haemoglobin Hb; red blood cell RBC; platelets; mean corpuscular volume MCV; mean cell haemoglobin concentration MCHC) and biochemistry (total protein, albumin, globulin, bilirubin, glucose, aspartate aminotransferase AST, alanine transferase ALT, alanine phosphatase, sodium and potassium ions. Data were analysed for significant differences at p<0.05. Haematological and biochemical parameters were not different across treatments. This treatment did not induce significant physiological changes in blood of male and female anaesthetised *C. gariepinus* brooders.

Key words: Biochemical Blood, African catfish, Clove Bud Powder

INTRODUCTION

- Le poisson contribue à plus de 16% comme de source de protéines animales dans l'alimentation humaine (FAO, 2014).
- Le poisson est un aliment riche en acides gras essentiels, en vitamines et minéraux (Olaifa, 2015).
- L'aquaculture malgré son faible niveau de croissance, continue à se développer, avec 90 millions de tonnes en 2012 (FAO, 2015).
- Le *Clarias gariepinus* ou *Clarias lazera* sont les espèces les plus résistantes en production aquaculture (Adewumi and Olaleye, 2011).

INTRODUCTION

- La production de *Clarias gariepinus* en Afrique fait face à des problèmes parmi lesquels figurent: le manque de géniteurs et de semences de qualité, la mauvaise gestion, le stress imposé aux poissons (Adewumi and Olaleye, 2011).
- Le stress est un facteur important qui agit sur les fonctions physiologiques, la performance de croissance et la santé des poissons (Barata, 2016).
- Il est nécessaire anesthésier les poissons au cours des opérations de manipulation pour réduire les stress (Adeshina *et al.*, 2016).

OBJECTIFS

- **OBJECTIF GÉNÉRAL**

- Déterminer les paramètres hématologiques et biochimiques des géniteurs de *Clarias gariepinus* anesthésiés avec de la poudre de clou de girofle.

- **Objectifs Spécifiques**

1. déterminer les paramètres hématologiques,
2. déterminer les paramètres biochimiques
3. déterminer le taux de survie des géniteurs.

MATERIEL ET METHODE

- **SITE DE L'ETUDE**

- Ferme piscicole du Département d'Aquaculture et de gestion de la pêche de l'Université d'Ibadan, Nigeria, Afrique de l'Ouest.
- Ibadan est dans l'Etat d'Oyo, latitude 7,401962 et longitude 3,917313.

- **PREPARATION DE LA POUDRE DE CLOU DE GIROFLE**

- 500 g de clou de girofle,
- Réduit en poudre avec un petit moulin de laboratoire,
- Garder dans des bouteilles en verre et fermer hermétiquement.

MATERIEL ET METHODE

- **Géniteurs de Clarias**

- 40 géniteurs mâles et femelles de *Clarias gariepinus*,
- stocker dans les bassins en ciment renforcé,
- mesurer les paramètres physicochimiques de l'eau,
- Alimenter à un taux de 1% de leur biomasse totale.

- **Plan expérimental et dose de la poudre de clou de girofle**

- Plan expérimental complètement aléatoire en 4 traitements: T1 (0 g/l), T2 (0,1g/l), T3 (0,2g/l), T4 (0,3g/l).

MATERIEL ET METHODE

- **Echantillons de sang**

- Trois échantillons par traitements ont été prélevés par semaine et envoyés au laboratoire de médecine vétérinaire de l'Université.

- **Les paramètres hématologiques et biochimiques**

- **les érythrocytes** : quantité par volume de sang, le taux d'hémoglobine par érythrocytes,
- **les globules blancs** : les leucocytes, les neutrophiles les monocytes, le éosinophiles,
- les thrombocytes,

MATERIEL ET METHODE

- la quantité totale de protéines : albumine, bilirubine, globuline,
- Aspartate aminotransférase (ASAT ou AST) ;
- Alanine aminotransférase (ALAT ou ALT),
 - La phosphatase alcaline (PAL ou ALP),
 - les ions sodium (Na^+),
 - les ions potassium (K^+)
 - Le glucose.

MATERIEL ET METHODE

- **ANALYSE STATISTIQUE**

- Les données des paramètres hématologiques, biochimiques et de la reproduction seront traitées par Microsoft Excel et soumise à une analyse statistique de la variance (ANOVA) SPSS, version 22.0

RESULTATS

PARAMETRES PHYSICOCHIMIQUES DE L'EAU

Traitements	Température	pH	Oxygène
T1	27,56±0,28	7,07±0,67	4,01±0,81
T2	28,03±0,16	7,04±0,97	4,10±0,17
T3	27,91±0,34	7,01±0,48	4,41±0,30
T4	27,71±0,17	7,42±0,27	4,12±0,11

RESULTATS (suite)

Paramètres hématologiques

Parameters	T1	T2	T3	T4
PCV	31.83±1.01	31.83±0.87	29.50±1.45	28.33±2.33
Hb	11.61±0.69	10.62±0.51	9.77±0.39	9.45±0.98
RBC	4.03±0.64	3.90±0.33	3.80±0.17	3.34±1.40
WBC	8.01±0.57	7.92±0.65	6.97±1.14	6.12±0.63
Platelets	11.20±0.37	10.46±0.25	10.33±0.21	10.23±0.15
MCV	92.67±9.75	90.33±2.85	90.33±1.91	78.67±5.46
MCH	30.83±3.22	29.00±1.06	28.50±1.52	27.83±2.34
MCHC	29.50±3.08	32.67±1.17	33.33±0.56	33.50±0.81
Lymphocytes	37.50±2.77	38.00±1.91	41.67±1.74	42.67±0.76
Monocytes	1.17±0.67	1.17±0.17	1.17±0.17	1.33±0.21
Eosinophil	3.33±0.61	3.17±0.31	2.00±0.52	2.00±0.26
Neutrophils	60.00±1.67	58.67±2.56	56.50±0.67	56.33±2.16

RESULTATS (suite)

Paramètres Biochimiques

Parameters	T1	T2	T3	T4
Total Protein	10.58±0.16	10.92±0.26	10.98±0.16	11.11±0.22
Albumin	3.49±0.14	3.47±0.25	3.90±0.55	3.89±0.51
Globulin	7.95±0.14	8.49±0.22	9.13±0.43	8.32±0.11
Bilirubin	11.02±1.10	11.52±1.31	12.15±1.16	11.95±0.75
AST	64.84±1.17	63.17±1.31	65.17±1.02	67.67±0.63
ALP	44.50±1.06	48.33±0.95	44.80±1.08	46.30±1.80
ALT	47.83±1.05	49.20±1.30	50.56±2.35	50.87±1.21
Sodium	67.25±1.51	67.78±1.78	70.17±2.36	70.47±2.25
Potassium	60.47±2.70	62.83±2.09	63.50±3.75	64.10±4.42
Glucose	55.17±0.75	57.67±4.81	57.00±0.86	57.89±2.04

RESULTATS (suite)

TAUX DE SURVIE DES GENITEURS

Treatments	Survival rate (%)
T1	100.00±0.00
T2	100.00±0.00
T3	100.00±0.00
T4	100.00±0.00

DISCUSSION

- **PARAMETRES HEMATOLOGIQUES**

- Les paramètres hématologiques des géniteurs anesthésiés avec la poudre de clou de girofle ne sont pas significativement différents ($P > 0,05$). Ce résultats montre que la poudre de clou de girofle n'affecte pas négativement les paramètres du sang des géniteurs, cependant les données obtenues sont légèrement au-dessus de celles indiquées par Adedeji *et al.*, 2011.

- **PARAMETRES BIOCHIMIQUES DES GENITEURS**

- Les paramètres biochimiques des géniteurs anesthésiés avec la poudre de clou de girofle ne sont pas significativement différents ($P > 0,05$).

DISCUSSION (suite)

- **PARAMETRES BIOCHIMIQUES DES GENITEURS**

- Ce résultats montre que la poudre de clou de girofle ne les affecte pas négativement.
- Cependant ces données ne sont pas identiques à celles obtenues par Abalaka (2013).

- **TAUX DE SURVIE DES GENITEURS**

- Les résultats de l'utilisation de la solution aqueuse de poudre de clou de girofle montre un taux de 100 % de survie, mais ce taux est différent de ce qui a été obtenue par Diyaware *et al.*, 2015 (98 %).

CONCLUSION

- Les paramètres du sang sont des indicateurs importants d'appréciation de la qualité de la poudre de clou de girofle en anesthésie des géniteurs de *Clarias gariepinus*.
- Les résultats de cette étude montrent que la poudre de clou de girofle à la concentration de 0,1-0,3g/l d'eau n'a pas d'effet négatif contre le bien-être et la survie des géniteurs de *C. gariepinus*, cependant d'autres études doivent être effectuées pour déterminer ses effets sur les performances reproductives des géniteurs en reproduction artificielle.

References

- [1] Adam, H.M. and Agab H. 2010. Haematological and biochemistry indices of *Clarias gariepinus* collected from River Nile. College of veterinary Medicine and animals production, Sudan University of science and Technology. 83.1-2:89-94.
- [2] Adams, S.M. 1990. Status and use of bioindicators for evaluating effects of chronic stress on fish. Amer. Fish. Soc. Sym. 8: 1-8.
- [3] Adedeji, O.B and Adegbile, A.F. 2011. Comparative Haematological Parameters of Bagrid catfish (*Chrysichthys nigrodigitatus*) and the African catfish (*Clarias gariepinus*) from Asejire Dam in Southwestern Nigeria. Journal of applied sciences research 7.7:1042-1046.
- [4] Adeshina, I., jenyo-oni A. and Emikpe B.O. 2016. Use of *Eugenia Caryophyllata* oil as Anaesthetic in farm Reared African catfish *Clarias gariepinus* Juveniles. Egypt. J. Exp. Biol (Zool.) 12.1:71-76.
- [5] Adewumi, A.A., and Olaleye, V.F. 2011. Catfish Culture in Nigeria: Progress, prospects and problems. *African journal of Agricultural Research*, vol.6.6, pp.1281-1285.
- [6] Bayoub, K, Baibai T, Mountassif, D, Retmane, A, Soukri A. 2010. Antibacterial activities of the crude ethanol extracts of medicinal plants against *Listeria monocytogenes* and some other pathogenic strains. Afr. J. Biotechnol., 9.27: 4251-4258.
- [7] Barata, M, Sores F, Aragao C, Almeida AC, Pousao-Ferreira P, Ribeiro L. 2016. Efficiency of 2-phenoxyethanol and clove oil for reducing handling stress in reared meager, *Argyrosomus regius* (Pisces: Sciaenidae). J. World Aquac. Soc. 47(1): 82-92.
- [8] Diyaware, M.Y. Bokko, B.P. and Suleiman S.B. 2015. Anaesthetic Effect of Clove (*Eugenia Anomaticum*) seed Extract on *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) broodstock. International Journal of fisheries and Aquaculture sciences 4.2: 30-34.
- [9] FAO, 2014. The State of Food and Agriculture. Innovation formulation. Rome.
- [10] Flora, E.O. 2015. Food ssecurity: The Perspective of Aquaculture and Fisheries. Faculty lecture. Faculty of agriculture and forestry. Dept. of Aquaculture and Fisheries management.

[11] Kreiberg, H. 2000. Stress anesthetisia. In: "The laboratory fish. Ostr ader GK. Ed. Academic Press, Baltimore, Maryland, USA, pp. 509.

[12] Nevas, M, Korhonen, AR, Lindtröm, M, Turkki, P, Korkeala H. 2004. Antibacterial efficiency of Finnish spice essential oils against pathogenic and spoilage bacteria. J. Food Prot., 67.1: 199-202.

[13] Omotayo, OA, Adepoju, OT, Keshinro, OO. 2013. Evaluation of micronutrient potentials of seven commonly consumed indigenous spices from Nigeria. Am. J. Food. Nutr., 3.3: 122-126.

MERCI POUR VOTRE ATTENTION



KELEPILY, M.

Résultats préliminaires d'activités larvicides et analyse phylogénique de deux souches de bactérie isolées dans la mare de Demba Tiarki Tara au Mali

Mamadou Wéléba Bagayoko^{1,2}, Djènèba Ouattara², Ibrahim Mallé², Doulaye Dembélé³, Amadou Hamadoun Babana^{1,2}

¹Faculté des Sciences et Techniques/Université des Sciences et des Techniques de Bamako., ²Laboratoire de Recherche en Microbiologie et Biotechnologie Microbienne., ³Université de Strasbourg, CNRS/France.

Auteur correspondant : Dr Mamadou Wéléba BAGAYOKO

email : bamawe@yahoo.com

Preliminary results of larvicidal activity and phylogenetic analysis of two strains of bacteria isolated in the Demba Tiarki Tara pond in Mali

Mamadou Wéléba Bagayoko^{1,2}, Djènèba Ouattara², Ibrahim Mallé², Doulaye Dembélé³, Amadou Hamadoun Babana^{1,2}

¹Faculty of Sciences and Techniques/University of Sciences and Techniques of Bamako

²Research Laboratory in Microbiology and Microbial Biotechnology

³University of Strasbourg, CNRS, France

Email : bamawe@yahoo.com

Summary: Faced with the growing resistance of mosquitoes to conventional chemical insecticides, which are often very toxic to humans, it becomes imperative to find alternatives to organic products in order to reduce their nuisance. Actinomycetal bacteria and *Bacillus* are an opportunity because they have a great capacity for the production of active biological substances. The objective of this study was to isolate and verify the bacteria that produce larvicidal bioactive substances. Two bacteria were isolated from the soil of the DTT pond, tested the culture products on mosquito larvae and analyzed the genetic profile of the 16S rRNA gene. In culture, isolate S226 produced a larvicidal effect on *Anopheles gambiae Kisumu* of 8% and 14% death in the first hour, 24% and 32% at 48 hours with respective concentrations of 1.5% and 2.5 %. No adult form was visited within 48 hours of culture. As with isolate S296, larvicidal activity was observed at higher concentrations of 44, 46 and 42% for dilutions of 10, 20 and 25%, respectively. Phylogenetic analysis of the 16S rRNA gene from the two bacterial isolates shows that they are apparent to *Bacillus* and are unknown to the GenBank database. The S226 isolate is 100% similar and 97% identical to *Pseudomonas hibiscicola*, which of S296 is 100% similar and 95.98% identical to the genus *Bacillus amyloliquefaciens*. In conclusion, this pond contains microorganisms capable of producing bioactive substances on mosquito larvae. Further studies should be considered in order to better elucidate the active substances.

Keywords: Bacteria, Phylogeny, Bioactive substances, Larvicidal, *Anopheles gambiae kisumu*.

Plan

- Introduction
- Objectifs
- Matériels et méthode
- Résultats
- Discussions et recommandations

Introduction

Problématique:

La résistance des insectes aux insecticides chimiques reste un problème dans les régions tropicales et subtropicales;

Dans la lutte contre le paludisme, le contrôle du vecteur joue une grande importance ;

- Insecticide chimique
- Insecticide biologique

Depuis 1995, lutte biologique avec l'utilisation de bactéries telles que *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) ;

Les genres *Streptomyces* et *Bacillus* ont la capacité de produire une variété de substances bioactives utilisées comme antibiotiques, insecticides, antitumoraux, etc.

Mare de Demba Tiarki Tara

- En 2017, des souches Bt ont été isolées et caractérisées dans l'étang de Demba Tiarki Tara (DTT), avec un potentiel larvicide (Rokiatou. F et al, 2017).
- En 2019, des souches de bactéries ont été isolées au pouvoir antimicrobien prouvé (Mamadou W. B et al, 2019)

Ainsi, cette étude a été introduite et l'objectif est d'identifier d'autres bactéries d'intérêt larvicide pouvant être utilisées pour le contrôle des vecteurs du paludisme.

Matériels et Méthodes

• **Protocole de tests larvicides**

- Les tests larvicides ont été réalisés sur des larves *d'Anopheles gambiae kisumu* élevées au LaboREM-Biotech selon le protocole de l'OMS.
- Les bactéries ont été cultivées en milieu liquide Bennett pendant 10 jours,
 - Dans des pots contenant 200 ml d'eau sont ajoutés 25 larves immatures au stade 3 ou 4 *d'Anopheles gambiae* kisumu.
- Différents volumes de 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml et 5 ml de produits de culture bactérienne sont mis dans ces pots de test afin d'avoir différentes séries de concentration. (dupliqué)
- Les larves ont ainsi été observées pendant 48 heures en notant les morts, les nymphes et les adultes à la fin du test.
- Pendant les premières 24 heures pas de nourriture dans le milieu de culture des larves.
- Les moyennes des observations ont été faites par concentration, et en fonction du temps 1 heure, 2 heures, 3 heures, 24 heures et 48 heures.
- Pour chaque test, il y avait un pot témoin dans lequel le produit biologique à tester n'était pas ajouté.
Seules des valeurs de mortalité comprises entre 10 et 90 % doivent être considérées comme importantes.

- **Amplification du gène de l'ARNr 16S et analyse des séquences**

- ✓ Extraction d'ADN : protocole Kit Promega

Amorce:

Aller.

5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'

Retour.

5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3'

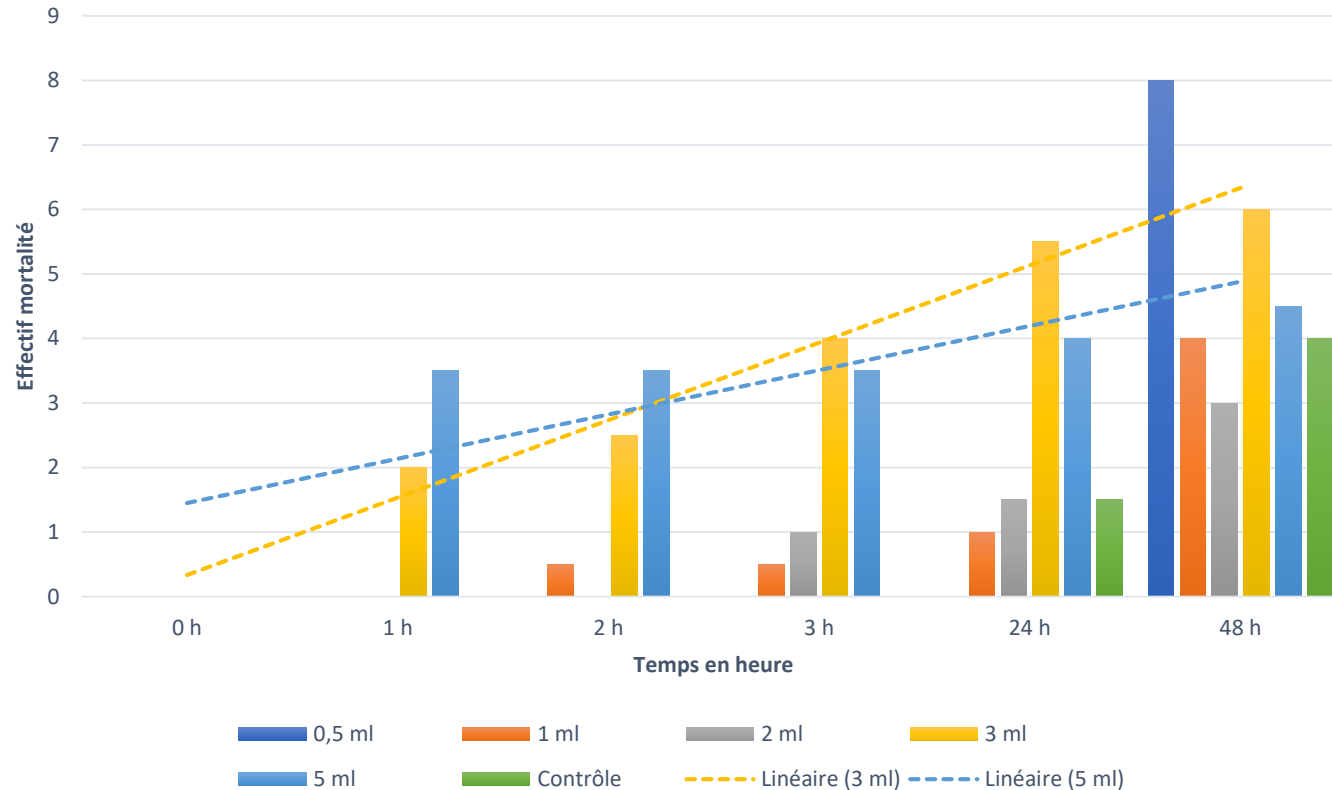
- ✓ PCR dans LaboREM-BioTech

- ✓ Séquences d'ADN par la société **Inqaba biotec**™ (<http://www.inqababiotec.co.za>) en Afrique du Sud

-Analyse de séquence : logiciel MEGA-X (Analyse génétique évolutive moléculaire), Endmemo et NCBI utilisant pour blast (**Basic Local Alignment Search Tool**/Outil de recherche d'alignement local de base)

-Le dendrogramme réalisé a permis de montrer la position taxonomique de chaque isolat dans la base de données GenBank

Résultats

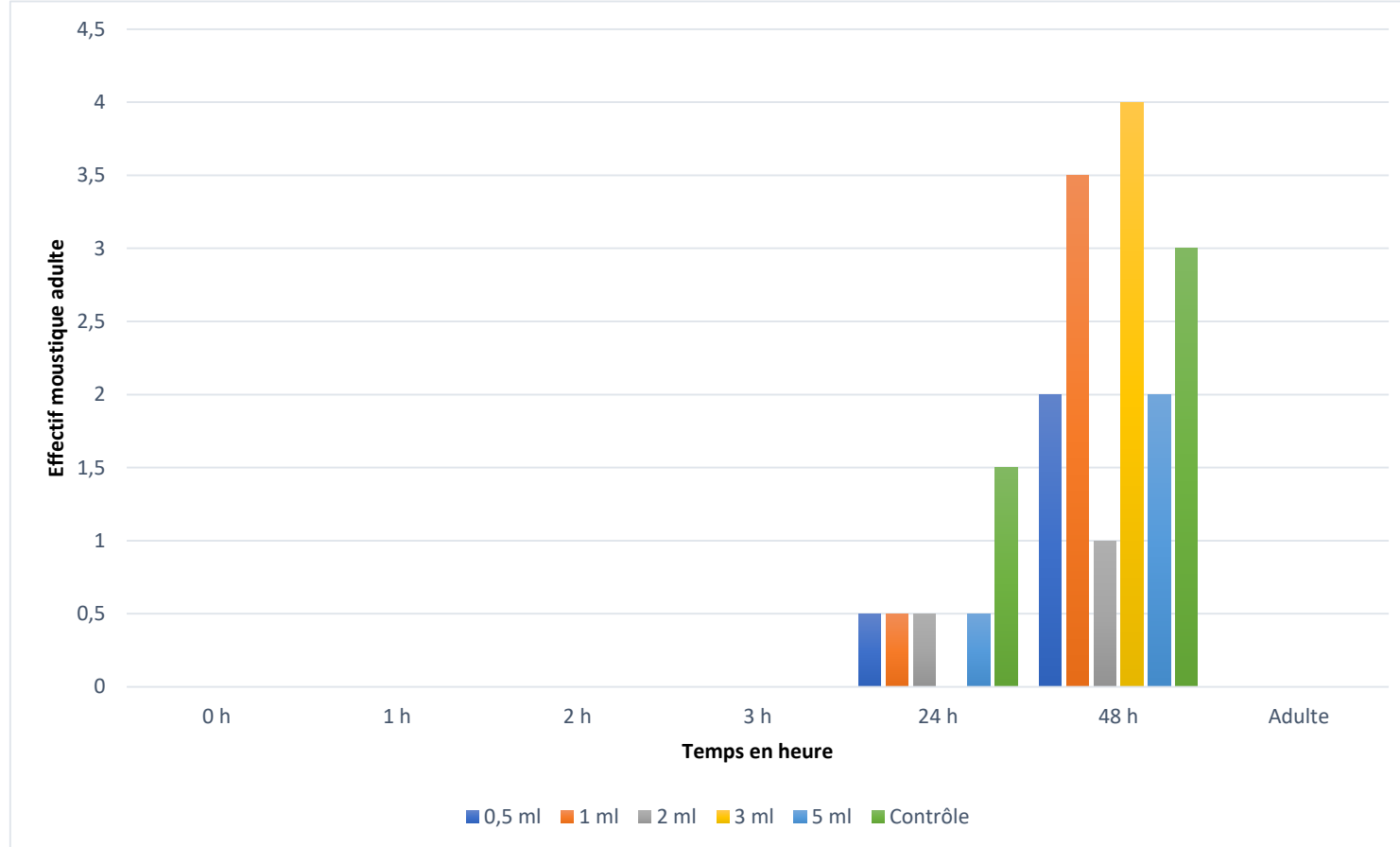


Le test avec l'isolat S226 a montré des propriétés larvicides intéressantes.

Dès la première heure, des effets larvicides sont observés avec des dilutions de 1,5% et 2,5% (soit 3ml et 5ml dans 200 ml d'eau).

Cet effet larvicide s'est accru dans le temps jusqu'à 48 heures avec 32 % de décès pour la dilution à 2,5 % et 24 % pour la dilution à 1,5 %.

Figure 1: Létalité des larves *d'Anopheles gambiae kisumu* au contact de l'extrait de culture de l'isolat S226 en milieu liquide Bennett



Aucune forme de moustique adulte n'a été observée à 48 heures et même au delà.

Figure 2: Développement de larves *d'Anopheles gambiae kisumu* au contact d'extrait de culture de l'isolat S226 en milieu liquide Bennett

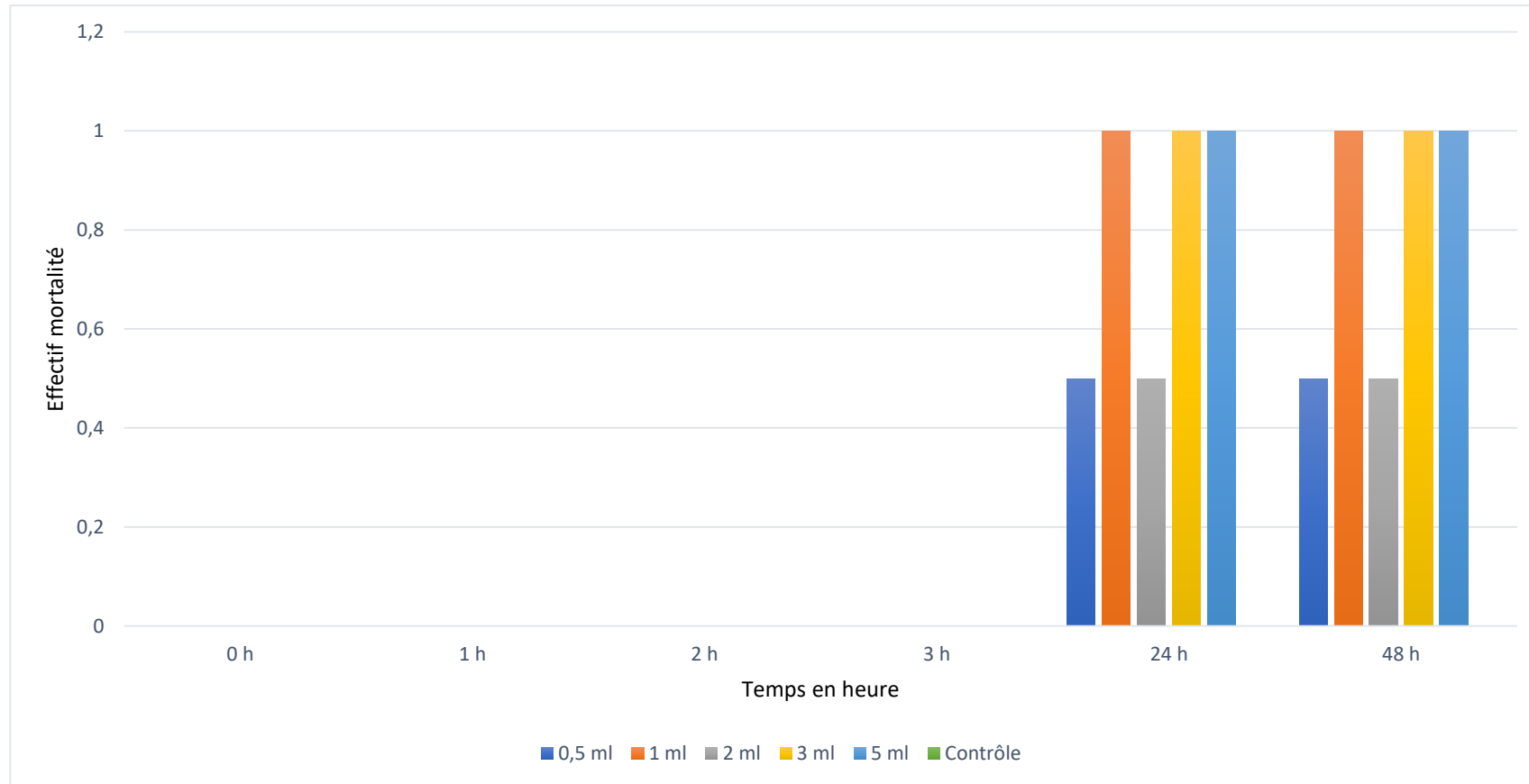


Figure 3: Létalité des larves d'*Anophèles gambiae kisumu* en contact d'extrait de culture de l'isolat S296 en milieu liquide Bennett

Ce résultat montre que le pouvoir larvicide de S296 n'est pas accentué et est inférieur à celui de S226.

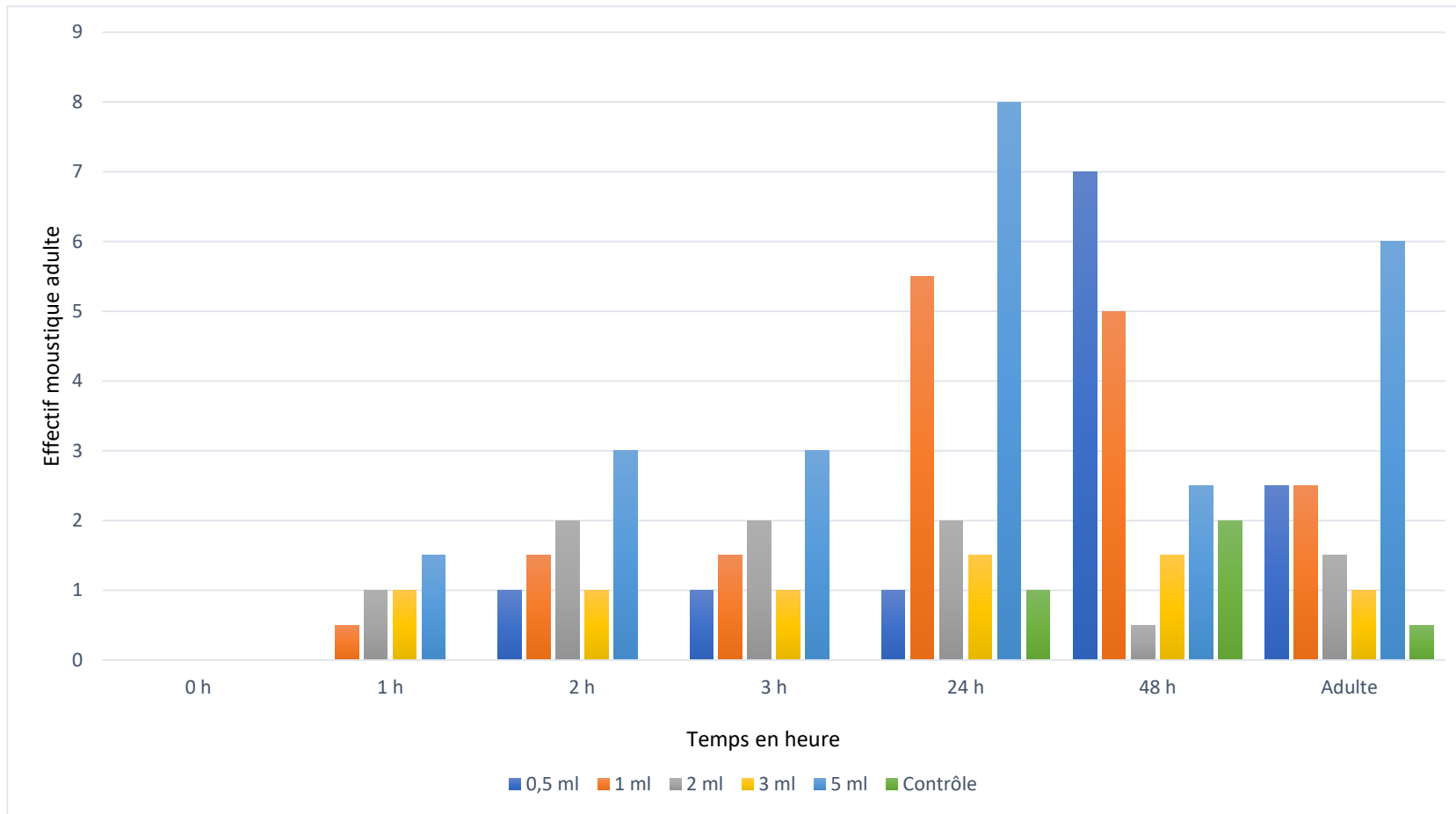


Figure 4: Développement des larves *d'Anophèles gambiae kisumu* en contact d'extrait de culture de l'isolat S296 en milieu liquide Bennett

Ce résultat montre plus de moustique adulte à 48 h et même au delà. Plus la concentration est élevée plus les moustiques restent en vie.

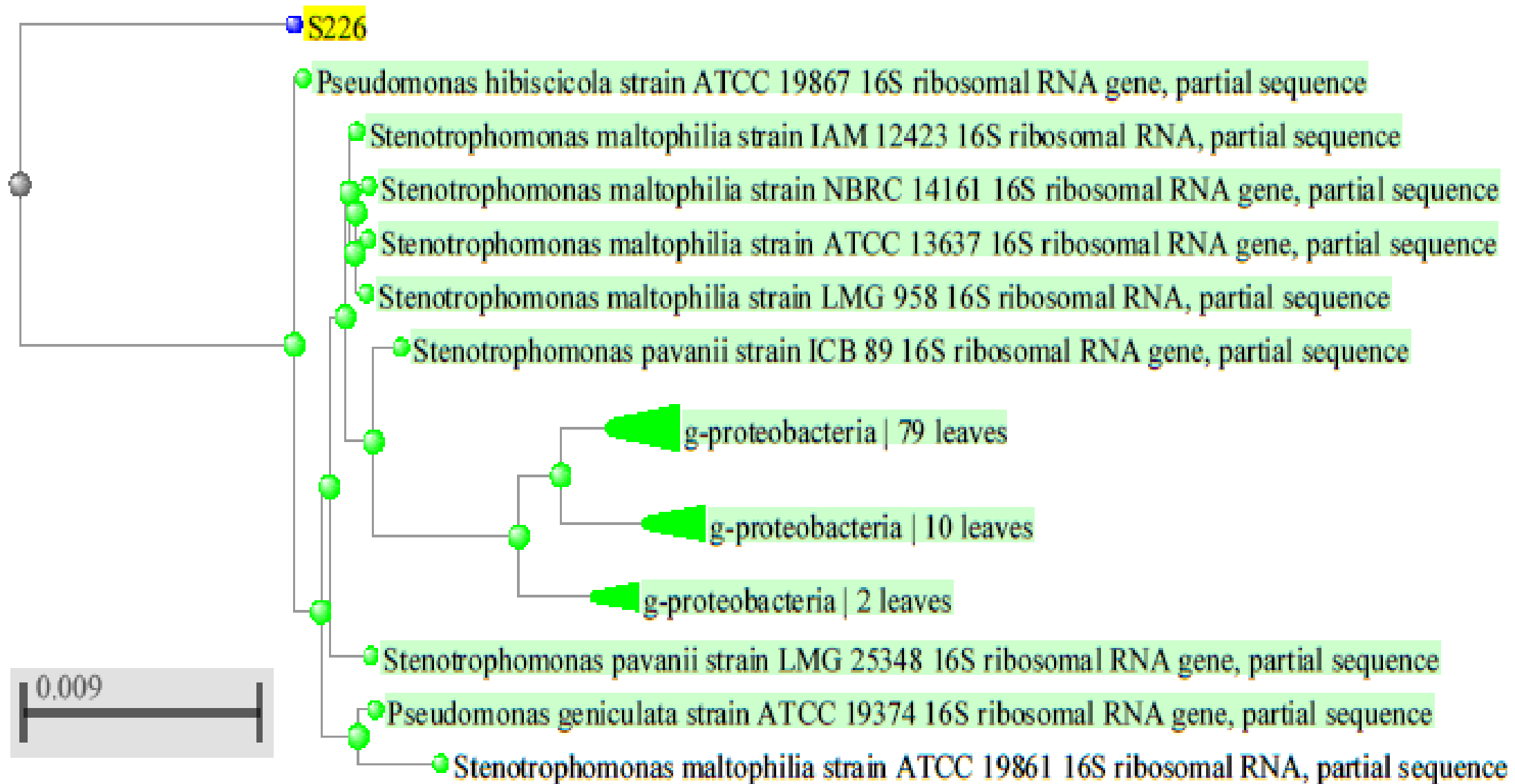


Figure 5: Dendrogramme de la séquence d'ADN du gène ribosomique 16S de l'isolat S226 avec ceux trouvés dans GenBank, selon la méthode Neighbor-joining du 22/09/2018. *Souche ATCC 19867 de Pseudomonas hibiscicola ARN ribosomique 16S (score d'identité 97 %), inconnu dans GenBank.*

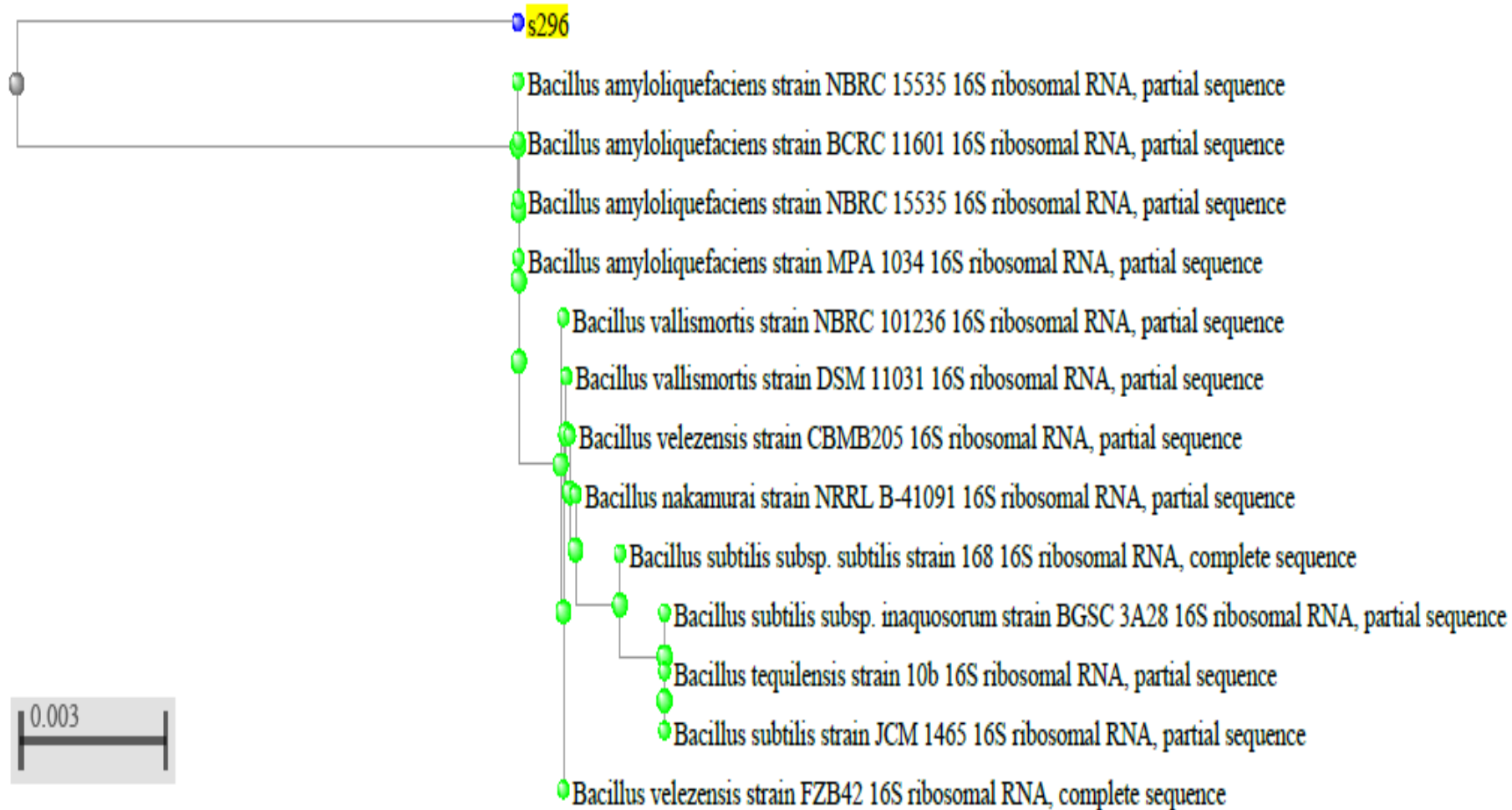


Figure 6: Dendrogramme de la séquence d'ADN ribosomique 16S de l'isolat S296 avec ceux trouvés dans GenBank. (22/09/2018). Cent pour cent (100 %) de similarité et 95,98 % d'identité, dont *Bacillus amyloliquefaciens* souche MPA 1034, inconnue dans GenBank

Discussion

- La Mare DTta est un écosystème favorable au développement des micro-organismes,
- La coloration du sol peut également suggérer la présence de bactéries productrices de mélanine, et ayant un bon potentiel pour la production de substances bioactives comme annoncé par certains auteurs (Stackebrandt E. et al., 1997 ; Lindholm P et al., 1997)
- Les résultats du test larvicide sont prometteurs. L'isolat S226 a produit un effet larvicide de 14 % (ou 3,5 / 25) de mortalité larvaire dans la première heure à une concentration de 2,5 % (Figure 1). Ces résultats étaient inférieurs à ceux observés par Dhansekaran 2010 et une étude de Prabhakaran 2000 ; ont montré que le genre *Pseudomonas florescence* a une activité larvicide très importante, presque 100% en moins de 24 heures de culture.
- L'analyse comparative phylogénique des séquences des 2 isolats, montre que l'isolat S226 présente une grande similitude (98 %) avec cinq bactéries dont l'espèce *Pseudomonas hibiscicola* (bactérie à Gram négatif) a le score le plus élevé (1772), et celle de S296 est similaire au genre *Bacillus*, plus précisément le *Bacillus amyloliquefaciens* gram positif avec un taux de similarité à 95,98 %. Avec ce niveau, il est difficile de dire que l'isolat S296 appartient à la souche *Bacillus amyloliquefaciens*.
- A l'issue de cette étude, deux bactéries ont été isolées du sol du bassin DTT, ayant la capacité de produire des substances bioactives qui présentaient des propriétés larvicides. Ces résultats sont d'une grande importance, mais restent assez limités, car il serait nécessaire de poursuivre des études complémentaires qui pourraient être utilisées pour développer de nouvelles molécules larvicides biologiques. L'isolat S226 pourrait être un candidat potentiel pour la lutte biologique contre les vecteurs du paludisme.

Références

- Bolduc, D.G., Delage, G., Dionne, M., Nantel, A., Boudreault, D. et Lessard, S. 1995. L'insecticide *Bacillus thuriangiensis* et la santé humaine, *BISE*, (6) 5 : 1-3.
- Basavaraj K.N., Chandrashekhara S., Prakash S.G., Shamarez A.M., and Fakirappa V.M. 2010. Production of Antibiotics from Soil-Isolated Actinomycetes and Evaluation of their Antimicrobial Activities. Available online at <http://www.tjpr.org>, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* August 2010; 9 (4): 373-377.
- Usama RA., Sheila M. P.E., Amro H., Mona R., Soad H. A., Safwat A., Ute H. 2010. Isolation, Phylogenetic Analysis and Anti-infective Activity Screening of Marine Sponge-Associated Actinomycetes. *Marine Drugs*, 2010, 8,399-412; doi: 10.3390/md8030399. www.mdpi.com/journal/marinedrugs.
- Rokiatou F, Diakaridia T, Adounigna K, Oumar O, Amadou H.D, Mamadou W.B, Fassé S, Amadou H.B, Fernando H.V. 2017. Caractérisation moléculaire des cristaux protéiques des souches de *Bacillus Thuringiensis* (BT) isolées des sols du Mali. MSAS, 2016, 9ème Symposium Malien des Sciences Appliquées, du 31 juillet au 05 août 2016 à Bamako,p:169-172, Juin 2017, <http://www.msas2016.ml>
- Mamadou W.B., Amadou H. B., Adounigna K., Doulaye D. 2018. Antimicrobial Activities of Four Strains of *Streptomyces sp* Isolated from the Pond of the Village of Demba Tiarki Tara in Mali. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 3, No. 2, 2018, pp. 44-50. doi: 10.11648/j.ijmb.20180302.13
- OMS, 2005. [guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides](#), Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. Geneva: World Health Organization. (11/03/2018).
- Awad M., Elshahed K., Elnakkadi A. 2009. Isolation screening and identification of newly isolated soil Streptomyces (*Streptomyces sp.* NRC-35) for β -lactamase inhibitor production. *Word Appl Sci J.* 7 (5): 637-646

Elarbi B., Sidi Brahim Salem EL.I., Issam M.K., Lahoucine H., and Abderraouf H. 2013. A molecular approach to the identification of actinomycetes producing antimicrobial activities strains by sequencing of the 16S rDNA. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, Vol. 3 No. 4 Aug. 2013, pp. 1053-1065. <http://www.issr-journals.org/ijias/>.

Stackebrandt E., Rainey F.A. and Ward-Rainey N.L. 1997. Proposal for a new hierarchic classification system Actinobacteria classic nov. *Int J Syst Bacteriol.* 47:479-491.

Lindholm P., Korttemaa H., Kokkola M., Haahtela K., Salonen M. S., and Valkonen J.P.T. 1997. *Streptomyces* spp. Isolated from Potato Scab Lesions Under Nordic Conditions in Finland. November 1997, Volume 81, Number 11. 1317-1322. *APS Journals* <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.11.1317>.

Ruan L., He W., He J., Sun M and Yu Z. 2005. Cloning and expression of mel gene from *Bacillus thuringiensis* in *Escherichia coli*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 87: 283–288.

Yuan W., Burleigh SH., Dawson JO. 2007. Melanin biosynthesis by Frankia strain CeI5. *Physiol Plant* 131: 180– 190.

Shuster V., Fishman A. 2009. Isolation, cloning and characterization of a tyrosinase with improved activity in organic solvents from *Bacillus megaterium*. *J Mol Microbiol Biotechnol* 17: 188–200.

Khattab A.I., Eltahir H., Babiker., Humodi A.S. 2016. *Streptomyces*: isolation, optimization of culture conditions and extraction of secondary metabolites. *Int. Curr. Pharml. J.* 5: 27-32.

Charu S., Ramendra S.P., Pragya J and Ajay K. 2017. Optimization of cultural condition for production of antifungal bioactive metabolite by *Streptomyces* spp. isolated from soil. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sc* (2017) 6 (2): 386-396. doi: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2017.602.043>.

Bundale S., Deovrat B., Nashikhar N., Kadam T., Upadhyay A. 2015. Optimization of culture conditions for production of bioactive metabolites by *Streptomyces* spp. Isolated from soil. *Adv. Microbial.*, 5:441-451.

Chen Y, Shafi J, Li M, Fu D, Ji M. 2018. Insecticidal activity of endophytic actinomycetes isolated from *Azadirachta indica* against *Myzus persicae*. *Arch Biol Sci.* 2018;70(2):349-57.

Dhanasekaran D., Sakthi N.V., Thajuddin and Panneerselvam A. 2010. Preliminary evaluation of *anopheles* mosquito larvicidal Efficacy of mangrove actinobacteria. *IJABPT*, vol 1, Issue 2, Available online at www.ijabpt.com

Prabhakaran G., Padmanaban V., Balaraman K. 2000. Comparative efficacy of UV screens in protecting the activity of a *Bacillus thuringiensis* formulation. *J Biol Control* 14, 63.

Balaraman K., Bheema-Rao U.S., and Rajagopalan P.K. 1979. Isolation of *Metarrhizium anisopliae*, *Beauveria tenella* and *Fusarium oxysporum* (Deuteromycetes) and *Anopheles stephensi*, *Indian Journal of Medical Research.* 70, 718-722.

Manonmani, A.M. and Balaraman, K. 2001. A high mosquitocidal *Bacillus thuringiensis* var. *thompsoni*, *Curr. Sci.* 80, 779.

Cook AE., Meyers R. 2003. Rapid identification of filamentous actinomycetes to the genus level using genus-specific 16S rRNA gene restriction fragment patterns. *Inter J Syst and Evol Microbiol.* 53: 1907-15.

Remerciements

- Au Rectorat de l'USTTB pour son soutien financier,
- Dr Doulaye Dembélé et le Pr Amadou Hamadoun Babana,

Conflit d'intérêt

Les auteurs de cet article affirment qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêt dans ce travail.

Mamadou Wéléba Bagayoko, Djènèba Ouattara, Ibrahim Mallé, Doulaye Dembélé, Amadou Hamadou Babana. (2021). Preliminary Results of Larvicidal Activity and Phylogenic Analysis of Two Strains of Bacteria Isolated in the Demba Tiarki Tara Pond in Mali. **International Journal of Science and Research (IJSR)**, vol 10, Issue 2, February 2021, 534-539, DOI: 10.21275/SR21129160622. www.ijrs.net.

Je vous remercie de votre aimable attention

Long-term nitrogen addition reduces the frequency of inhibitory phenotypes among soil-borne actinomycetes in maize monocultures

Amadou H Dicko



Long-term Nitrogen Addition Reduces the Frequency of Inhibitory Phenotypes Among Soil-Borne Actinomycetes in Maize Monocultures

Amadou Hamadoun Dicko^{1*}, Miriam Frances Gieske², Linda Kinkel²

¹Faculty of Agronomy and Animal Sciences, University of Segou, Mali

²Department of Plant Pathology, University of Minnesota

*Corresponding author's email address: alwadiamadou17@gmail.com

ABSTRACT: Soil bacteria produce a diverse array of antibiotics which mediate interactions among microbes. Resource competition and tradeoffs between inhibitory ability and growth are thought to be important in shaping the evolution of inhibitory phenotypes, but tests of these ideas in naturally-occurring microbial populations remain scarce. we sampled soils from a long-term maize monoculture experiment in which fertilizer and residue incorporation had been manipulated in a factorial design for 57 years. We measured soil carbon and nitrogen, microbial biomass, total bacterial and actinomycete densities, and frequencies and intensities of antibiotic inhibitory phenotypes within actinomycete populations. We focused on actinomycetes because they are ubiquitous in soil, easily cultured, inhibit a broad range of bacterial and fungal plant pathogens and play a significant role in naturally-occurring disease suppressive soils. We found that although soil carbon and nitrogen and microbial densities tended to be greater with nitrogen fertilizer, the frequency of inhibitory phenotypes among culturable actinomycetes was lower in fertilized than non-fertilized plots. These results suggest that density-mediated processes alone cannot explain the effects of amendments on inhibitor frequencies. Fitness costs and benefits of inhibitory phenotypes may vary over time, and may depend on type of resource amendment. In this study soil-borne *Streptomyces* isolates from a long-term agricultural experiment was used to examine the relationships between resource inputs (nitrogen fertilizer and crop residues), resource use traits, and inhibitory phenotypes, as well as relationships between *Streptomyces* inhibitory phenotypes and the diversity and composition of the soil microbiome. Further research is needed to better understand the mechanisms by which resource inputs affect the evolution of inhibitory capacities among naturally-occurring soil microbial populations.

Keys words: soil-borne actinomycetes, monocultures, maize, resource inputs

INTRODUCTION

Soil bacteria produce → of antibiotics → mediate → microbes.

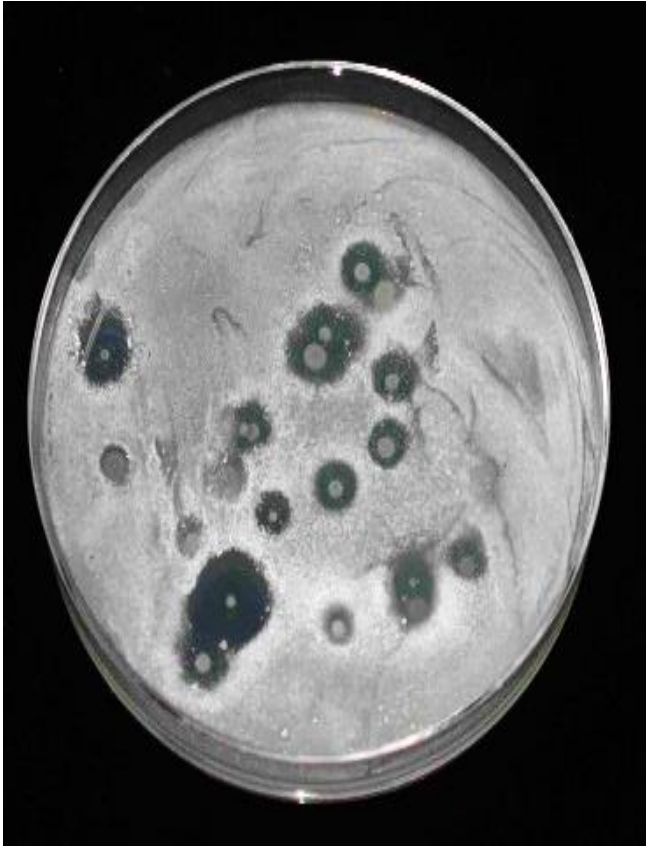
Resource competition and tradeoffs between inhibitory ability and growth are thought to be important in shaping the evolution of inhibitory phenotypes, but tests of these ideas in naturally-occurring microbial populations remain scarce.

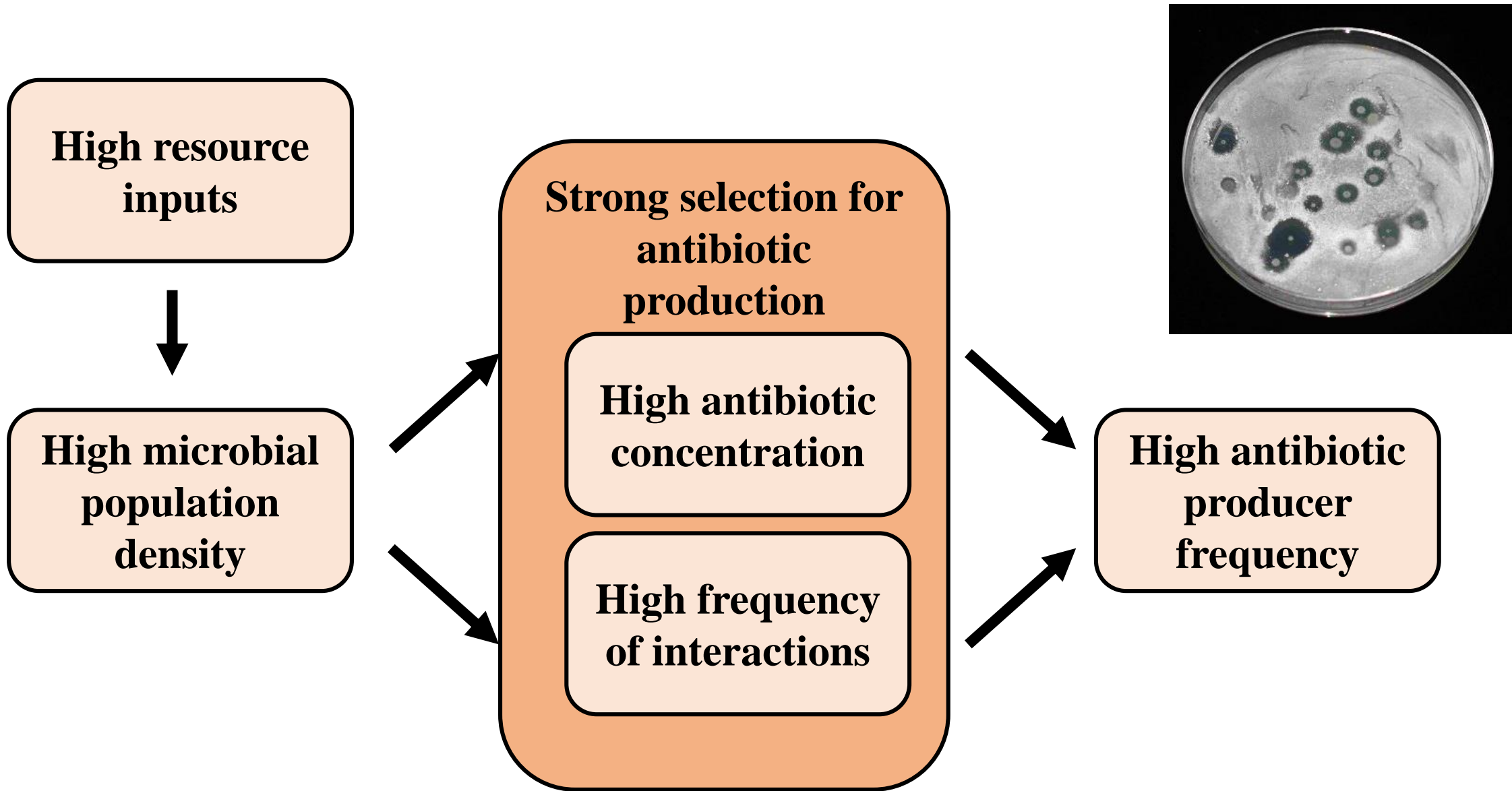
In this study, We used soil-borne *Streptomyces* isolates from a long-term agricultural experiment to examine the relationships between resource inputs (nitrogen fertilizer and crop residues), resource use traits, and inhibitory phenotypes, as well as relationships between *Streptomyces* inhibitory phenotypes and the diversity and composition of the soil microbiome.

INTRODUCTION



The Nation



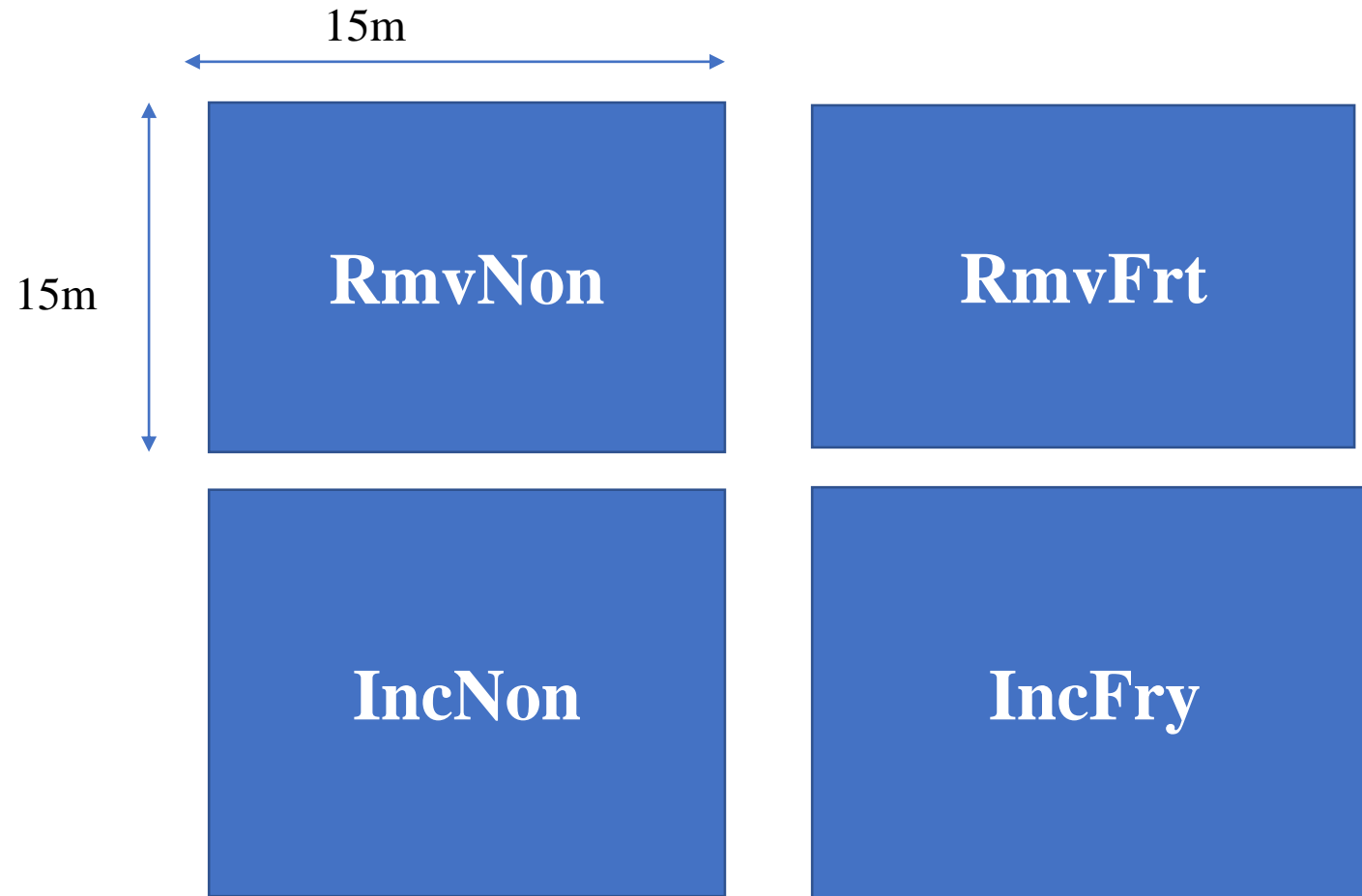


QUESTIONS DE RECHERCHES

1. Comment les apports des fertilisants à long terme affectent-ils les capacités inhibitrices des microbes du sol?
2. Y a-t-il un compromis entre la capacité inhibitrice et l'utilisation des fertilisants, et ce compromis dépend-il de l'historique des entrées?

METHODOLOGIE

Plan experimental



Site: Centre de recherche et de Vulgarisation de l'Université du Minnesota Rosemount, USA (long terme experience monoculture de maïs à établie en 1959)

l'ajout de l'engrais azoté (103 kg N ha⁻¹ sous forme d'urée)

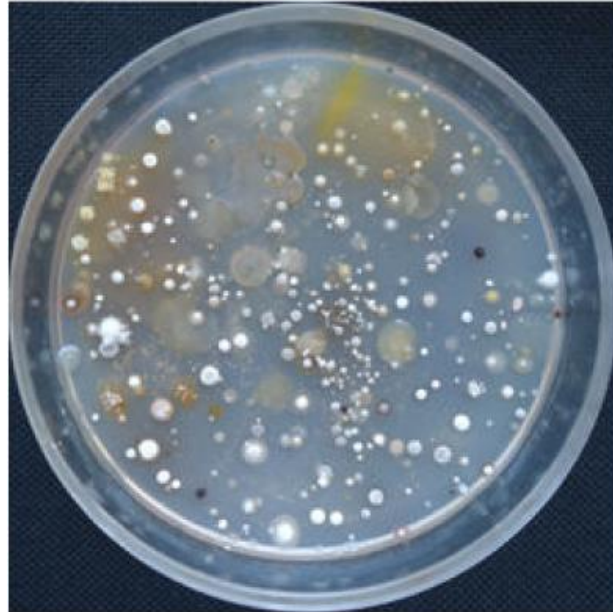
Collecte des Données

- - Sol échantillonné à partir de 4 emplacements aléatoires dans chaque parcelle → 32 échant
- - Séché à l'air
- - Dilué dans l'eau
- - Étale sur des boites d'agar



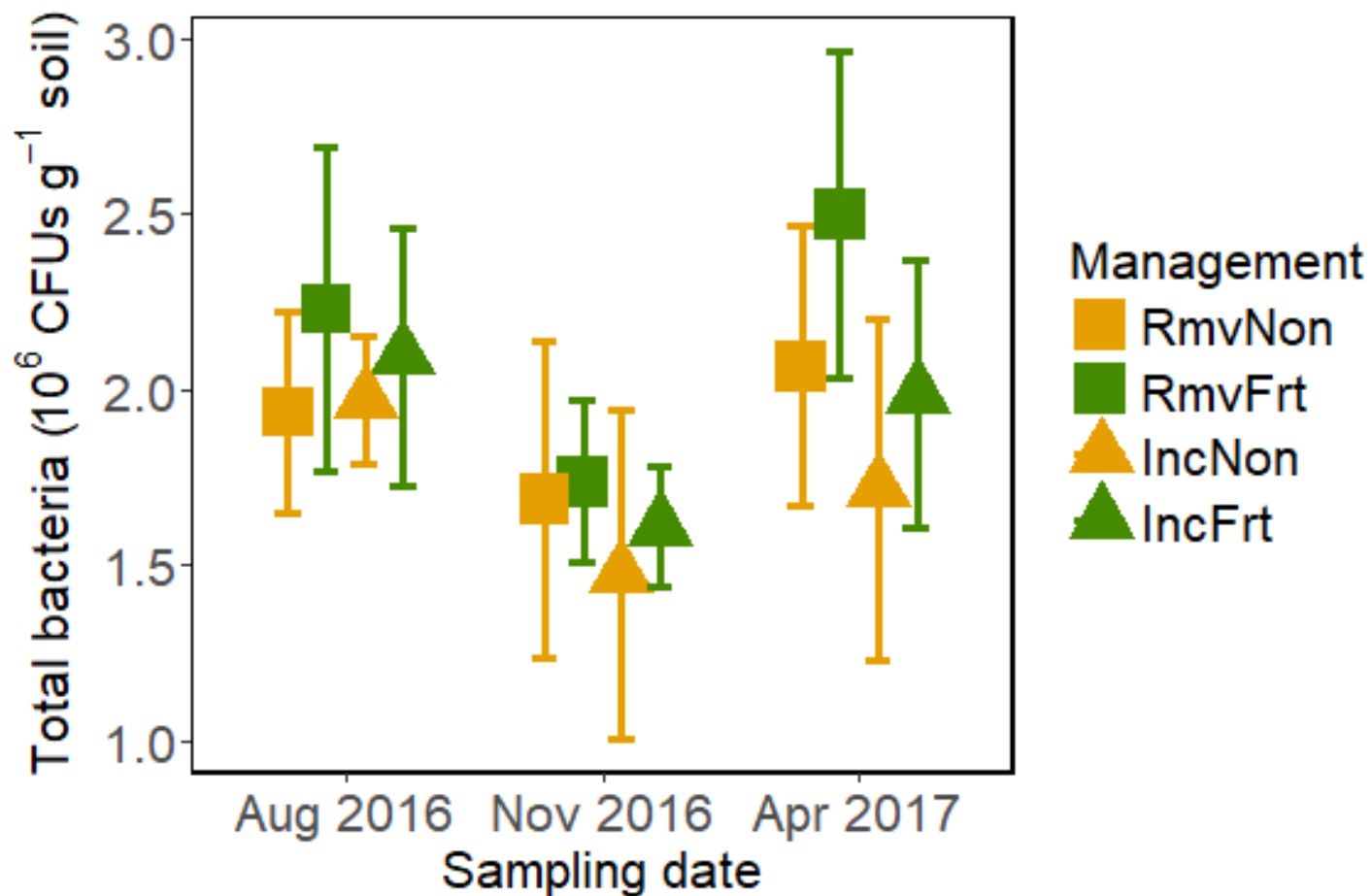
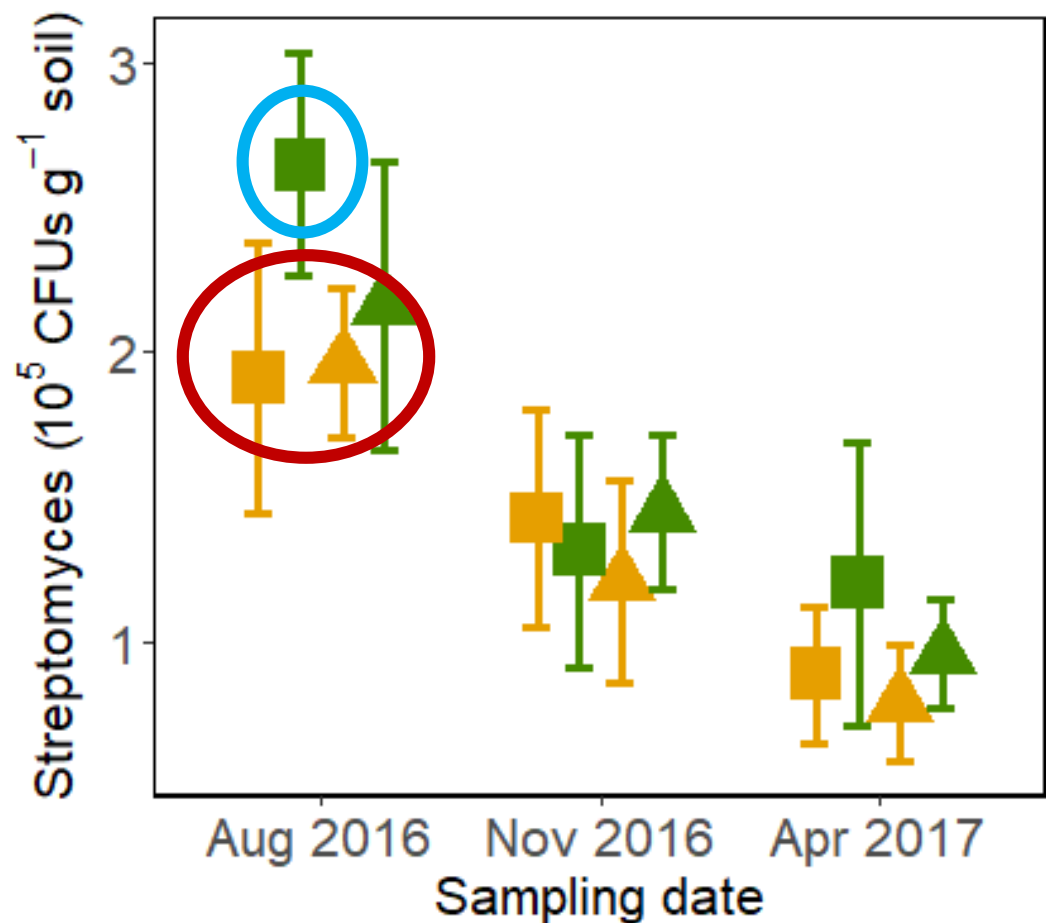
Collecte des Données

Streptomyces et flore bactérienne totale
Fréquence des Streptomyces inhibitrices
Sol C, N et pH

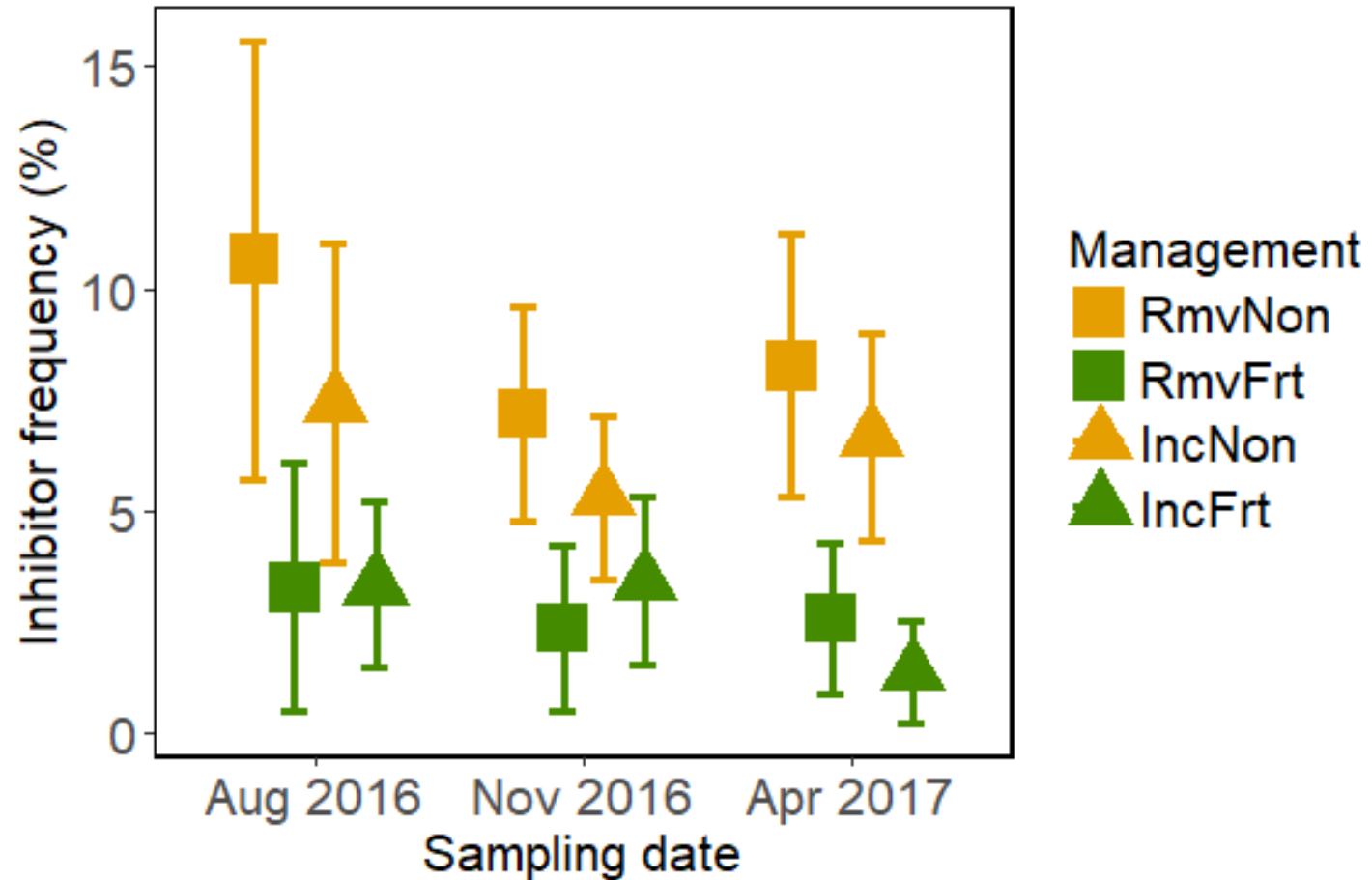


RESULTATS & DISCUSSION

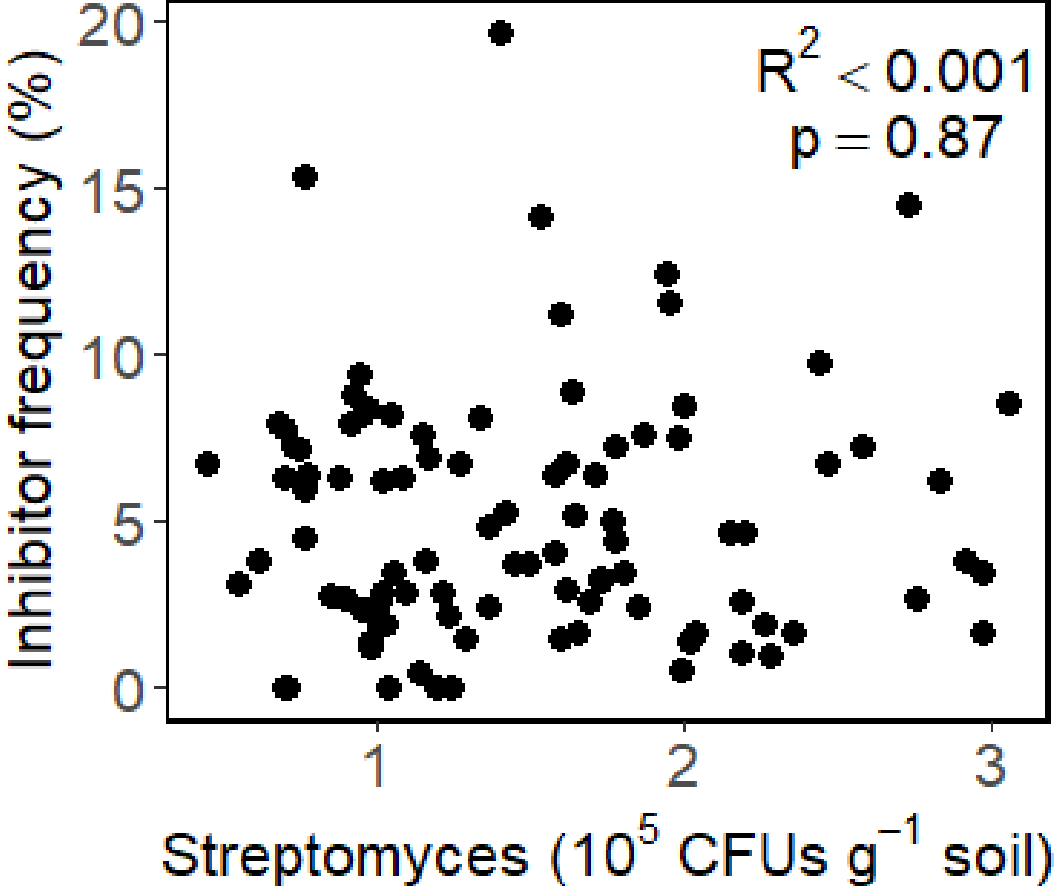
Microbial densities



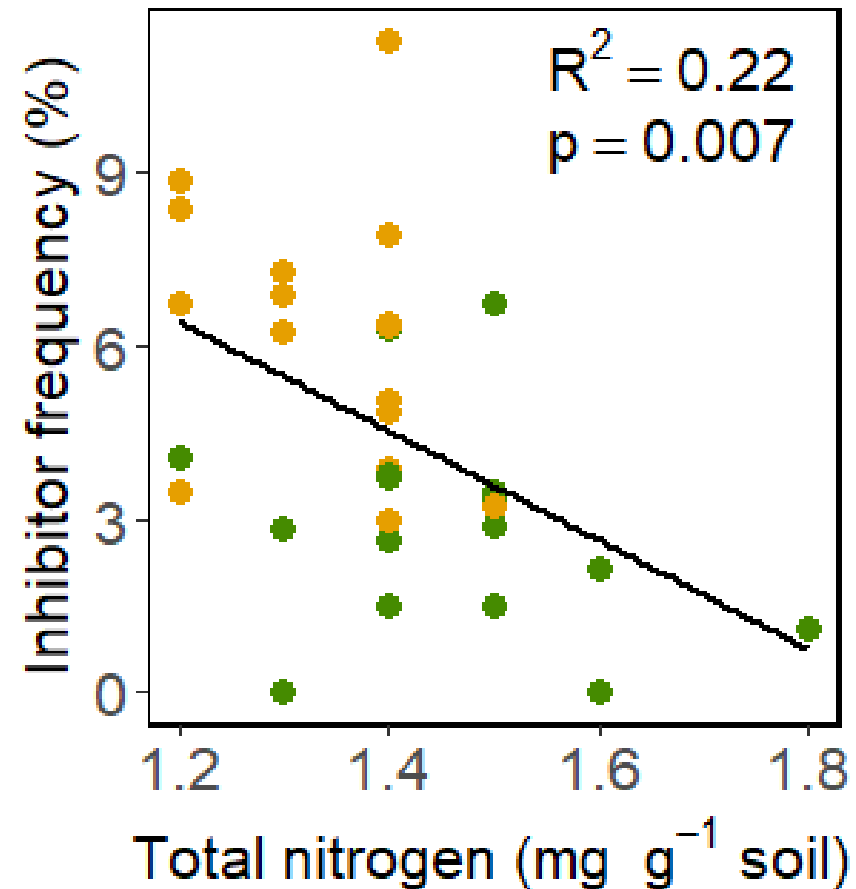
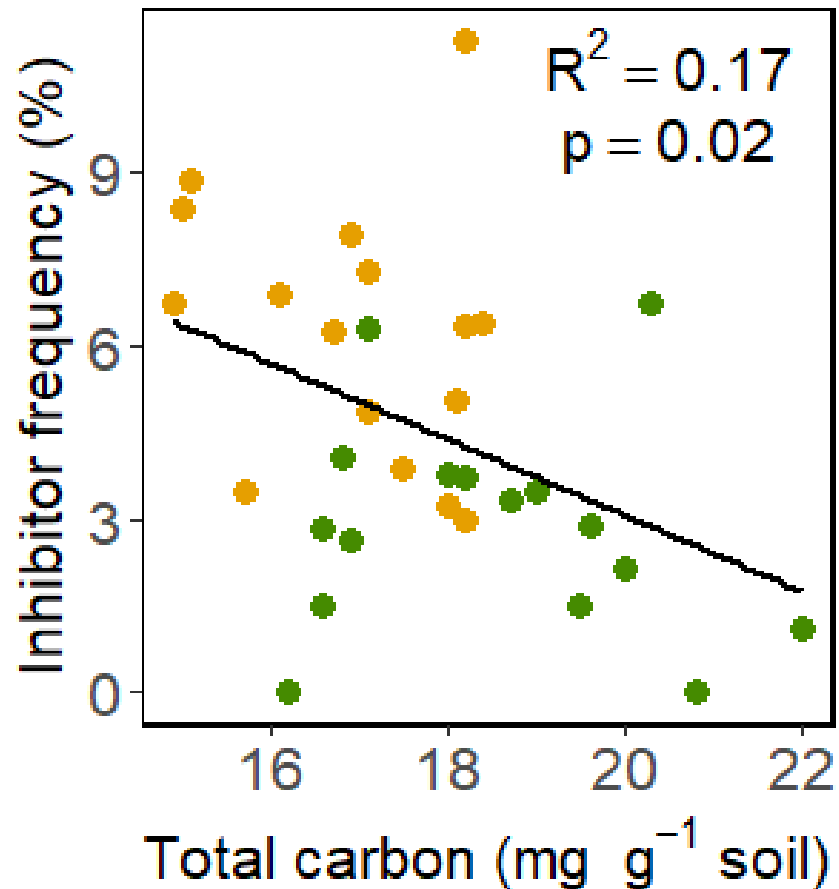
Fertilizer reduced inhibitor frequency



No correlation between *Streptomyces* density and inhibitor frequency

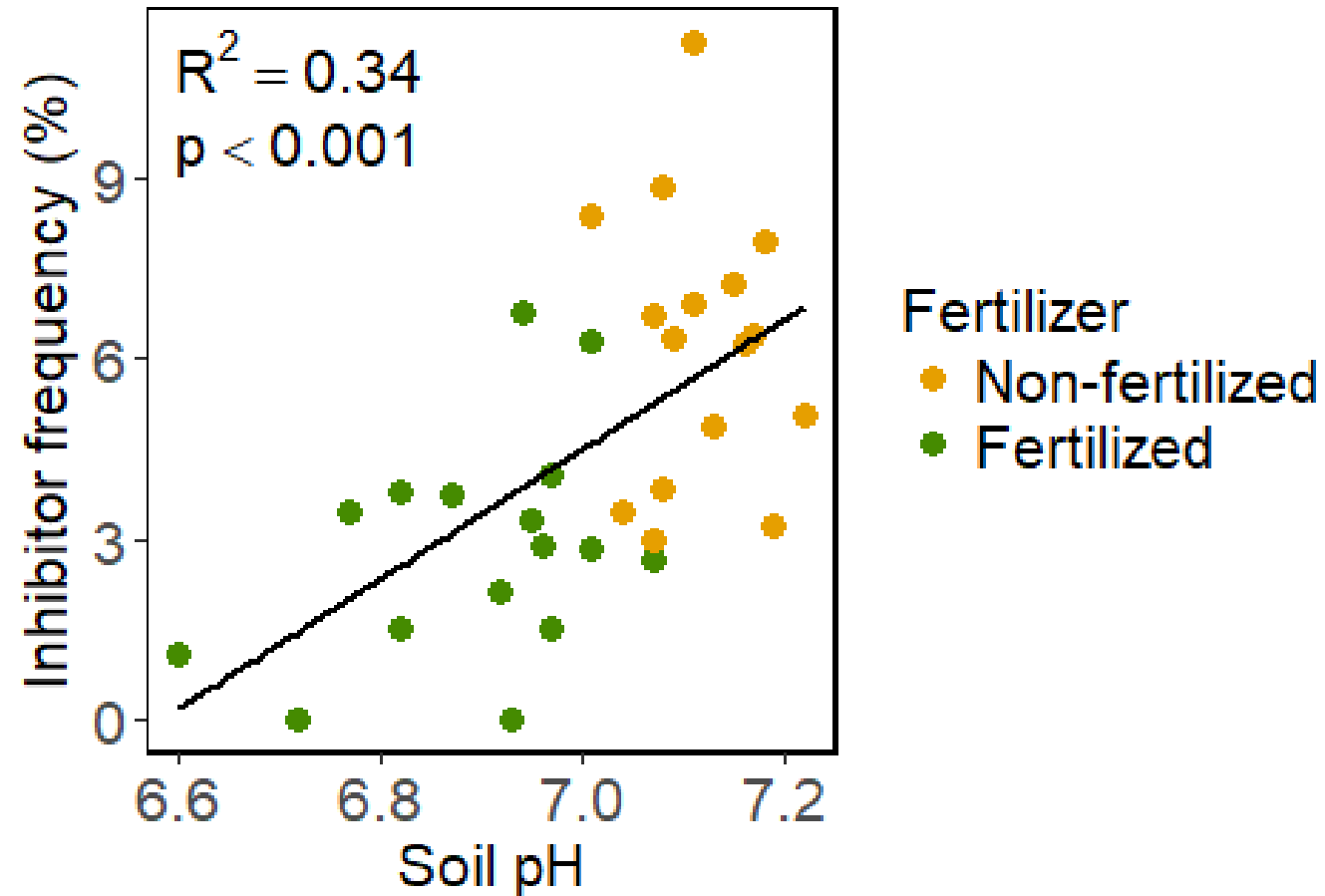


Inhibitor frequency was negatively correlated with soil carbon and nitrogen

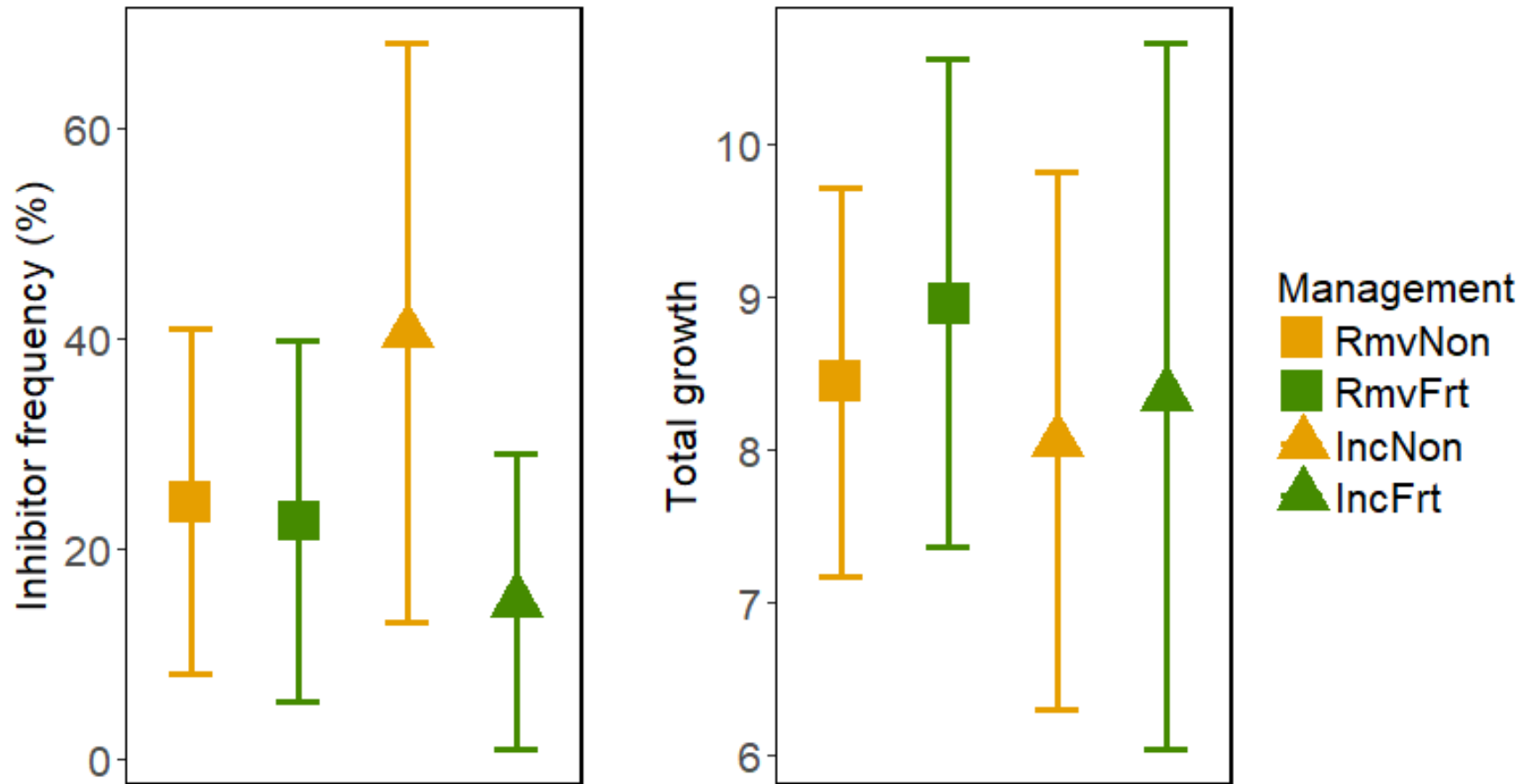


Fertilizer
● Non-fertilized
● Fertilized

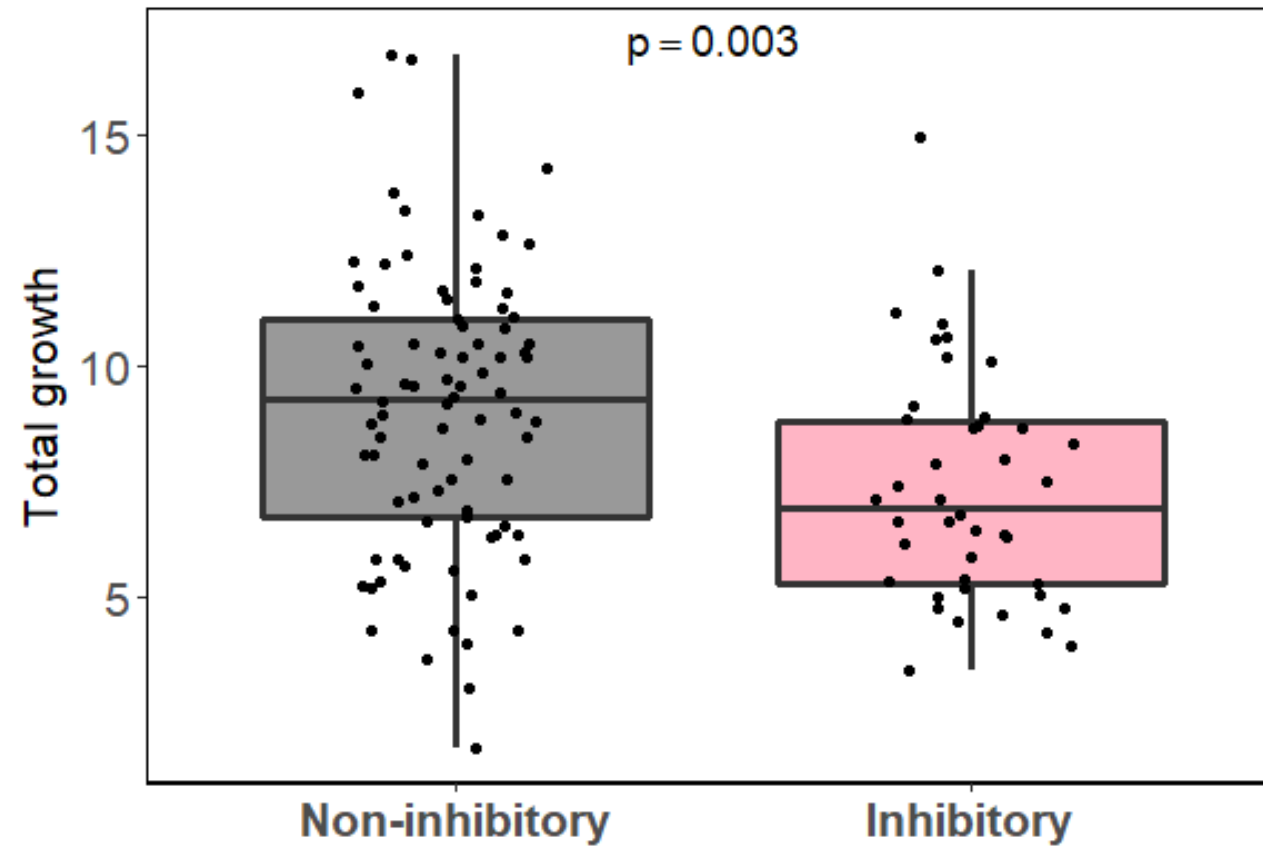
Inhibitor frequency was positively correlated with soil pH



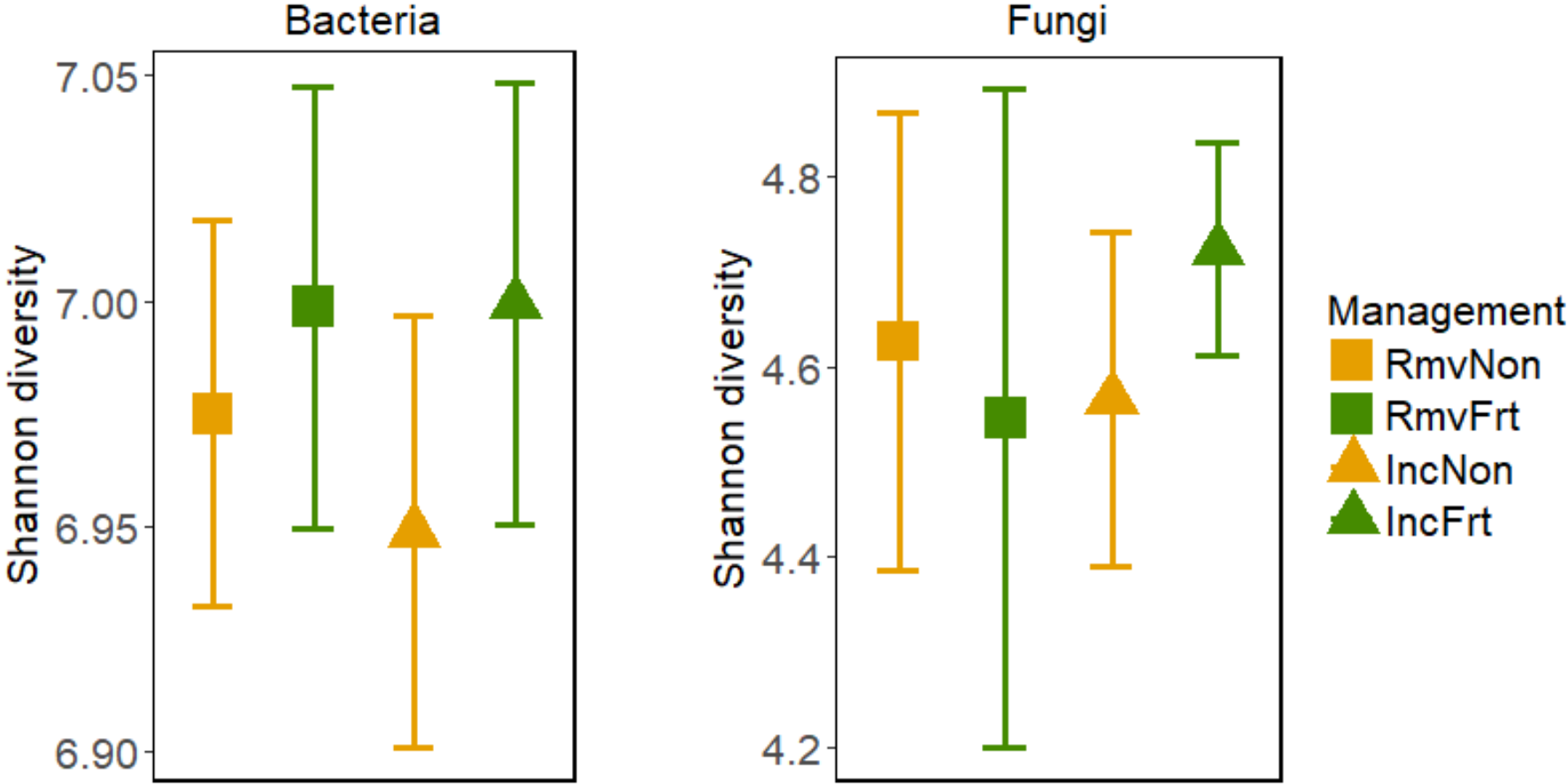
Inhibitor frequency and resource use did not differ between treatments



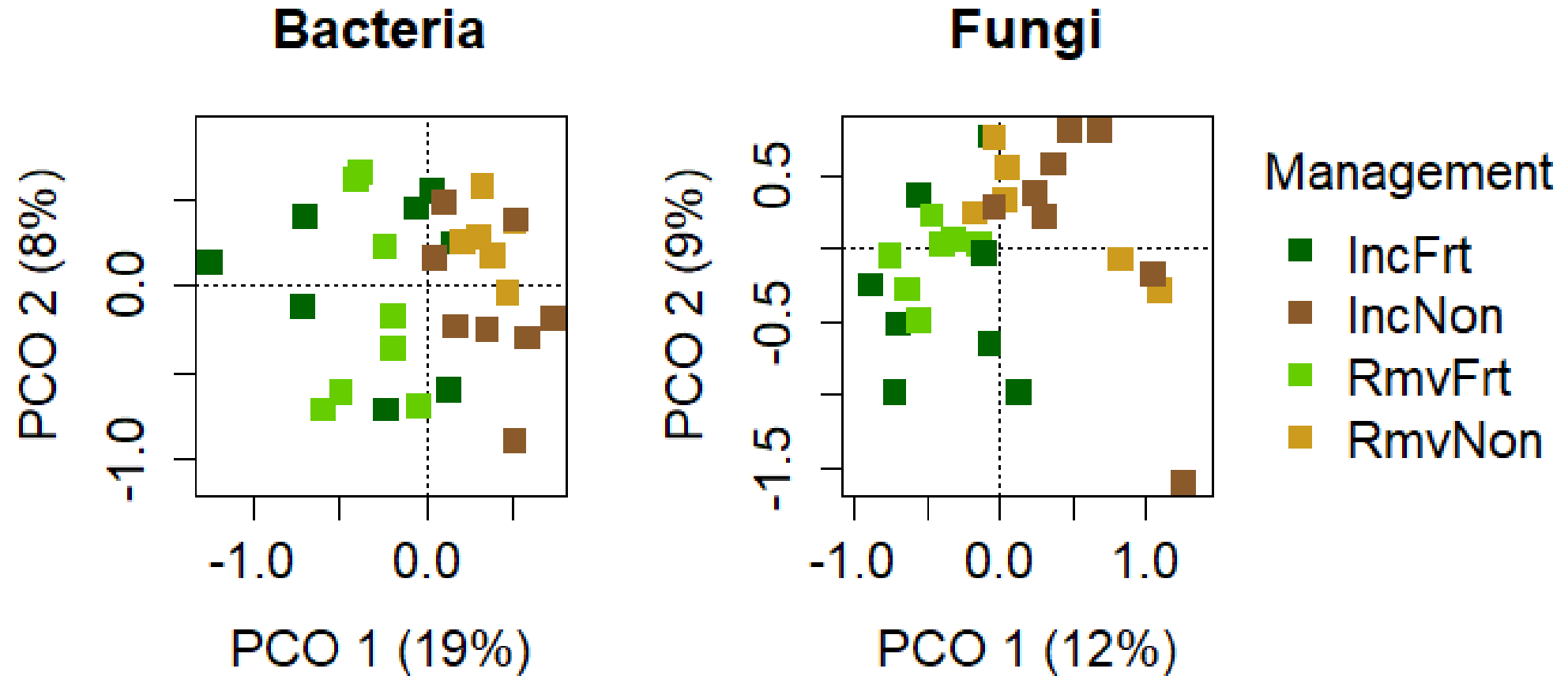
Inhibitory isolates grew less overall



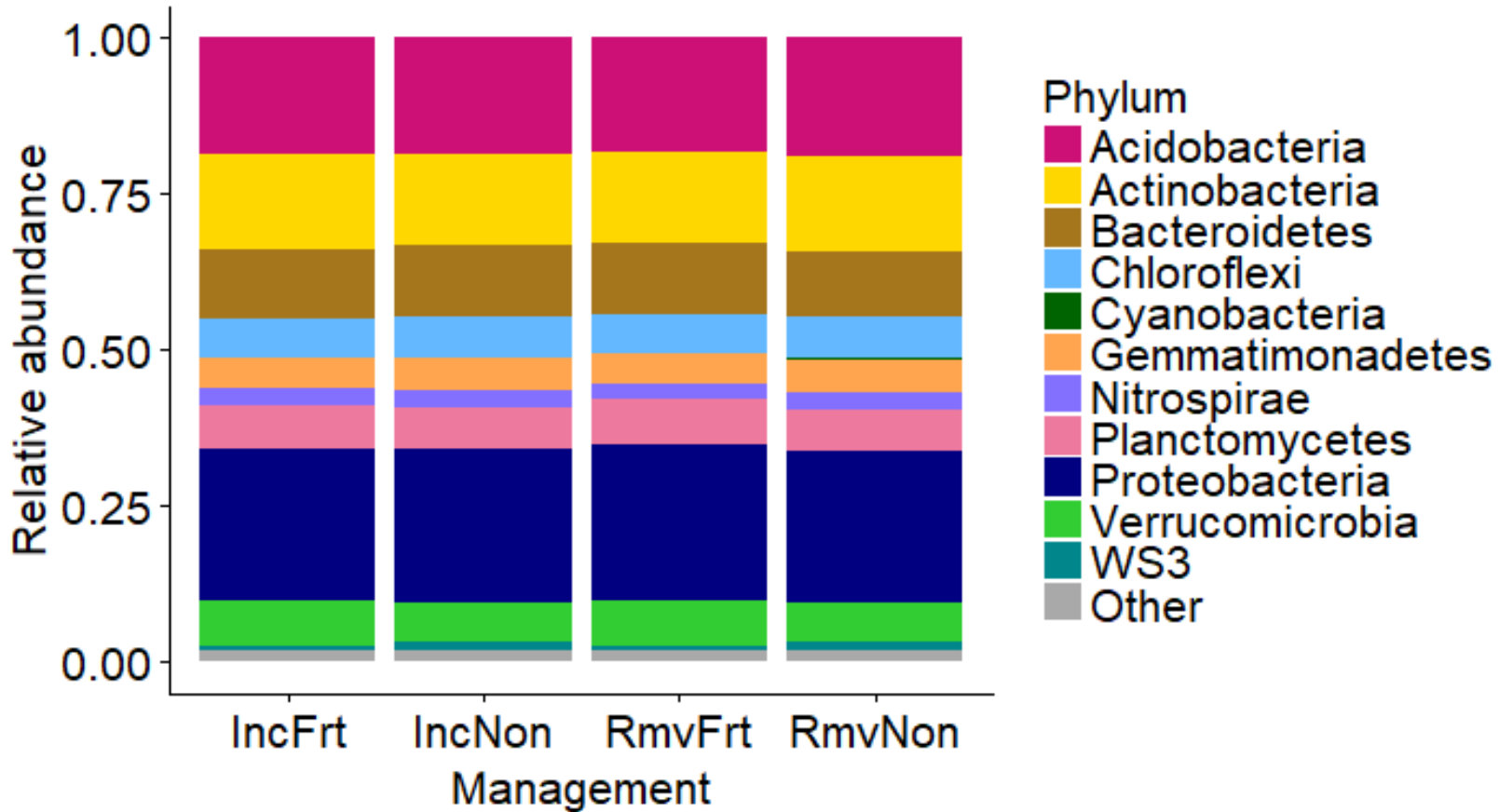
Microbial diversity



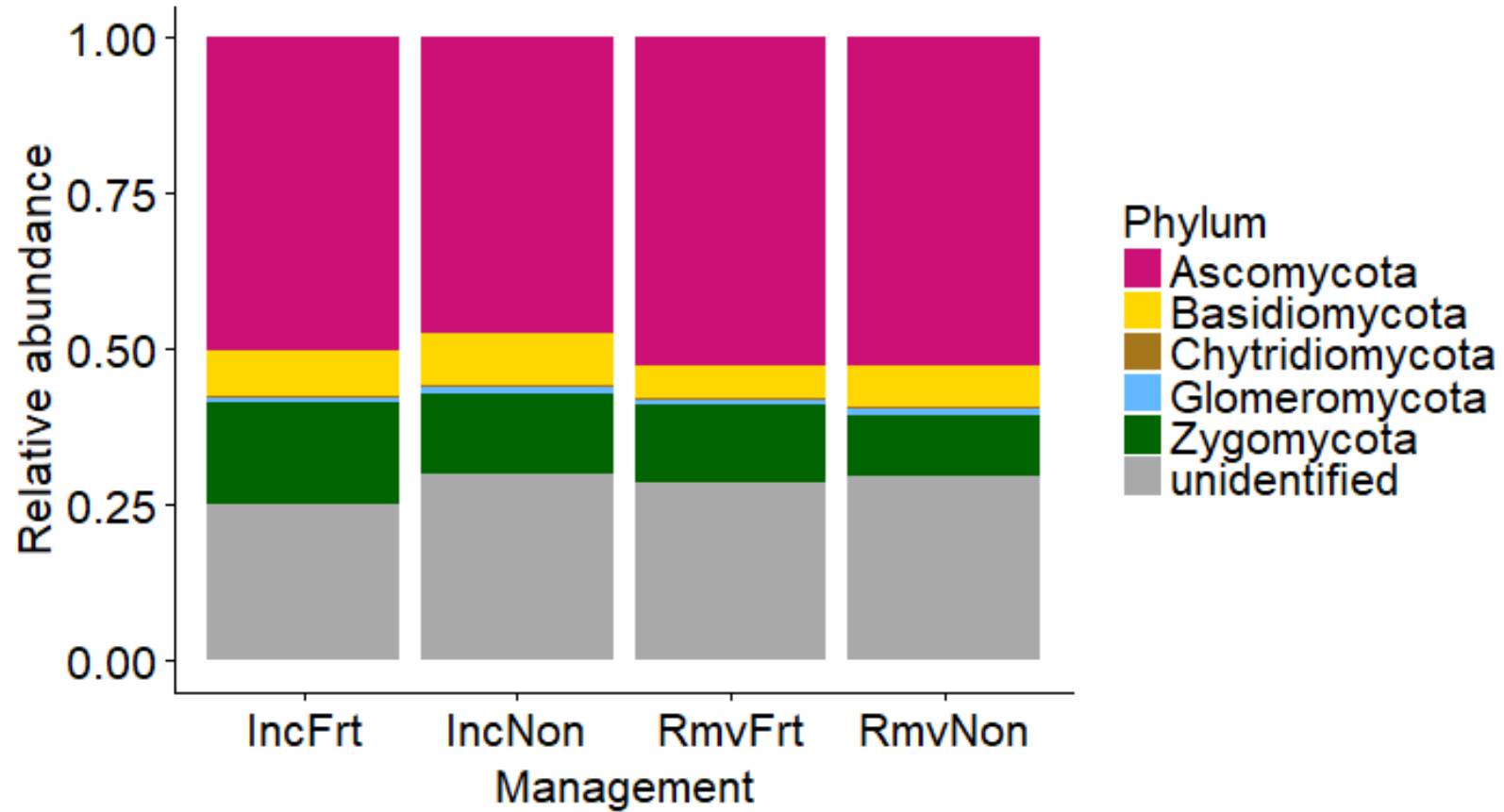
Community composition



Phylum-level composition: Bacteria



Phylum-level composition: Fungi



Conclusions

1. Les apports d'engrais azotés à long terme réduisent la fréquence des inhibiteurs chez les Streptomyces du sol.
2. Il y a un compromis entre la capacité inhibitrice et l'utilisation des ressources chez les Streptomyces, et ce compromis ne diffère pas entre les isolats provenant de parcelles avec des historiques d'entrée de ressources différents.
3. L'engrais modifie la composition de la communauté microbienne. La fréquence des inhibiteurs chez les Streptomyces transmis par le sol est en corrélation positive avec l'abondance de certaines OTU et négativement avec d'autres.

BIBLIOGRAPHY

- Bakker MG, Otto-Hanson L, Lange AJ, Bradeen JM, Kinkel LL. 2013. Plant monocultures produce more antagonistic soil *Streptomyces* communities than high-diversity plant communities. *Soil Biology and Biochemistry*. 65:304–312. doi:10.1016/j.soilbio.2013.06.007.
- Beck T, Joergensen RG, Kandeler E, Makeschin F, Nuss E, Oberholzer HR, Scheu S. 1997. An inter-laboratory comparison of ten different ways of measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*. 29(7):1023–1032.
- Berendsen B, Pikkemaat M, Römken P, Wegh R, van Sisseren M, Stolker L, Nielen M. 2013. Occurrence of chloramphenicol in crops through natural production by bacteria in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(17):4004–4010. doi:10.1021/jf400570c.
- Berg G, Opelt K, Zachow C, Lottmann J, Götz M, Costa R, Smalla K. 2006. The rhizosphere effect on bacteria antagonistic towards the pathogenic fungus *Verticillium* differs depending on plant species and site: Rhizosphere-associated antagonistic bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*. 56(2):250–261. doi:10.1111/j.1574-6941.2005.00025.x.
- Bonanomi G, Antignani V, Capodilupo M, Scala F. 2010. Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soilborne plant diseases. *Soil Biology and Biochemistry*. 42(2):136–144. doi:10.1016/j.soilbio.2009.10.012.
- Bonanomi G, Antignani V, Pane C, Scala F. 2007. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *Journal of Plant Pathology*.:311–324.
- Brito AM de, Gagne S, Antoun H. 1995. Effect of compost on rhizosphere microflora of the tomato and on the incidence of plant growth-promoting rhizobacteria. *Appl Environ Microbiol*. 61(1):194–199.
- Brookes PC, Landman A, Pruden G, Jenkinson DS. 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil biology and biochemistry*. 17(6):837–842.
- Chater KF. 2006. *Streptomyces* inside-out: a new perspective on the bacteria that provide us with antibiotics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 361(1469):761–768. doi:10.1098/rstb.2005.1758.

Chin-A-Woeng TFC, Bloemberg GV, van der Bij AJ, van der Drift KMGM, Schripsema J, Kroon B, Scheffer RJ, Keel C, Bakker PAHM, Tichy H-V, et al. 1998. Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *MPMI*. 11(11):1069–1077. doi:10.1094/MPMI.1998.11.11.1069.

Crawley MJ. 2014. *Statistics: An introduction using R*. 2 edition. Chichester, West Sussex: Wiley.

Davelos AL, Xiao K, Flor JM, Kinkel LL. 2004. Genetic and phenotypic traits of streptomycetes used to characterize antibiotic activities of field-collected microbes. *Canadian Journal of Microbiology*. 50(2):79–89. doi:10.1139/w03-107.

Davies J. 2006. Are antibiotics naturally antibiotics? *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 33(7):496–499. doi:10.1007/s10295-006-0112-5.

Demoling F, Figueroa D, Bååth E. 2007. Comparison of factors limiting bacterial growth in different soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 39(10):2485–2495.

Dolan MS, Clapp CE, Allmaras RR, Baker J., Molina JAE. 2006. Soil organic carbon and nitrogen in a Minnesota soil as related to tillage, residue and nitrogen management. *Soil and Tillage Research*. 89(2):221–231. doi:10.1016/j.still.2005.07.015.

Essarioui A, Kistler HC, Kinkel LL. 2016. Nutrient use preferences among soil *Streptomyces* suggest greater resource competition in monoculture than polyculture plant communities. *Plant and Soil*. 409(1–2):329–343. doi:10.1007/s11104-016-2968-0.

Essarioui A, LeBlanc N, Kistler HC, Kinkel LL. 2017. Plant community richness mediates inhibitory interactions and resource competition between *Streptomyces* and *Fusarium* populations in the rhizosphere. *Microbial Ecology*. 74(1):157–167. doi:10.1007/s00248-016-0907-5.

Frank SA. 1994. Spatial polymorphism of bacteriocins and other allelopathic traits. *Evolutionary Ecology*. 8(4):369–386.

Gieske MF, Ackroyd VJ, Baas DG, Mutch DR, Wyse DL, Durgan BR. 2016. Brassica cover crop effects on nitrogen availability and oat and corn yield. *Agronomy Journal*. 108(1):151. doi:10.2134/agronj2015.0119.

Greig D, Travisano M. 2008. Density-dependent effects on allelopathic interactions in yeast. *Evolution*. 62(3):521–527. doi:10.1111/j.1558-5646.2007.00292.x.

Hansen LH, Ferrari B, Sorensen AH, Veal D, Sorensen SJ. 2001. Detection of oxytetracycline production by *Streptomyces rimosus* in soil microcosms by combining whole-cell biosensors and flow cytometry. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(1):239–244. doi:10.1128/AEM.67.1.239-244.2001.

- Herr LJ. 1959. A method of assaying soils for numbers of actinomycetes antagonistic to fungal pathogens. *Phytopathology*. 49:270–273.
- Heungens K, Parke JL. 2001. Postinfection biological control of oomycete pathogens of pea by *Burkholderia cepacia* AMMDR1. *Phytopathology*. 91(4):383–391. doi:10.1094/PHYTO.2001.91.4.383.
- Huber DM, Watson RD. 1974. Nitrogen form and plant disease. *Annu Rev Phytopathol*. 12(1):139–165. doi:10.1146/annurev.py.12.090174.001035.
- Jensen LE, Nybroe O. 1999. Nitrogen availability to *Pseudomonas fluorescens* DF57 is limited during decomposition of barley straw in bulk soil and in the barley rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(10):4320–4328.
- Kaye JP, Hart SC. 1997. Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Trends in Ecology & Evolution*. 12(4):139–143. doi:10.1016/S0169-5347(97)01001-X.
- Kinkel LL, Bakker MG, Schlatter DC. 2011. A coevolutionary framework for managing disease-suppressive soils. *Annual Review of Phytopathology*. 49(1):47–67. doi:10.1146/annurev-phyto-072910-095232.
- Kinkel LL, Schlatter DC, Bakker MG, Arenz BE. 2012. *Streptomyces* competition and co-evolution in relation to plant disease suppression. *Research in Microbiology*. 163(8):490–499. doi:10.1016/j.resmic.2012.07.005.
- Kinkel LL, Schlatter DC, Xiao K, Baines AD. 2014. Sympatric inhibition and niche differentiation suggest alternative coevolutionary trajectories among streptomycetes. *The ISME journal*. 8(2):249.
- Küster E, Williams ST. 1964. Media for the isolation of streptomycetes: starch casein medium. *Nature*. 202:928–929.
- Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB. 2017. lmerTest package: tests in linear mixed effects models. *Journal of Statistical Software*. 82(13).

Kuzyakov Y, Blagodatskaya E. 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology and Biochemistry*. 83:184–199. doi:10.1016/j.soilbio.2015.01.025.

Leifert C, Li H, Chidburee S, Hampson S, Workman S, Sigeo D, Epton H a. s., Harbour A. 1995. Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45. *Journal of Applied Bacteriology*. 78(2):97–108. doi:10.1111/j.1365-2672.1995.tb02829.x.

Lenth R, Singmann H, Love J, Buerkner P, Herve M. 2018. emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. [accessed 2018 Nov 22]. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>.

Linares JF, Gustafsson I, Baquero F, Martinez JL. 2006. Antibiotics as intermicrobial signaling agents instead of weapons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 103(51):19484–19489.

Perez C, Dill-Macky R, Kinkel LL. 2008. Management of soil microbial communities to enhance populations of *Fusarium graminearum*-antagonists in soil. *Plant and Soil*. 302(1–2):53–69. doi:10.1007/s11104-007-9455-6.

R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Raaijmakers JM, Bonsall RF, Weller DM. 1999. Effect of population density of *Pseudomonas fluorescens* on production of 2, 4-diacetylphloroglucinol in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology*. 89(6):470–475.

Raaijmakers JM, Mazzola M. 2012. Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*. 50(1):403–424. doi:10.1146/annurev-phyto-081211-172908.

Raaijmakers JM, Vlami M, De Souza JT. 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek*. 81(1):537–547.

- Raaijmakers JM, Weller DM, Thomashow LS. 1997. Frequency of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp. in natural environments. *Applied and Environmental Microbiology*. 63(3):881–887.
- Rotenberg D, Joshi R, Benitez M-S, Chapin LG, Camp A, Zumpetta C, Osborne A, Dick WA, Gardener BBM. 2007. Farm management effects on rhizosphere colonization by native populations of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp. and their contributions to crop health. *Phytopathology*. 97(6):756–766. doi:10.1094/PHYTO-97-6-0756.
- Sarniguet A, Lucas P, Lucas M. 1992. Relationships between take-all, soil conduciveness to the disease, populations of fluorescent pseudomonads and nitrogen fertilizers. *Plant Soil*. 145(1):17–27. doi:10.1007/BF00009537.
- Schlatter D, Fubuh A, Xiao K, Hernandez D, Hobbie S, Kinkel L. 2009. Resource amendments influence density and competitive phenotypes of *Streptomyces* in soil. *Microbial Ecology*. 57(3):413–420. doi:10.1007/s00248-008-9433-4.
- Schlatter D, Kinkel L, Thomashow L, Weller D, Paulitz T. 2017 Jun 26. Disease suppressive soils: New insights from the soil microbiome. *Phytopathology*.:1–14. doi:10.1094/PHYTO-03-17-0111-RVW.
- Schlatter DC, Kinkel LL. 2014a. Antibiotics: Conflict and communication in microbial communities. *Microbe*. 9:282–288.
- Schlatter DC, Kinkel LL. 2015. Do tradeoffs structure antibiotic inhibition, resistance, and resource use among soil-borne *Streptomyces*? *BMC Evolutionary Biology*. 15(1). doi:10.1186/s12862-015-0470-6. [accessed 2017 Sep 28]. <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/15/186>.
- Smiley RW. 1978. Antagonists of *Gaeumannomyces graminis* from the rhizoplane of wheat in soils fertilized with ammonium- or nitrate-nitrogen. *Soil Biology and Biochemistry*. 10(3):169–174. doi:10.1016/0038-0717(78)90092-5.
- de Souza JT, Weller DM, Raaijmakers JM. 2003. Frequency, diversity, and activity of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in Dutch take-all decline soils. *Phytopathology*. 93(1):54–63. doi:10.1094/PHYTO.2003.93.1.54.

Thomashow LS, Weller DM, Bonsall RF, Pierson LS. 1990. Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat. *Applied and Environmental Microbiology*. 56(4):908–912.

Thorup-Kristensen K, Magid J, Jensen LS. 2003. Catch crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones. *Advances in agronomy*. 79:227–302.

Acknowledgements



Advisor: Linda Kinkel

Kinkel lab: Jon Anderson, Kristen Becklund, Sarah Castle, Mariah Dorner, JP Dundore-Arias, Adil Essarioui, Laura Felice, Lindsey Hanson, Kyle Haralson, Molly Kuhs, Keegan McKye, Matt Michalska-Smith, Matt Pereyra, Dan Schlatter, Zewei Song, Nick Wornson, Max Zaret

, Meredith Palmer, Meredith Steck, Jen Teshera-Levye, Lauren White

Grossman and Gutknecht labs: Julie Grossman, Jess Gutknecht, Anne Pfeiffer, Carol Loopstra, Michelle Dobbratz, Fucui Li, Jen Nicklay, Sharon Perrone, Stella Pey, Manbir Rakkar, Marie Schaedel, Charlotte Thurston, Vivian Wauters

Family and friends!

Funding: Fulbright program Fellowship,