

CONTRIBUTION TO DETERMINING THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF THE WATER CHESTNUT *TRAPA NATANS* L. LAKE OUBEIRA EL- KALA AND DEVELOPMENT OF NUTRIENT AGAR

CONTRIBUTION À LA DÉTERMINATION DE LA COMPOSITION BIOCHIMIQUE DE LA CHÂTAIGNE D'EAU *TRAPA NATANS* L. DU LAC OUBEÏRA D'EL- KALA ET MISE AU POINT D'UNE GÉLOSE NUTRITIVE

Mohamed Sahli^{1*}, Aissa Boutebba², Ali Tahar¹

¹University Badji Mokhtar, Faculty of Sciences, Department of Biology,
B.P. 12, Sidi-Ammar 23000, Annaba, Algeria

²University Badji Mokhtar, Faculty of Sciences, Department of
Biochemistry, B.P. 12, Sidi-Ammar 23000, Annaba, Algeria

*Corresponding author: msahli30@yahoo.fr

Received: September, 10, 2015

Accepted: September, 30, 2015

Abstract: This work aims to determining the biochemical composition of the flour water chestnut seeds and the development of a nutrient agar for bacteria and fungi in the presence and absence of oxytetracycline. The culture medium consists of the filtrate recovered after dispersion of the flour of the seeds in distilled water and the agar. The results show in the absence of oxytetracycline, bacterial and fungal strains develop. In the presence of the antibiotic to 0.25 mg·mL⁻¹ and 0.5 mg·mL⁻¹ bacteria are completely inhibited whereas fungi evolve. Statistical analysis reveals the existence of a very highly significant difference ($P \leq 0.001$) between the effects of different concentrations of the bactericide deploying *Pyrenophora tritici* and *Septoria nodorum*. There is no influence of antibacterial concentrations on the growth of *Fusarium sp.*

Keywords: bactericide, culture medium, fungi, *Fusarium sp.*,
Pyrenophora tritici, *Septoria nodorum*

INTRODUCTION

La châtaigne d'eau *Trapa natans* L. est une plante aquatique flottante annuelle. Elle appartient à la famille des *Trapaceae*. Elle pousse dans les étendues d'eau peu profondes, les étangs ou les terres marécageuses dans les pays tropicaux et subtropicaux [1]. Sa large propagation lui permet d'envahir le site et de s'en accaparer [2]. Traditionnellement, elle est employée pour diverses applications médicales [3, 4]. Certaines études pharmaceutiques ont montré ses vertus thérapeutiques [5 – 11]. La graine a été utilisée dans l'alimentation humaine ou animale [12]. Elle est consommée essentiellement sous forme de légume cuit ou de farine. D'après Puste, Lee et Hwang [13, 14], elle a une teneur en protéines égale à 1,74 %. Pour P. Kalita et al [12], le taux des substances protéiques est 11,4 %. Selon Lee et Hwang [14] les lipides sont évalués à 0,06 %. Pour P. Kalita et al [12], Le pourcentage de la matière grasse est 8,0 %. Gani, A. et al [15] analysant l'amidon de la graine de cette espèce végétale de trois lacs différents obtiennent des proportions de 85 %, 80 % et 97,5 %.

Les propriétés de ce biopolymère révèlent la possibilité de l'apporter comme ingrédient lors de la préparation de certains aliments. Les sucres totaux et réducteurs sont 5,63 et 1,27 % respectivement [16, 17]. Par rapport aux minéraux, le potassium, le fer et le manganèse représentent consécutivement 0,41 %, 0,21 % et 0,08 % [14].

Sa valorisation trouve son intérêt car celle-ci rassemble dans sa composition tout ce qui est nécessaire en protéines, lipides, glucides, minéraux elle a donc sa place et son utilité. Son utilisation pour la fabrication de supports favorables au développement de microorganismes est possible. Elle peut permettre de produire des milieux de cultures microbiennes. Ces derniers sont formés de matières biologiques ou chimiques, créent un environnement propice à la culture d'organismes microscopiques identifiés [18]. Ils sont soit commercialisés sous formes des produits prêts à l'emploi en tubes ou en récipients à couler en boîtes de pétrie et comme substances déshydratées à reproduire et à étaler, soit préparés au laboratoire [19]. Ils constituent une grande variété en relation avec la différence des besoins nutritifs des germes. Il y a ceux dits synthétiques dans lesquels tous les constituants sont précisés. Ils sont liquides ou gélifiés par l'agar [20]. Certains appelés semi-synthétiques contiennent des composants définis chimiquement, mais aussi quelques composés naturels, aussi spécifiés que possible [21].

Il existe d'autres, d'origine animale ou végétale, de réalisation empirique, de constitution complexe mal connue. Ils sont classés selon leur fonction. Pour ce qui est de l'isolement, ils laissent se développer de multiples espèces bactériennes [22]. Par rapport à l'enrichissement, ils fournissent les nutriments et les conditions convenables à l'évolution d'un seul microbe [23].

Quant à la sélectivité, il est employé ceux facilitant la culture de certaines bactéries aux dépens d'autres [24]. C'est donc dans ce contexte de composition biochimique et de milieux de culture que s'inscrit ce travail consacré à l'obtention de données pour la graine de la châtaigne d'eau *Trapa natans* L. du lac Oubeïra d'El-kala dont nous ne connaissons a priori rien, à ce jour, concernant la composition biochimique et la préparation d'une gélose nutritive qui fournit un milieu de croissance idéal pour des microorganismes.

MATERIEL ET METHODES D'ANALYSE

Présentation du site et de la plante

La Figure 1 indique la localisation géographique du lac Oubeïra. El-Kala est une des régions les plus arrosées d'Algérie. Elle se situe dans l'étage bioclimatique subhumide chaud. Elle se distingue par deux saisons, l'une sèche, s'étalant de mai à septembre et l'autre, humide de septembre à avril. Elle connaît une pluviométrie moyenne comprise entre 700 et 800 mm/an allant du début d'octobre à la fin mars. La période hivernale est chaude avec des vents durables à dominance Nord-Ouest. L'Oubeïra est un lac permanent constitué d'eau douce. C'est une cuvette endoréique fermée de fond plus ou moins plat. La profondeur maximale est 4 m avec une moyenne de 1,24 m. En hiver, l'eau est turbide. Les valeurs de *pH* sont de 8,00 à 10,65. En janvier, les températures varient de 8,8 °C à 15,2 °C. Il est le seul site Algérien abritant la châtaigne d'eau *Trapa natans* L. Cette dernière est une plante aquatique de 3 m de long. Sa tige et ses feuilles rhomboïdales dentées sont flottantes. Ses fleurs blanches sont pédonculées à l'aisselle des feuilles. Son fruit osseux est polymorphe possédant 4 cornes. La Figure 2 montre la graine utilisée dans l'étude.

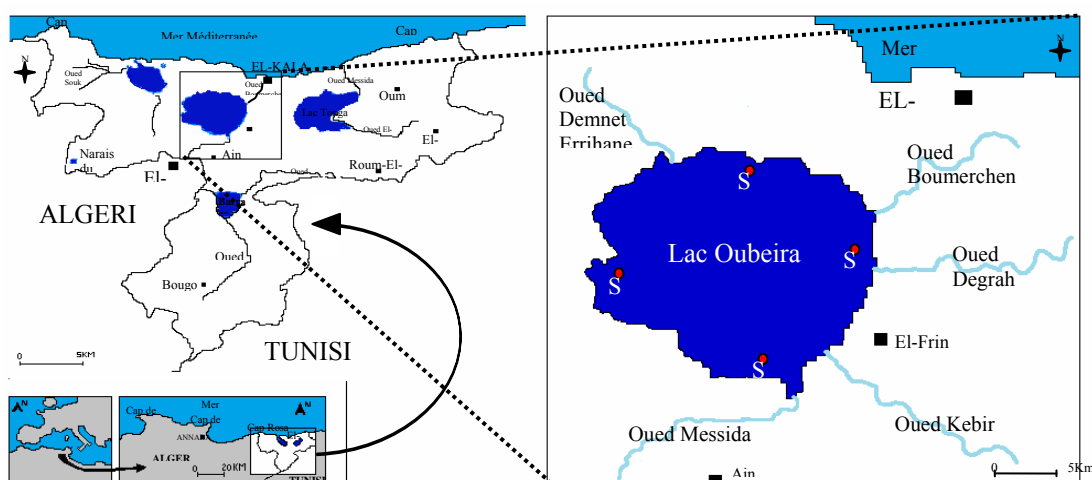


Figure 1. Localisation géographique du Lac Oubeïra d'El-Kala

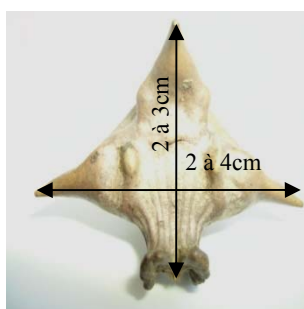


Figure 2. Graine de la plante *Trapa natans* (Trapaceae) utilisée à l'étude

Préparation de l'échantillon

Après récolte des graines et leur lavage à l'eau, séchage à température ambiante et écorçage, elles sont moulues finement. A la suite du tamisage, le produit est conservé à 4 °C.

Détermination de la composition biochimique

Le taux des protéines totales est déterminé en multipliant la teneur d'azote par le coefficient 6,25 suivant la méthode de détermination de l'azote de Kjeldahl [25]. Les teneurs en amylose et en amylopectine, sucres totaux et réducteurs sont évaluées par spectrophotométrie à la longueur d'onde (λ) 580 nm, 546 nm, et 492 nm respectivement. Le pourcentage d'amidon est la somme des quantités d'amylose et d'amylopectine [26, 27]. Pour les lipides, l'extraction est réalisée au Soxhlet pendant 8 heures à l'aide de l'éther de pétrole. Le solvant organique et la substance séparée après plusieurs cycles sont placés dans un rotavapor. La matière grasse récupérée est pesée et exprimée en g pour 100 g de produit [28]. La vitamine C est dosée par la technique normalisée volumétrique à 2,6-dichlorophénol-indophénol [29]. Elle s'oxyde facilement en milieu alcalin en acide dehydroascorbique. L'action réductrice sert de base à la révélation chimique du composé. A pH acide, elle décolore le 2,6-dichlorophénol-indophénol. La réaction est quantitative et permet la détermination de l'ascobémie [30]. La vitamine E est extraite par l'éther de pétrole et précisée par spectrophotométrie à λ 510 nm [31]. Pour la vitamine A à 10 g d'échantillon, il est ajouté 75 mL d'éthanol 96 % et 7,5 mL de KOH 50 %. Après 20 minutes d'ébullition dans un ballon doté d'un réfrigérant, refroidissement et addition de 75 mL d'eau distillée, il est procédé à l'extraction avec 5 fois 30 mL d'hexane. Les extraits sont recueillis dans une fiole jaugée. Le volume est ajusté à 250 mL avec le même solvant. La teneur en unités internationales par g est calculée après la lecture de la DO à λ 325 nm [32]. Concernant les cendres, la prise d'essai déposée dans un creuset en silice et carbonisée sur une plaque chauffante sous hotte chimique est introduite dans un four à moufle réglé à 550 °C pendant 6 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur en verre sans graisse, elle est pesée. Le résultat est donné par le rapport de la masse obtenue sur celle de l'échantillon par 100 [25]. Une solution composée de 20 mg de matière grasse, 5 mL d'heptane et 0,2 mL de la solution d'hydroxyde de sodium méthanolique 2N est analysée par chromatographie en phase gazeuse pour mettre en évidence les acides gras [33, 34]. L'appareil est de type SHIMADZU QP 2010 équipée d'une colonne capillaire de type SE 30 apolaire de longueur égale à 25 m ayant un diamètre de 0,25 μ m, d'un injecteur split et un détecteur FID. La phase mobile est l'hélium. La température de l'injecteur est 250 °C. Le volume injecté est 0,1 μ L. Les éléments minéraux Zn, Fe, Cu, Cr, Mn et Cd sont identifiés par absorption atomique (SAA). Les mesures sont exprimées en ppm [35].

Préparation de la gélose nutritive et analyses microbiologiques

Afin de préparer la gélose nutritive, 10 g de la farine de la graine de la châtaigne d'eau sont dispersés dans 100 mL d'eau distillée. Après agitation sur un agitateur magnétique 300 tminute⁻¹ durant 10 minutes, le mélange est chauffé jusqu'à l'obtention d'une

bouillie puis filtré sur papier filtre Whatman. Au filtrat réajusté à 100 mL avec de l'eau distillée, il est ajouté 0,2 g d'agar-agar. La solution obtenue après solubilisation totale de l'agar-agar par agitation dans les mêmes conditions que précédemment est placée dans des flacons et autoclavée pendant 20 minutes. Chaque boîte de pétrie du produit de $pH = 5,63$, gélifié rapidement à température ambiante et incubée pendant 24 heures à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ est examinée pour détecter les contaminants. Le milieu prêt à l'emploi estensemencé par des souches bactériennes et fongiques en absence et en présence d'oxytétracycline à $0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,25\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ et $0,5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Dans 100 mL de gélose nutritive, il est introduit 1 mL de cet antibiotique à large spectre. Les bactéries utilisées sont *E. coli* (Gram+), *Klebsiella sp* (Gram-Gram-) et *Staphylococcus aureus* (Gram+). Les résultats sont observés après 24 heures d'incubation à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pour les champignons, les agents phytopathogènes sont *Fusarium sp*, *Pyrenophora tritici* et *Septoria nodorum*. L'incubation est à $28\text{ }^{\circ}\text{C}$. Il est mesuré chaque 24 heures le diamètre de croissance pendant 7 jours. Il est déterminé la vitesse de croissance radiale. Lorsque cette dernière est supérieur à 2 mm/jour, il est conclut que le champignon se développe de manière rapide sur le milieu [36]. Il est procédé au repiquage à partir des boîtes de Pétrie.

Analyse statistique

Par rapport à la composition biochimique, pour chaque paramètre, il est fait 3 répétitions. Il est calculé la moyenne arithmétique. L'influence des différentes concentrations d'oxytétracycline sur la croissance des souches fongiques est traitée par l'analyse de la variance à un critère de classification modèle fixe (ANOVA) et le test de Tukey. Les calculs sont réalisés avec le logiciel Minitab version 16.0 [37].

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans le Tableau 1 est indiquée la composition biochimique de la farine de la graine de la châtaigne d'eau *Trapa natans*. Il apparait que le taux des protéines totales est $6,97\pm 0,2\%$. Le pourcentage des substances protéiques de la châtaigne d'eau chinoise établi par Lee et Hwang [14] est égal à 1,74 %. Pour P. Kalita *et al* [12] il est de 11,4 %.

Tableau 1. Composition biochimique de la farine de la châtaigne d'eau *Trapa natans* L.

Composés	Quantité
Protéine total N x 6,25 [g/100g]	$6,97 \pm 0,2$
Lipides totaux [%]	$3,15 \pm 0,05$
Amidon [%]	$59,33 \pm 0,6$
Amylose [%]	$41,33 \pm 0,6$
Amylopectine [%]	$18,00 \pm 1,0$
Sucre totaux [%]	$5,32 \pm 0,6$
Sucre réducteurs [%]	$1,23 \pm 0,3$
Vitamine C [mg/100g]	$4,56 \pm 0,5$
Vitamine E [mg/100g]	$0,26 \pm 0,04$
Vitamine A [UI g ⁻¹]	$3,66 \pm 0,4$
Cendres totales [%]	$2,93 \pm 0,06$

L'amidon représente $59,33 \pm 0,6$ % dont 70 % et 30 % sont de l'amylose et de l'amylopectine respectivement. Suivant Yang *C et al* [38], il varie de 65 % à 80 %. Les différences entre les résultats peuvent être dues aux conditions climatiques et édaphiques particulières des zones d'études. Les proportions des sucres totaux et réducteurs sont l'une après l'autre $5,32 \pm 0,6$ % et $1,23 \pm 0,3$ %. Elles sont comparables à celles données par Singh et al [17]. L'apport en lipides est $3,15 \pm 0,05$ %. Les matières grasses isolées sont de très bons éléments moussants. Les vitamines C, E et A constituent consécutivement $4,56 \pm 0,5$ mg/100 g, $0,26 \pm 0,04$ mg/100 g et $3,66 \pm 0,4$ UI/g. La vitamine C a un fort pouvoir réducteur. Elle protège des actions toxiques des radicaux libres. Elle favorise l'absorption du fer d'origine végétale. Elle est hydrosoluble et très sensible à la chaleur. La vitamine E est trouvée dans les huiles des oléagineuses. Elle assure la protection de la vitamine A et celle des acides gras polyinsaturés dans les membranes cellulaires [39]. Ces deux composants sont des antioxydants. Pour ce qui est de la vitamine A, elle a des propriétés d'agent filtrant et anticancéreuses. Les cendres sont de $2,93 \pm 0,06$ %. Au vue du Tableau 2, sont mis en évidence 15 acides gras.

Tableau 2. Composition en acides gras de la matière grasse de la farine de la châtaigne d'eau *Trapa natans*

Type d'acide gras	Nom systématique	Numéro CAS	Temps de rétention [min]	Abrégé	Nom commun
Acides gras saturé	Undecanoic acid, 10-methyl-, methyl ester	5129-56-6	8,535	C11:0	-
	Tridecanoic acid, 4,8,12-trimethyl-, methyl ester	1033-74-9	8,538	C13:0	-
	Tetradecanoic acid	544-63-8	13,40	C14:0	Myristique
	Pentadecanoic acid, methyl ester	7132-64-1	14,842	C15:0	-
	Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester	6929-04-0	18,01	C16:0	-
	Hexadecanoic acid, methyl ester	112-39-0	18,013	C16:0	-
	n-Hexadecanoic acid	57-10-3	19,64	C16:0	Palmitique
	Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester	5129-61-3	29,307	C17:0	-
	Octadecanoic acid	57-11-4	31,48	C18:0	Stéarique
	Eicosanoic acid methyl ester	1120-28-1	36,735	C20:0	-
	Eicosanoic acid	506-30-9	37,60	C20:0	Arachidique
	Tricosanoic acid, methyl ester	2433-97-8	35,217	C23:0	-
Acides gras mono-insaturé	9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)-	1120-25-8	16,935	C16:1	-
	11-Hexadecenoic acid, methyl ester	55000-42-5	16,958	C16:1	-
	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	112-62-9	26,841	C18:1	-
	10-Octadecenoic acid, methyl ester	13481-95-3	26,809	C18:1	-
	8-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	/	26,826	C18:1	-
	Oleic acid	112-80-1	29,66	C18:1	Oléique
	9-Octadecenoic acid, (E)-	112-79-8	30,41	C18:1	Élaïdique
Acides gras poly-insaturé	11-Eicosenoic acid, methyl ester	3946-08-5	35,750	C20:1	-
	8,11-Octadecadienoic acid, methyl ester	56599-58-7	37,233	C18 :2	-
	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	2462-85-3	26,069	C18 :2	-
	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	112-63-0	26,092	C18 :2	-
	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	60-33-3	29,25	C18 :2	Linoléique
	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester	7361-80-0	34,042	C18 :3	-
	6,9,12- Octadecatrienoic acid, methyl ester	2676-41-7	34,889	C18 :3	-
	8,11,14-Eicosatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	1783-84-2	35,29	C20 :3	dihomo γ – linolénique
	7,10,13-Eicosatrienoic acid, methyl ester	/	36,042	C20 :3	-

Certains sont saturés, mono-insaturés et polyinsaturés à nombre paire de carbones. L'acide myristique (C14:0), l'acide palmitique (C16:0) l'acide stéarique (C18:0), l'acide arachidique (C20:0), palmitoléique (C16:1), l'acide linoléique (C18:2) et l'acide

octadécatriénoïque (C18:3) ont été déterminés aussi par A.K. Mukherjee *et al* [40]. Il est constaté que la plupart des composés sont sous la forme *cis*. Ceux à nombres impairs de carbones identifiés ne sont pas rapportés par la littérature. En raison des difficultés expérimentales relatives à l'identification de ces molécules les caractéristiques et les fonctions n'ont pas été pleinement traitées. Pour ceux définis, d'après Bode, L. *et al* [41] l'acide tricosanoïque a été décelé acylé à divers glycolipides, phospholipides et gangliosides. Il est produit par les végétaux et les mammifères [42]. L'acide margarique (C17:0) est synthétisé par la flore bactérienne dans le rumen des ruminants [43]. La même remarque concerne l'acide pentadécanoïque (C15:0) [44]. Il est également présent chez les bactéries et les champignons. Il est rencontré à l'état de traces dans les huiles végétales. Ces trois composés sont rares dans le plus grand des systèmes biologiques [43 – 46]. L'acide undécanoïque est une source naturelle dans les plantes. Il a des actions antifongiques. Son rôle dans l'inhibition de *Trichophyton rubrum* a été récemment étudié [47].

La Figure 3 révèle que la contenance en minéraux va décroissent du fer au zinc puis au manganèse, cuivre, chrome et cadmium. Le fer et le zinc sont les principales entités chimiques inorganiques. Il est prouvé que cet akène peut accumuler des métaux lourds. Ce végétale peut jouer un rôle important dans la purification de l'écosystème aquatique.

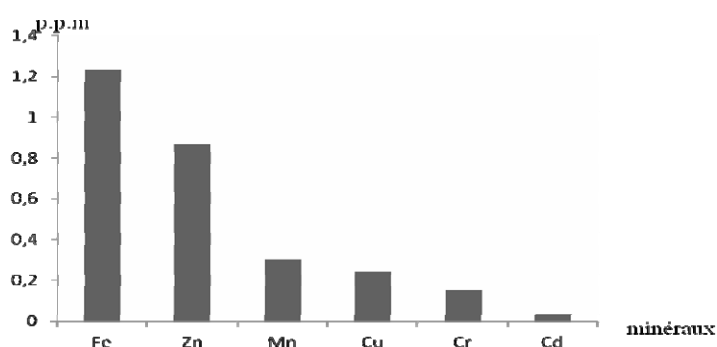


Figure 3. Quantités des éléments minéraux déterminés en ppm

Les Figures 4 et 5 montrent le milieu de culture contenu dans les boîtes de Pétrie après incubation durant 24 heures à 28 °C et 37 °C pour détecter les contaminants. Il est vérifié qu'il est stérile. Vu son aspect, sa couleur, son odeur, sa solubilité, sa clarté, sa gélification et son pH = 5,63, il est de bonne qualité. Sa transparence parfaite permet de tout discerner. Il est pris pour l'ensemencement des souches bactériennes et fongiques. Ces dernières sont incubées aux températures exigées pendant les temps fixés.

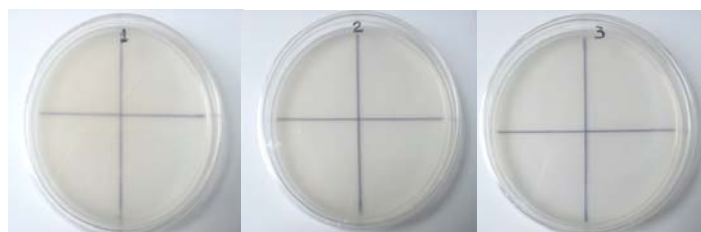


Figure 4. Milieu de culture après incubation à 28 °C pendant 24 heures pour détecter les contaminants



Figure 5. Milieu de culture après incubation à 37 °C pendant 24 heures pour détecter les contaminants

Les données se rapportant à l'évolution des bactéries Gram+ et Gram- étudiées en absence et en présence d'oxytétracycline sont présentées dans le Tableau 3 à 0 mg·mL⁻¹, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella sp* se développent. A 0,1 mg·mL⁻¹ du bactéricide employé, *E. coli* et *Staphylococcus aureus* ne se déploient pas. *Klebsiella sp* se propage. Pour 0,25 mg·mL⁻¹ et 0,5 mg·mL⁻¹ de cet antibiotique, il y a inhibition totale de ces trois microorganismes.

Tableau 3. Evolution des souches bactériennes *E. coli*, *Klebsiella sp* et *Staphylococcus aureus* en absence et en présence de différentes concentrations d'oxytétracycline

Souche	0 mg·mL ⁻¹	0,1 mg·mL ⁻¹	0,25 mg·mL ⁻¹	0,5 mg·mL ⁻¹
<i>E. coli</i>	-	+	+	+
<i>Klebsiella sp</i>	-	-	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+	+

+ : inhibition des souches. - : développement des souches.

Les Figures 6, 7 et 8 montrent le développement des souches bactériennes en absence et en présence des différentes concentrations d'oxytétracycline.

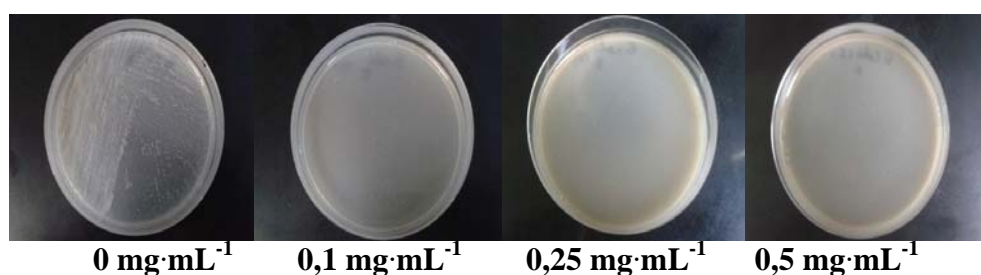


Figure 6. Développement d'*E. coli* en absence et en présence d'oxytétracycline à différentes concentrations

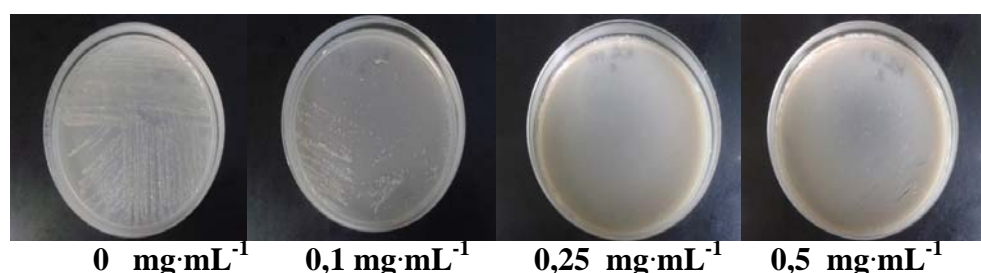
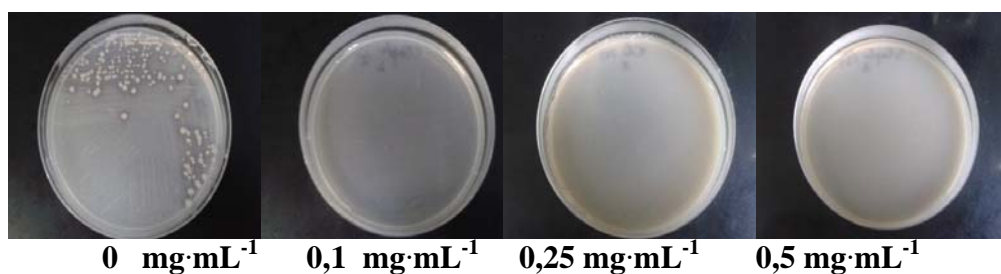
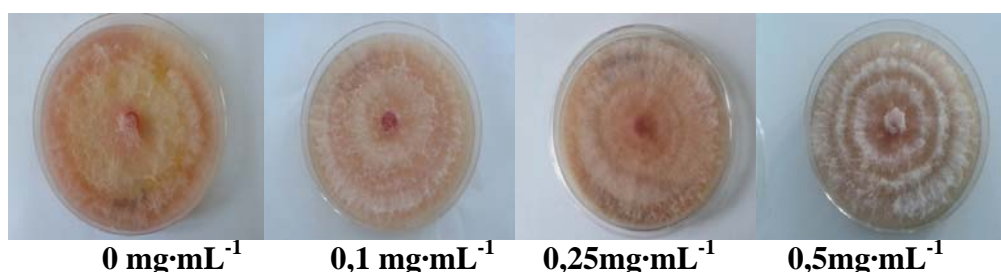


Figure 7. Développement de *Klebsiella sp* en absence et en présence d'oxytétracycline à différentes concentrations

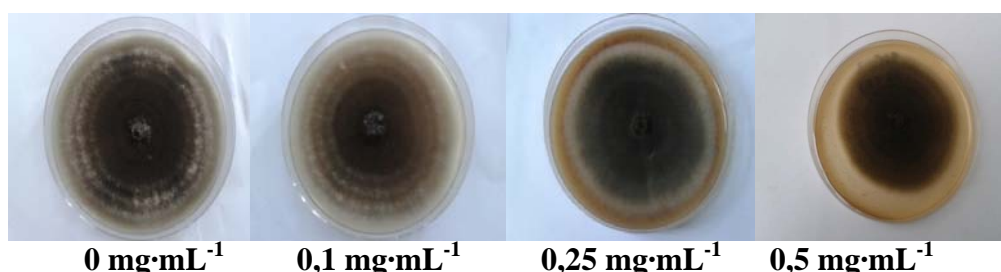


0 mg·mL⁻¹ 0,1 mg·mL⁻¹ 0,25 mg·mL⁻¹ 0,5 mg·mL⁻¹
Figure 8. Développement de *Staphylococcus aureus* en absence et en présence d'oxytétracycline à différentes concentrations

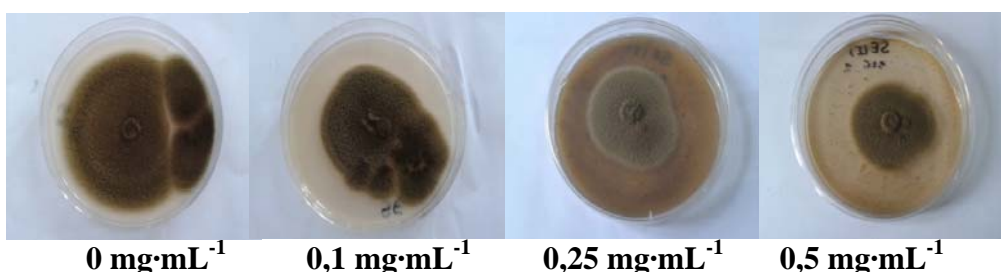
Pour ce qui est des champignons, les Figures 9, 10 et 11 font apparaître le développement des souches fongiques en absence et en présence d'oxytétracycline à différentes concentrations.



0 mg·mL⁻¹ 0,1 mg·mL⁻¹ 0,25 mg·mL⁻¹ 0,5 mg·mL⁻¹
Figure 9. Développement *Fusarium* sp en absence et en présence d'oxytétracycline à différentes concentrations



0 mg·mL⁻¹ 0,1 mg·mL⁻¹ 0,25 mg·mL⁻¹ 0,5 mg·mL⁻¹
Figure 10. Développement *Pyrenophora tritici* en absence et en présence d'oxytétracycline à différentes concentrations



0 mg·mL⁻¹ 0,1 mg·mL⁻¹ 0,25 mg·mL⁻¹ 0,5 mg·mL⁻¹
Figure 11. Développement *Septoria nodorum* en absence et en présence d'oxytétracycline à différentes concentrations

Suite à l'analyse des statistiques du Tableau 4, il est élucidé l'existence d'aucune influence de 0 mg·mL⁻¹, 0,1 mg·mL⁻¹, 0,25 mg·mL⁻¹ et 0,5 mg·mL⁻¹ de cet antibiotique

utilisé sur la formation et l'étalement de *Fusarium sp.* Il ya une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) entre les effets des concentrations distinctes de cet antibactérien sur le développement de *Pyrenophora tritici* et *Septoria nodorum*. Il est donc possible d'isoler ces champignons pathogènes. Les aspects des mycéliums aériens de *Fusarium sp.*, *Pyrenophora tritici* et *Septoria nodorum* sont successivement cotonneux et de couleur rose à orange, cotonneux et d'une couleur gris-vert et de couleur brun-claire.

Tableau 4. Comparaison de l'influence des différentes concentrations d'oxytétracycline sur le développement des souches fongiques *Fusarium sp.*, *Pyrenophora tritici* et *Septoria nodorum*

Test d'ANOVA						
Variables	Source de variance	DDL	SCE	CM	Fobs	P
07 jours	F sp	3	0,000	0,000	*	*
07 jours	Pt	3	135,42	45,14	16,05	0,001***
07 jours	Sn	3	1118,8	372,9	26,02	0,000***

Les Figures 12, 13 et 14 présentent les diamètres de croissance en fonction du temps d'incubation. Au fur et à mesure que le temps d'incubation augmente, la vitesse de croissance mycélienne est considérable. Elle est supérieure à 2 mm/jour. Il est distingué qu'elle dépasse 5 mm/jour pour *Fusarium sp.* Ces mycètes se caractérisent par des vitesses de croissances rapides sur ce milieu. Ce dernier garantit la croissance des champignons, la différenciation et la récupération de faibles échantillons.

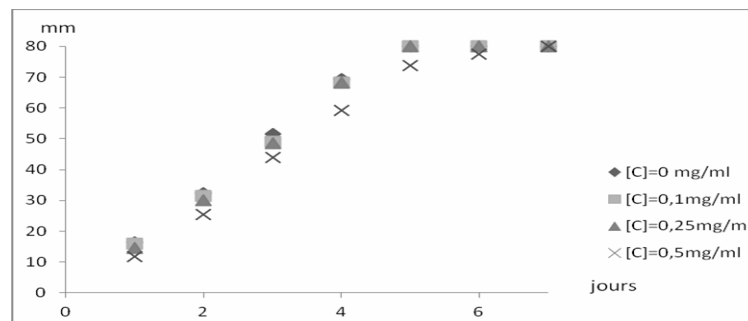


Figure 12. Diamètres de croissance de *Fusarium sp.* soumis à différentes concentrations d'oxytétracycline par rapport au temps d'incubation

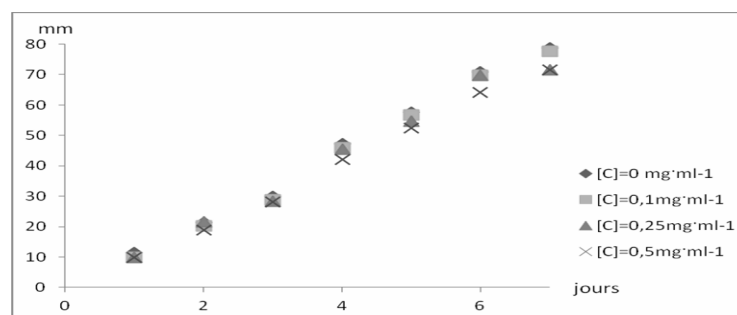


Figure 13. Diamètres de croissance de *Pyrenophora tritici* soumis à différentes concentrations d'oxytétracycline par rapport au temps d'incubation

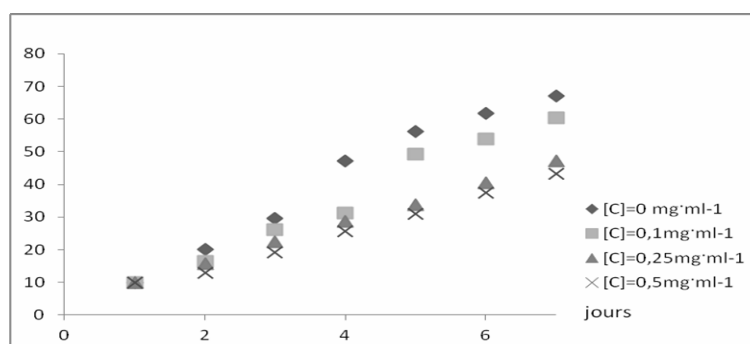


Figure 14. Diamètres de croissance de *Septoria nodorum* soumis à différentes concentrations d'oxytétracycline par rapport au temps d'incubation

Les diamètres de croissance correspondant à $0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ et $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ d'oxytétracycline sont désignés dans le Tableau 5. Selon le test de Tukey, les deux groupes dépendant ayant rapport avec *Pyrenophora tritici* sont: $78,83 \text{ mm}$ pour $0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ et $77,6 \text{ mm}$ pour $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivement $71,66 \text{ mm}$ pour $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ et $71,50 \text{ mm}$ pour $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Ceux de *Septoria nodorum* sont: $67,16 \text{ mm}$ pour $0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ et $60,33 \text{ mm}$ pour $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ et respectivement $47,16 \text{ mm}$ pour $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ et $43,33 \text{ mm}$ pour $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Il y a 4 groupes indépendants pour *Fusarium sp.* Les valeurs moyennes de l'élément variable pris en compte pour expliquer le déploiement et leurs moyennes sont identiques. Elles sont de 80 mm .

Tableau 5. Groupes des diamètres de croissance des champignons par rapport aux différentes concentrations d'oxytétracycline

Test Tukey						
Variables	Source de variance	Moyennes des concentrations				Nombre des groupes
07 jours	F sp	4	3	2	1	04
		<u>8,00E+01</u>	<u>8,00E+01</u>	<u>8,00E+01</u>	<u>8,00E+01</u>	
07 jours	Pt	4	3	2	1	02
		<u>71,50</u>	<u>71,66</u>	<u>77,6</u>	<u>78,83</u>	
07 jours	Sn	4	3	2	1	02
		43,33	47,16	60,33	67,16	

Dans le Tableau 6 il est signalé que chacune des concentrations $0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ et $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ agit différemment sur la propagation des agents phytopathogènes examinés.

Tableau 6. Comparaison de l'influence de chaque concentration d'oxytétracycline sur le développement des différentes souches fongiques *Fusarium sp.*, *Pyrenophora tritici* et *Septoria nodorum*

Test d'ANOVA					
Variables	DDL	SCE	CM	F _{obs}	P
[C] $\gamma_i = 0,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	2	302,17	151,08	12,98	0,007**
[C] $\gamma_i = 0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	2	692,67	346,33	83,68	0,000***
[C] $\gamma_i = 0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	2	1747,72	873,86	294,01	0,000***
[C] $\gamma_i = 0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	2	2210,1	1105,0	268,79	0,000***

Au niveau du Tableau 7 il est précisé que le groupe relatif à *Fusarium sp* et *Pyrenophora tritici* est 80 mm pour 0 mg·mL⁻¹ et respectivement 78,8 mm pour 0 mg·mL⁻¹. Dans les mêmes conditions que précédemment, 67,2 mm formant une classe est l'évolution notée pour *Septoria nodorum*. Les dimensions 80 mm et 77,7 mm sont l'une après l'autre relevée à 0,1 mg·mL⁻¹ pour *Fusarium sp* et *Pyrenophora tritici*. Elles forment un groupe. La même constatation est faite pour la mesure 60,3 mm mentionnée pour *Septoria nodorum*. Pour les trois champignons, il est différencié trois groupes indépendants à 0,25 mg·mL⁻¹ comme à 0,5 mg·mL⁻¹. Les grandeurs moyennes du paramètre définissant le développement de *Fusarium sp* comparant chaque groupe par rapport à 0,25 mg·mL⁻¹ et 0,5 mg·mL⁻¹ sont égales à leurs moyennes 80 mm.

Tableau 7. Groupes des diamètres de croissance des champignons *Fusarium sp*, *Pyrenophora tritici* et *Septoria nodorum* par rapport à chaque concentration d'oxytétracycline

Test Tukey				
Variables	Moyennes des diamètres			Nombre des groupes
[C] _{7j} = 0,0 mg·mL ⁻¹	2	3	1	02
	<u>67,2</u>	<u>78,8</u>	<u>80,0</u>	
[C] _{7j} = 0,1 mg·mL ⁻¹	2	3	1	02
	<u>60,3</u>	<u>77,7</u>	<u>80,0</u>	
[C] _{7j} = 0,25 mg·mL ⁻¹	2	3	1	03
	<u>47,2</u>	<u>71,7</u>	<u>80,0</u>	
[C] _{7j} = 0,5 mg·mL ⁻¹	2	3	1	03
	43,3	71,5	80,0	

CONCLUSIONS

Dans la farine obtenue de la graine de la châtaigne d'eau *Trapa natans L.* se développant au niveau du lac Oubeïra d'El-kala, le taux de protéines totales est 6,97±0,2 %. L'amidon est le composé le plus important. Il a une proportion de 59,33±0,6 % dont 70 % et 30 % sont de l'amylose et de l'amylopectine. Les sucres totaux et réducteurs sont de 5,32±0,6 % et 1,23±0,3 % respectivement. Les lipides constituent 3,15±0,05 %. Les vitamines C, E et A représentent consécutivement 4,56±0,5 mg/100 g, 0,26±0,04 mg/100 g et 3,66±0,4 UI·g⁻¹. Les cendres sont considérables. Elles sont évaluées à 2,93±0,06 %. Les quantités de fer, zinc, cuivre, manganèse, chrome et cadmium sont consécutivement 31,05 ppm, 21,85 ppm, 6,18 ppm, 7,86 ppm, 4,04 ppm et 0,14 ppm. Le fer et le zinc sont les principaux éléments minéraux. Les différents types d'acides gras identifiés après l'hydrolyse de la matière grasse extraite sont l'acide myristique (C14:0), l'acide palmitique (C16:0), l'acide stéarique (C18:0), l'acide arachidique (C20:0), l'acide palmitoléique (C16:1), l'acide oléique (C18:1), l'acide élaidique (C18:1 *trans* 9), l'acide linoléique (C18:2), l'acide octadécatriénoïque (C18:3), l'acide dihomog- γ -linolénique (C20:3), l'acide undécanoïque (C11:0), l'acide tridecanoïque (C13:0), l'acide pentadécanoïque (C15:0), l'acide margarique (C17:0) et l'acide tricosanoïque (C23:0). De la gélose nutritive préparée, le milieu de culture est de bonne qualité. Il est stérile. Sa transparence parfaite permet de tout déceler. En absence d'oxytétracycline, les souches bactériennes et

fongiques se développent. En présence de l'antibiotique à 0,25 mg·mL⁻¹ et 0,5 mg·mL⁻¹ les bactéries Gram⁺ et Gram⁻ sont totalement inhibées alors que les champignons évoluent. L'isolement de *Fusarium sp*, *Pyrenophora tritici* et *Septoria nodorum* est possible. Ces mycètes se caractérisent par des vitesses de croissances mycéliennes rapides. L'analyse statistique révèle l'existence d'une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) entre les effets des concentrations distinctes du bactéricide sur le déploiement de *Pyrenophora tritici* et *Septoria nodorum*. Il y a aucune influence de l'antibactérien à 0,1 mg·mL⁻¹, 0,25 mg·mL⁻¹ et 0,5 mg·mL⁻¹ sur la croissance de *Fusarium sp*.

REFERENCES

1. Takano, A., Kadono, Y.: Allozyme variations and classification of *Trapa* (Trapaceae) in Japan, *Aquatic Botany*, **2005**, 83 (2), 108-118;
2. Groth, A.T., Lovett-Doust, L., Lovett-Doust, J.: Population density and module demography in *Trapa natans* (Trapaceae), an annual, clonal aquatic macrophyte, *American Journal of Botany*, **1996**, 83 (11), 1406-1415;
3. Anjaria, J., Parabia, M., Dwivedi, S.: *Ethnoveterinary Heritage Indian Ethnoveterinary Medicine - an Overview*, Ahmedabad, India, Pathik Enterprise, **2002**, 223;
4. Khare, C.P.: *Indian Medicinal Plants, an Illustrated Dictionary*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2007**, 667;
5. Parekh, J., Chanda, S.: In vitro antimicrobial activity of *Trapa natans* L. fruit rind extracted in different solvents, *African Journal of Biotechnology*, **2007**, 6 (6), 766-770;
6. Saraf, S., Ashawat, M.S., Saraf, S.: Flavonoids, a nutritional protection against oxidative and UV induced cellular damages, *Pharmacognosy. Reviews.*, **2007**, 1 (1), 30-40;
7. Parekh, J., Chanda, S.: In vitro antifungal activity of methanol extracts of some Indian medicinal plants against pathogenic yeast and moulds, *African Journal of Biotechnology*, **2008**, 7 (23), 4349-4353;
8. Agrahari, A.K., Khaliqzama, M., Panda, S.K.: Evaluation of analgesic activity of methanolic extract of *Trapa natans* L. var. *Bispinosa roxb.* Roots, *Journal of Current Pharmaceutical Research*, **2010**, 1, 1-8;
9. Panda, S.K., Khaliqzama, K., Agrahari, A.K.: Evaluation of psychopharmacological activity of methanolic extract of *Trapa natans* L. var. *Bispinosa Roxb.* Roots, *Advances in Pharmacology and Toxicology*, **2010**, 11, 71-76;
10. Das, P.K., Bhattacharya, S., Pandey, J.N., Biswas, M.: Antidiabetic Activity of *Trapa natans* Fruit Peel Extract Against Streptozotocin Induced Diabetic Rats, *Global Journal of Pharmacology*, **2011**, 5 (3), 186-190;
11. Patel, A.S., Patel, N.C., Shah, M.H., Shah, V.N.: Evaluation of anti inflammatory activity of fruits of *Trapa natans* linn, *International journal of pharmaceutical research and development (IJPRD)*, **2011**, 3 (6), 97-102;
12. Kalita, P., Mukhopadhyay, P., K., Mukherjee, A.K.: Evaluation of the nutritional quality of four unexplored aquatic weeds from northeast India for the formulation of cost-effective fish feeds, *Food Chemistry*, **2007**, 103 (1), 204-209;
13. Puste, AM.: *Agronomic Management of Wetland Crops*, Kalyani Publishers. Ludhiana, India, **2004**;
14. Lee, B.Y., Hwang, J.B.: Some component analysis for Chinese water chestnut processing, *Korean Journal of Food Science and Technology*, **1998**, 30 (3), 717-720;
15. Gani, A., Haq, S.S., Masoodi, F.A., Broadway, A.A., Gani, A.: Physico-chemical, Morphological and Pasting Properties of Starches Extracted from Water Chestnuts (*Trapa natans*) from Three Lakes of Kashmir, India, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **2010**, 53, (3), 731-740;
16. Bhatiwala, S., Jain, A., Chaudhary, J.: *Trapa natans* (water chestnut): an overview. *International Research Journal of Pharmacy*, **2012**, 3 (6), 31-33;

17. Gagan, D.S., Sukhcharn, S., Navdeep, J., Amrinder Bawa, S., Dharmesh, C.S.: Physico-chemical characteristics and sensory quality of Singhara (*Trapa natans* L.): An Indian water chestnut under commercial and industrial storage conditions, *African Journal of Food Science*, **2010**, 4 (11), 693-702;
18. Perry, J., Staley, J.T., Lory, S.: *Microbiologie: Culture des microorganismes*, Dunod, Paris, **2004**, 114-115;
19. Guiraud, J.P.: *Microbiologie alimentaire : milieux et techniques générales de culture*, Dunod, Paris, **2003**, 178-180;
20. Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D. Willey, J.M., Sherwood, L.M., Woolverton, C.J.: *Microbiologie: La nutrition, la croissance et le contrôle des microorganismes*, 3^{ème} édition, De Boeck, Bruxelles, **2010**, 101-164;
21. Lambin, S., German, A.: *Précis de microbiologie*, Tome 1, Ed. Masson et Cie, Paris, **1969**, 62;
22. <http://www.youscribe.com/catalogue/ressources-pedagogiques/education/cours/plan-du-cours-1392633>, Les milieux de cultures, élément de bioprocédé, accessed octobre 06, 2015;
23. Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L.: *Introduction à la microbiologie: La croissance microbienne*, Saint-Laurent (Québec), Éd. du Renouveau Pédagogique, **2003**, 183-185;
24. Singleton, P.: *Bactériologie: pour la médecine, la biologie et les biotechnologies*, cours, 6^e édition, éditions Dunod, **2005**, 418;
25. A.O.A.C., Official methods of analysis (4th edition), *Association of official analysis chemists*, Washington, **1984**, 152-164;
26. Jarvis, C.E., Walker, J.R.L.: Simultaneous, rapid, spectrophotometric determination of total starch, amylose and amylopectin, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **1993**, 63, 53-57;
27. Fox, J.D., Robyt, J.F.: Miniaturization of three carbohydrate analyses using a microsample plate reader, *Analytical Biochemistry*, **1991**, 195, 93-96;
28. ISO 659/1998, *Graines oléagineuses détermination de la teneur en huile*, International organisation for standardisation (ISO), Genève;
29. Sadasivam, S., Manickam, A.: *Biochemical methods*, 2nd edition, New Delhi, New Age International (P) Limited, Publishers, **1996**, 184-186;
30. Guil-Guerrero, J.L., Rebolloso-Fuentes, M.M.: Nutrient composition and antioxidant activity of eight tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties, *Journal of Food Composition and Analysis*, **2009**, 22, 123-129;
31. Rougereau, A.: Technique d'analyse et de contrôle de la qualité dans l'industrie agro-alimentaire, TEC & DOC; Lavoisier éd., **1981**, 5, 246-247;
32. AFNOR. A.E.C 619/1978, *Dosage direct de la vitamine A dans les premix et condiments minéraux vitamines*;
33. Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J.P., Guevere, M.: Differentiation of French virgin oliveoil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics, *Food Chemistry*, **2006**, 97, 382-393;
34. C.E n° 796/2002, *Caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive*.
35. Southon, S., Gee, J.M., Johnson, I.T.: Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat, *British Journal of Nutrition*, **1984**, 52, 371-380;
36. L.N.P.V : Toutes céréales, détection et identification des espèces de *Fusarium spp.* et *Microdochium nivale* sur grains de céréales par isolement mycologique semi sélectif et étude microbiologique, Réf. MH-03.16, version B. le 07/03/2008;
37. Minitab (X, 2006). Introduction à minitab, version 16, pour Windows;
38. Yang, C.C., Chang, S.M., Sung, S.C., Lii, C.Y.: Studies on the starches in Taiwan 2. Taro, water chestnut (*Trapa*) and Job's tears, *Food Science*, (Taiwan), **1978**, 5, 73-87;
39. De Silva, S.S., Anderson, T.A.: *Fish nutrition in aquaculture*, London, Chapman & Hall, Thomson Science, **1995**;
40. Mukherjee, A.K., Kalita, P., Unni, B.G., Wann, S.B., Saikia, D., Mukhopadhyay, P.K.: Fatty acid composition of four potential aquatic weeds and their possible use as fish-feed neutraceuticals, *Food Chemistry*, **2010**, 123, 1252-1254;
41. Bode, L., Beermann, C., Mank, M., Kohn, G., Boehm, G.: Human and bovine milk gangliosides differ in their fatty acid composition, *Journal of Nutrition*, **2004**, 134 (11), 3016-3020;
42. O'Neill, W., McKee, S., Clarke, A.: Flaxseed (*Linum usitatissimum*) supplementation associated with reduced skin test lesional area in horses with Culicoides hypersensitivity, *Canadian Journal of Veterinary Research*, **2002**, 66 (4), 272-277;

43. Vlaeminck, B., Fievez, V., Van Laar, H., Demeyer, D.: Rumen odd and branched chain fatty acids in relation to in vitro rumen volatile fatty acid productions and dietary characteristics of incubated substrates, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **2004**, **88**, 401-411;
44. Smedman, A., Gustafsson, I.B., Berglund, L., Bengt, V.: Pentadecanoic acid in serum as a marker for intake of milk fat: relations between intake of milk fat and metabolic risk factors, *American Journal of Clinical Nutrition*, **1999**, **69**, 22-29;
45. Skeaff, C.M., Hodson, L., McKenzie, J.E.: Dietary-Induced Changes in Fatty Acid Composition of Human Plasma, Platelet, and Erythrocyte Lipids Follow a Similar Time Course, *The Journal of Nutrition*, **2006**, **136** (3), 565-569;
46. Shantha, N.C., Ackman, R.G.: Nervonic acid versus tricosanoic acid as internal standards in quantitative gas chromatographic analyses of fish oil longer-chain n-3 polyunsaturated fatty acid methyl esters, *Journal of Chromatography*, **1990**, **533**, 1-10;
47. Peres, N.T.A., Cursino-Santos, J.R., Rossi, A., Martinez-Rossi, N.M.: In vitro susceptibility to antimycotic drug undecanoic acid, a medium-chain fatty acid, is nutrient-dependent in the dermatophyte *Trichophyton rubrum*, *World Journal of Microbiology and Biotechnology's*, **2011**, **27**, 1719-1723.