

TROPICULTURA

2003 Vol. 21 N° 1

Trimestriel (janvier – février – mars)

Driemaandelijks (januari – februari – maart)

Se publica por ano (en enero – febrero – marzo)



Elevage laitier urbain à Ouagadougou (Burkina Faso). Crédit: Eric Thys, 2000.

Editeur responsable / Verantwoordelijke uitgever:

J. Vercruyse

Square du Bastion 1A Bolwerksquare
1050 Bruxelles / Brussel

Avec les soutiens de la

Direction générale de la Coopération au Développement DGCD
www.dgdc.be

Service public Fédéral Affaires étrangères, Commerce extérieur
et Coopération au Développement
www.diplobel.fgov.be

et la Région Bruxelles Capitale

Met de steunen van

Directie-Generaal Ontwikkelingssamenwerking DGOS
www.dgdc.be

Federale Overheidsdienst Buitenlandse Zaken, Buitenlandse Handel
en Ontwikkelingssamenwerking
www.diplobel.fgov.be

en van het Brussels Gewest

DGCD

DGOS

BUREAU DE DEPOT - AFGIFTEKANTOOR
BRUXELLES X / BRUSSEL X

SOMMAIRE / INHOUD / SUMARIO

EDITORIAL/EDITORIAAL/EDITORIAAL

La prise en compte du bien-être animal dans les pays à faibles revenus du Sud: une utopie?

In acht nemen van het begrip dierenwelzijn in landen met lage inkomens in het Zuiden: een utopie?

La toma en cuenta del bienestar animal en los países de bajos ingresos del Sur: ¿una utopía?

Promotion CIPSAT 2002-2003..... 1

ARTICLES ORIGINAUX/OORSPRONKELIJKE ARTIKELS/ARTICULOS ORIGINALES

Bactéries lactiques de la pâte fermentée de maïs au Congo

Melkzuurbacteriën in gefermenteerde maïsdeeg in Congo

Bacterias lácticas de la masa fermentada del maíz en el Congo

D. Louembé, S. Keléké, S.C. Kobaliwa & J.P. Nzouzi..... 3

Contribution à l'étude de l'écologie et de la biologie des homoptères ravageurs des arbres fruitiers et autres plantes: II. - Influence de la plante-hôte et de sa phénologie sur l'évolution des infestations d'*Aleurodicus dispersus* Russell (Hom.: Aleyrodidae) en République du Congo

Bijdrage tot de studie van de ecologie en de biologie van fruitbomen en andere planten vernielende homopteren. II. – Invloed van de gastplant en haar fenologie op de evolutie van de infestaties met *Aleurodicus dispersus* Russell (Hom.: Aleyrodidae) in de Republiek Congo

Contribución al estudio de la eco-biología de las Homoptera, plagas de los árboles frutales y otras plantas. II. – Influencia de la planta huésped y su fenología sobre la evolución de las infestaciones de *Aleurodicus dispersus* Russell (Hom.: Aleyrodidae) en República de Congo

A. Kiyindou 10

Exploitation de la variabilité somaclonale pour la recherche d'œillet (*Dianthus caryophyllus* L.) tolérant à la salinité

Gebruik van de somaclonale variabiliteit in het zoeken naar anjers (*Dianthus caryophyllus* L.) die zoutbelasting verdragen

Explotación de la variabilidad somaclonal para la investigación del clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) tolerante a la salinidad

F. Haouala, C. Hannachi & E. Zid 16

Nodulation Effectivity, N-Accumulation and Yield of Soybean (*Glycine max*) in a Clayloam Soil Treated with Pre- and Post-Emergence Herbicides

Etude de la nodulation, de la fixation de l'azote et du rendement du soja (*Glycine max*) cultivé sur un sol limono-argileux traité avec des herbicides en pré- et post-levée

Effect van nodulatie, stikstofbinding en rendement van soja (*Glycine max*) op klei-leemgrond behandeld met onkruidverdelgers voor- en na-opkomst-herbiciden

Efecto de la nodulación, fijación del nitrógeno y rendimiento de la soya (*Glycine max*) cultivado en un suelo franco arcilloso con herbicidas de pre y post emergencia

M.A.N. Anikwe, C.I. Okonkwo & C.N. Mbah 22

Microbial Biomass Changes during Decomposition of Plant Residues in a Lixisol

Variations de la biomasse microbienne au cours de la décomposition des résidus végétaux dans un lixisol

Veranderingen in microbiële biomassa tijdens de afbraak van gewasresten in een lixisol

Variaciones de la biomasa microbiana en el transcurso de la descomposición de residuos vegetales en un lixisol

S.K. Kachaka, R. Merckx & K. Vlassak 28

Performances zootechniques comparées de Rotifères d'eau douce *Brachionus calyciflorus* et de nauplii d'*Artemia salina* chez les larves de la perche fluviatile *Perca fluviatilis*

Vergelijking van de zootechnische prestaties van zoetwater raderdiertjes *Brachionus calyciflorus* en van nauplii van *Artemia salina* bij larven van de rivierbaars *Perca fluviatilis*

Características y rendimientos zootécnicos comparados del rotífero *Brachionus calyciflorus* y del nauplii de *Artemia* en la larva de la *Perca fluviatilis*

E.D. Fiogbé, P. Kestemont & J.-C. Micha 31

Quantitative Effects of Early and Late Blights on Tomato Yields in Cameroon

Effets quantitatifs de l'alternariose et du mildiou sur le rendement de la tomate au Cameroun

Kwantitatieve effecten van alternariose en meeldauw op het rendement van de tomaat in Kameroen

Efectos cuantitativos de la alternaria y del tizón tardío sobre el rendimiento de la tomate en Cameroun

D.A. Fontem 36

Evaluation of Dual-purpose Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Varieties for Grain and Fodder Production at Shika, Nigeria

Evaluation de la performance des variétés de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) à produire à la fois des graines et du fourrage à Shika au Nigeria

Evaluatie van niebe (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) variëteiten geschikt voor zaad en ruwvoeder productie in Shika, Nigeria

Evaluación de las características y los rendimientos de caupí (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) para la producción de granos y forraje en Shika, Nigeria

A.T. Omokanye, O.S. Onifade, J.T. Amodu, R.O. Balogun & M.S. Kallah 42

DANS LES UNIVERSITES.../UIT DE UNIVERSITEITEN.../ EN LAS UNIVERSIDADES...

Use of the Wild Australian Species *Gossypium sturtianum* J.H. Willis and *G. australe* F. Muell to Improve *G. hirsutum* L.

Utilisation des espèces sauvages australiennes *Gossypium sturtianum* J.H. Willis et *G. australe* F. Muell. pour l'amélioration du cotonnier cultivé *G. hirsutum* L.

Gebruik van wilde soorten *Gossypium sturtianum* J.H. Willis et *G. australe* F. Muell. uit Australië voor de verbetering van de gekweekte *G. hirsutum* L.

Utilización de las especies silvestres australianas *Gossypium sturtianum* J.H. Willis y *G. australe* F. Muell. para el mejoramiento de la planta de algodón cultivada *G. hirsutum* L.

L. Ahoton 47

Sustainable Development of Integrated Rice-fish Polyculture Systems in the Mekong Delta of Vietnam

Développement durable de systèmes intégrés en rizipisciculture dans le delta du Mékong au Vietnam

Duurzame ontwikkeling van geïntegreerde rijst-visteelt systemen in de Mekong delta in Vietnam

Desarrollo sostenible del sistema integrado en piscicultura en arrozales en el delta del Mekong en Vietnam

Duong Nhut Long 48

EDITORIAL

La prise en compte du bien-être animal dans les pays à faibles revenus du Sud: une utopie?

La survenue en début de ce millénaire d'épizooties graves dans les pays développés est pour certaines ONG comme GAIA (Global Action in the Interest of Animals) la résultante d'une politique d'intensification à outrance des productions animales, qui est synonyme d'effets négatifs sur l'environnement et sur les ressources naturelles, de risque pour la santé publique et d'atrocités en terme de souffrances animales. L'épizootie de fièvre aphteuse et la découverte d'un nombre croissant de cas d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) en Europe ont également suscité des préoccupations réelles au niveau du commerce international du bétail et des produits d'origine animale et ont nécessité le renforcement des législations existantes et la mise en place de nouvelles. L'Office International des Epizooties (OIE) a élaboré une série de directives claires quant aux restrictions commerciales, aux contrôles internes et aux mesures nécessaires pour empêcher la propagation de la fièvre aphteuse. Ce code zoosanitaire international est complété par «l'accord SPS» de l'Organisation Mondiale du Commerce (OMC) qui contient des règles de procédure pour l'arrêt et l'application de mesures sanitaires et phytosanitaires (standards SPS).

Dans les pays en développement, les bailleurs de fonds bilatéraux et multilatéraux subordonnent de plus en plus leur financement dans le secteur de l'élevage à la prise en compte du volet bien-être animal. Dans ce cadre, les participants au CIPSAT¹ (promotion 2002-2003) issus de trois continents (Afrique, Amérique latine et Europe) ont mis à profit leur pluridisciplinarité pour mener une réflexion sous forme de questionnement: la prise en compte du bien-être animal dans les pays à faibles revenus du Sud est-elle possible ou utopique?

Sous les tropiques, alors que décideurs, bailleurs de fonds, producteurs, chercheurs, intermédiaires et consommateurs n'arrivent pas encore à s'accorder sur la définition du concept de bien-être animal, force est de constater que la tradition pastorale lui accorde depuis longtemps une place de choix. C'est ainsi qu'elle recommande de protéger l'animal contre tout ce qui pique, tout ce qui mord, tout ce qui griffe et tout ce qui effraie. De là, viennent les feux de bois fumant pendant la nuit (pour éloigner moustiques et prédateurs), la présence du berger au parc durant la nuit pour rassurer les animaux, le choix de l'emplacement de ces parcs et bien d'autres préceptes impossibles à citer tous. Le refus de certaines communautés d'éleveurs d'accepter le financement extérieur pour protéger des parcelles fourragères par des fils de fer barbelés pouvant blesser les animaux montre que le bien-être animal est une réalité dans ce milieu. Pour l'éleveur traditionnel, la notion du bien-être se résume en cinq points: satisfaire les besoins nutritionnels et physiologiques des animaux; leur assurer un abri confortable; éviter les maladies; éviter tout état de stress social et des manipulations stressantes. Il développe alors dans la limite de ses connaissances une science du bien-être animal qui a fait ses preuves.

D'autre part, peut-on affirmer que le pouvoir public et les autres intervenants de la filière prennent suffisamment le bien-être animal en compte et que tout est pour le mieux dans le meilleur des mondes? La réponse est non, bien sûr, et la tâche immense: amélioration des conditions zoosanitaires et de transport; éradication de la maltraitance lors du chargement et déchargement et saignée par étourdissement. Les réponses passent par des campagnes de vaccination, l'intensification de la recherche, le rapprochement des abattoirs le plus près possible des centres de production et l'amélioration des conditions d'hygiène dans ces abattoirs. Mais, il reste clair que les coûts supplémentaires seront supportés par un consommateur qui voit son pouvoir d'achat diminuer graduellement.

La notion de bien-être animal soulève un certain nombre d'interrogations. Ainsi, nombreux sont ceux qui se demandent comment intensifier la recherche sans utiliser des animaux de laboratoire? Ceux-ci leurs apparaissent nécessaires et incontournables pour le développement de nouveaux vaccins et dans le suivi de la qualité des produits, car des vies humaines sont en jeu. Un défi supplémentaire est d'éradiquer les zoonoses devenues endémiques sous les tropiques. Le développement en cours de méthodes alternatives *in vitro* permettrait, néanmoins, de remplacer totalement ou partiellement l'utilisation des animaux d'expérience. Le raffinement de ces méthodes pourra garantir à de meilleures conditions sanitaires et le contrôle de la douleur chez les animaux de laboratoire. C'est l'application du principe de Russel et Rex, dit principe des trois R (Remplacement, Réduction, Raffinement).

Un autre point très délicat est l'aspect philosophique et religieux lié à la relation homme-animal et au sentiment existant que ce dernier est l'inférieur du premier. La Bible, commune aux trois grandes religions monothéistes, a souvent été interprétée dans ce sens, principalement sur base de la Génèse (1, 28): ... et Dieu les bénit et Dieu

¹ Cours International de Production et de Santé Animales Tropicales de l'Institut de Médecine Tropicale (IMT).

leur dit: «Fructifiez, multipliez, emplissez la terre et soumettez la, et maîtrisez les poissons de la mer et les volatiles des cieux et tout vivant qui se meut sur la terre». Ceci a induit les interdits alimentaires et les abattages selon le rite propre à certaines religions. Par ailleurs, le paradigme d'«animal-machine» théorisé par Descartes au XVII^e siècle a prévalu en Occident loin dans le XX^e siècle. Progressivement, la notion de «communauté de ceux qui souffrent» a été introduite et est à la base de tous les mouvements actuels prônant le bien-être animal. Mais, comme dit plus haut, cette notion de bien-être a continué à exister parmi les populations traditionnelles d'Afrique et d'ailleurs, où le contact avec l'animal est resté plus «pur», allant parfois jusqu'à une symbiose ou une identification importante.

Néanmoins, la prise de conscience en matière du bien-être animal fait craindre à certains que ceci supprime les intérêts vitaux des populations des pays tropicaux. L'inquiétude provient aussi du fait que la confusion entre le bien-être des animaux de compagnie (surtout importants dans les pays à hauts revenus du Nord) et celui des animaux d'élevage risque d'hypothéquer la rentabilité de cette dernière activité et d'autres activités socio-économiques connexes qui ont jusqu'à présent assuré la sécurité alimentaire de l'homme. Ces appréhensions semblent partagées par les consommateurs, bouchers et éleveurs dans le Sud, qui estiment que le renchérissement inévitable du coût de la viande par l'application de certaines règles sur le transport des animaux, pourrait aggraver le problème de déficit en protéines pour les populations déjà handicapées par un faible pouvoir d'achat. Appliquée au convoyage à pieds nécessairement stressant pour des animaux destinés à l'abattage, une réglementation basée sur les normes internationales actuelles risque de produire des conséquences indirectes, inattendues et fâcheuses.

Nous sommes cependant d'avis que la notion de bien-être animal appliquée de façon adaptée ne peut que leur être profitable. En effet, un animal en bonne santé, bien entretenu dans un environnement convenable ne peut que bien produire. S'il est, en plus, convenablement transporté vers les abattoirs, sa viande sera de bonne qualité et les consommateurs ruraux et urbains bénéficieront des produits de haute valeur organoleptique. L'introduction de mesures liées au bien-être animal stimulera théoriquement également les exportations et aidera le secteur à conquérir des parts de marché.

En conclusion, nous pensons que l'acceptation de la prise en compte de cette «nouvelle» notion ne pourra être un succès que si l'on tient compte de la spécificité du milieu rural des pays tropicaux et des avis et, surtout, du savoir-faire traditionnel des éleveurs et des bouchers. L'application des nouvelles mesures devra être progressive. Nous demandons donc aux bailleurs de fonds d'être conscients de la réalité du terrain et de ses nuances et d'en tenir compte dans le financement du secteur de telle façon à donner du temps à l'intégration du concept dans les mœurs. Chacun d'entre nous, mettra, dans son pays d'origine, ses connaissances au service d'une réflexion locale à cette intégration.

Promotion CIPSAT 2002-2003

ARTICLES ORIGINAUX

OORSPRONKELIJKE ARTIKELS

ORIGINAL ARTICLES

ARTICULOS ORIGINALES

Bactéries lactiques de la pâte fermentée de maïs au Congo

D. Louembé, S. Kéléké, S.C. Kobawila & J.P. Nzouzi

Keywords: Fermentation- Maize- Dough- Lactic acid bacteria- Yeasts

Résumé

Cent trente et une souches de bactéries lactiques ont été isolées et identifiées. Parmi les bactéries lactiques présentes dans le poto-poto, les genres Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc et Pediococcus ont été mis en évidence dans la pâte de maïs fermentée. Les Lactobacillus représentent le genre dominant; les Leuconostocs disparaissent après 24 heures de fermentation sans nul doute à cause du pH devenu trop acide.

Lactobacillus plantarum est l'espèce majoritaire (27%). Les autres espèces du genre Lactobacillus sont Lactobacillus pentosus (7,6%), Lactobacillus cellobiosus (8,4%), Lactobacillus brevis (10%). Le genre Leuconostoc constitue le deuxième groupe de la flore lactique (28%) avec Leuconostoc mesenteroïdes (19%) et Leuconostoc citreum (9%). Les autres espèces sont: Lactococcus lactis sp. lactis (7,6%), Pediococcus acidilactici (10%).

Ces résultats sont comparables à ceux observés dans d'autres produits fermentés à base de maïs comme l'uji et l'ogi. Cependant, des différences sont constatées avec le mawé béninois.

En plus des bactéries lactiques, les levures sont également présentes; leur nombre augmente parallèlement à l'augmentation du pH du milieu. Cette association, bactéries lactiques et levures, est responsable du goût et de l'arôme caractéristique et agréable des aliments fermentés.

Du point de vue quantitatif, les Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc et les levures sont beaucoup plus nombreux dans le poto-poto fait à base des grains de maïs germés que non germés. Cette différence de croissance des microorganismes pourrait s'expliquer par la concentration des sucres simples libérés lors de l'hydrolyse partielle de l'amidon pendant la germination et facilement utilisable par les microorganismes.

Summary

Lactic Acid Bacteria Involved in the Processing of Poto-Poto, a Fermented Maize Dough Congolese

Lactic acid bacteria and yeast involved in natural fermentation of "poto-poto" were investigated during fermentation period. The dominant micro-organisms involved in poto-poto are a mixed population of lactic acid bacteria and yeasts. The association of these two category of organisms responsible for the development of sensory qualities has been noticed in spontaneous fermentation.

From a total of 131 strains of lactic acid bacteria isolated from product, four main lactic acid bacteria genus were identified: Lactobacillus (mainly Lactobacillus plantarum, Lactobacillus pentosus, Lactobacillus cellobiosus, Lactobacillus brevis), Lactococcus (with Lactococcus lactis sp. lactis), Leuconostoc (mainly Leuconostoc mesenteroïdes, Leuconostoc citreum) and Pediococcus (with Pediococcus acidilactici).

Lactobacillus constituted the predominant genus. Leuconostoc were only isolated at the early stage of fermentation, confirming the fact that they are initiating flora as generally reported. This presumably a result of the low pH.

The micro-organisms composition compared with ogi, uji are similar. However, some differences exist particularly with mawe, beninese traditional product.

Quantitatively, lactic acid bacteria and yeasts are more numerous in natural fermentation of germinated grains maize than non germinated grains.

Introduction

La production de la pâte fermentée de maïs par fermentation naturelle des grains préalablement trempés dans l'eau et moulus est un des procédés de transformation artisanale de maïs très courant en Afrique en général et au Congo en particulier. De nombreux travaux ont été consacrés à l'étude des microorganismes intervenant dans le processus (1, 2, 5, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 24), des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques (4, 5, 14, 19, 21, 22) et des propriétés nutritives et des possibilités d'amélioration de la technologie de production (3, 7, 18, 20, 21, 22, 23, 25, 26).

Plusieurs types de microorganismes, dont les bactéries lactiques, ont été isolés des fermentations traditionnelles du maïs. Le tableau 1 regroupe les bactéries lactiques isolées des différentes pâtes fermentées. Il en ressort que dans tous les procédés de transformation utilisés, les bactéries lactiques représentent la microflore majoritaire. Parmi ces bactéries lactiques, le genre *Lactobacillus* constitue la flore dominante du processus.

Au Congo, où la bouillie obtenue à partir de cette pâte est très utilisée comme aliment de complément du jeune enfant (26), on connaît peu de choses des différentes espèces de bactéries lactiques participant à la transformation de la farine de maïs.

Avant de déterminer la physiologie des bactéries lactiques, leur rôle dans la communauté microbienne et leurs propriétés biotechnologiques, nous avons, dans la présente étude, cherché à caractériser la microflore lactique intervenant dans le processus de fermentation.

Matériel et méthodes

Les pâtes à analyser ont été obtenues à partir de la fermentation naturelle des grains de maïs germés (GG) et non germés (GNG).

La figure 1 présente le diagramme de production artisanale de la pâte de maïs fermentée à partir des grains germés. Après un tri manuel de 5 kg de grains secs acquis dans les marchés locaux, les grains de maïs sont tamisés, lavés plusieurs fois à l'eau et placés durant 48 heures dans des tonnelets contenant de l'eau à température ambiante. Les grains réhydratés sont mis à germer durant 3 jours. Après dégermage, lavage et égouttage, les maïs germés propres sont broyés au moulin. La farine obtenue est défibrée par tamisage à l'eau à travers un tissu de mousseline. Le lait d'amidon recueilli est soumis à la décantation durant 4 heures. La pâte obtenue après décantation est ensuite laissée en fermentation spontanée pendant 72 heures à la température ambiante. Chaque préparation est faite en triple par une productrice locale agréée.

La pâte obtenue à partir des grains non germés est préparée selon la méthode classique décrite par

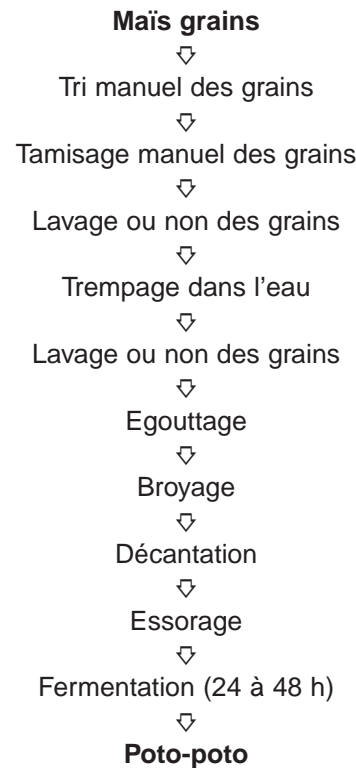


Figure 1: Procédé traditionnel de production du poto-poto à base des grains de maïs non germés

Louembé *et al.* (14). Après sélection, le bon grain est mis à tremper durant 24 heures, lavé plusieurs fois et broyé au moulin. La farine obtenue est traitée comme dans le premier cas.

Dénombrement et caractérisation des microorganismes de la pâte fermentée de maïs

Préparation des échantillons

A 0, 24, 48 et 72 heures de fermentation, 10 grammes de pâte fermentée de maïs de chaque procédé sont mélangés à 90 ml d'eau peptonée stérile. Des dilutions décimales en eau peptonée sont réalisées à partir de cette suspension mère. Les boîtes de Pétri sontensemencées avec 0,1 ml des différentes dilutions en raison de trois boîtes pour chaque dilution.

Milieux et conditions de culture

Les milieux et conditions de culture utilisées sont les suivants: – PCA (Plate Count Agar) pour la microflore mésophile totale, culture à 30 °C pendant 48 à 72 heures; – Milieu MRS-Agar (8) pH 5,5 pour les bactéries lactiques; ensemencement en double couche et incubation à 30 °C pendant 48 à 72 heures; – Milieu MRS additionné de bleu d'aniline à 2%, ensemencement en surface et incubation à 30 °C pendant 48 à 72 heures; les bactéries lactiques donnent des colonies bleues sur ce milieu; – Milieu de Mayeux *et al.* à l'acide de sodium à 1%, pH 7, ensemencement en surface et incubation à 30 °C pour les *Leuconostoc* qui donnent

Tableau 1
Les bactéries lactiques présentes des différentes pâtes de maïs

<i>Auteurs</i>	<i>Produits</i>	<i>Bactéries lactiques</i>
Christian, 1966, 1970; Nyako, 1977.	Kenkey ghanéen	<i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus</i> sp.
Banigo, 1977; Omyekwere et Akurele, 1977. A.I. Sanni, A.A. Oniludes, S.T. Ogunbanwo & S.I. Smith, 1999.	Ogi nigérien	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus casei</i>
Gatumbi et Muriru, 1977; Mbugua, 1977, 1981.	Uji kenyan	<i>Leuconostoc mesenteroide</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus cellobiosus</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Streptococcus</i> spp.
Schweigart et De Wit, 1960; Schweigart <i>et al.</i> , 1961; Schweigart et Fellinghan, 1963; Van Der Marwe <i>et al.</i> , 1964/1965; Schweigart, 1970/1971; Hesseltine, 1979.	Mahewu sud africain	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Streptococcus lactis</i>
Maria Del Carmen Wacher Rodarte, 1995.	Pozol mexicain	<i>Leuconostoc</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>Pediococcus</i> , <i>Lactococcus</i>
D. J. Hounhouigan, 1994.	Mawè béninois	<i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> (biotype cellobiosus) <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus curvatus</i> <i>Lactobacillus confusus</i> <i>Lactobacillus buchneri</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Lactobacillus salivarius</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroide</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Pediococcus acidilactici</i>

des colonies muqueuses; – Milieu de Buttiaux *et al.* modifié au lait écrémé à 10% et à l'acide à 1%, pH 7, ensemencement en surface et incubation à 30 °C pendant 24 à 72 heures pour les *Lactococcus* qui donnent des colonies présentant des plages de lyse; – Milieu PDA (Potato Dextrose Agar, Difco laboratory) au chloramphénicol (0,05 g/l) pour les levures, incubation à 30 °C pendant 24 à 72 heures.

Dénombrement de la flore lactique et des levures

Les différents microorganismes étudiés sont dénombrés après culture selon la méthode de Miles et Misra

décrite par Collins et Lyne (6): les boîtes de Pétri sont ensemencées avec 0,1 ml des différentes dilutions en raison de trois boîtes pour les dilutions choisies. Les résultats correspondent à la moyenne des nombres de colonies comptées sur chaque boîte (entre 10 et 100 colonies).

Purification et identification des bactéries lactiques

La purification des microorganismes isolés est effectuée par subculture sur MRS-Agar. Les bactéries lactiques après purification sont caractérisées selon les tests classiques incluant la coloration de Gram, obser-

vation microscopique, réaction de la catalase selon les méthodes décrites par Harrigan et McCance (9) et la capacité des isolats à utiliser les sucres a été déterminée à partir des galeries API CHL (BioMérieux).

Mesure du pH

Après 0, 24, 48 et 72 heures de fermentation, 20 grammes de pâte de maïs sont prélevés de chaque procédé, homogénéisés dans 80 ml d'eau distillée et filtrés à travers sur papier filtre Whatman GF/A. La mesure du pH du filtrat obtenu est réalisé à l'aide du pH-mètre de type HI 9321 bioblock scientific.

Résultats

Evolution de la microflore

La figure 2 présente l'évolution de la flore mésophile totale au cours de la fermentation de deux pâtes: il apparaît que la flore totale augmente de $5,0 \cdot 10^9$ U.F.C./ml à $4,0 \cdot 10^{10}$ U.F.C./ml pour les pototo-poto à grains germés et de $2,5 \cdot 10^9$ U.F.C./ml à $3,6 \cdot 10^9$ U.F.C./ml pour les pototo-poto à grains non germés en 24 heures. Après 48 heures de fermentation, cette flore diminue, elle revient à $5,0 \cdot 10^9$ U.F.C./ml pour les pototo-poto à grains germés et à $4,0 \cdot 10^8$ U.F.C./ml pour les pototo-poto à grains non germés.

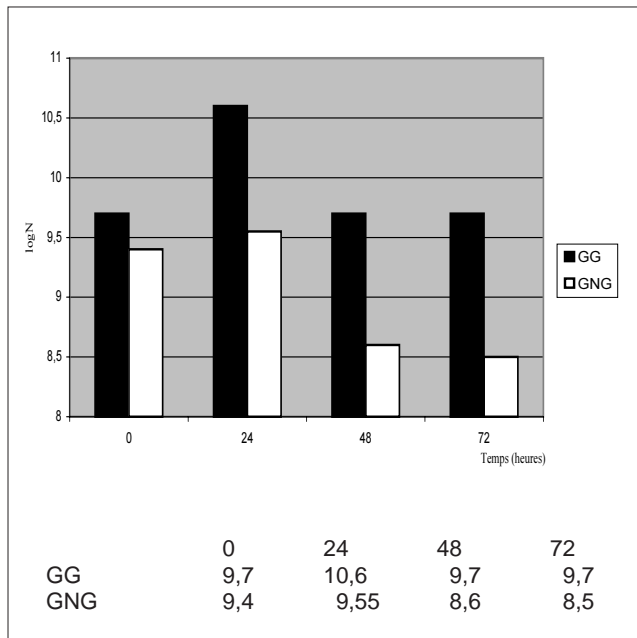


Figure 2: Evolution de la flore totale

Les bactéries lactiques (Figure 3) suivent la même évolution: les résultats donnés dans le tableau 1 montrent que la microflore lactique augmente de $1,6 \cdot 10^{10}$ U.F.C./ml à $1,3 \cdot 10^{11}$ U.F.C./ml en 48 heures et baisse à $4,0 \cdot 10^{10}$ U.F.C./ml à 72 heures dans les pototo-poto à grains germés pendant qu'elle passe de $4,0 \cdot 10^9$ U.F.C./ml à $1,8 \cdot 10^{10}$ U.F.C./ml en 48 heures et diminue ensuite à $6,3 \cdot 10^9$ U.F.C./ml à 72 heures de fermentation pour les pototo-poto à grains non germés. Les bactéries lactiques évoluent plus vite dans le pototo-poto fait à base des grains germés que dans le pototo-poto produit à base des grains non germés.

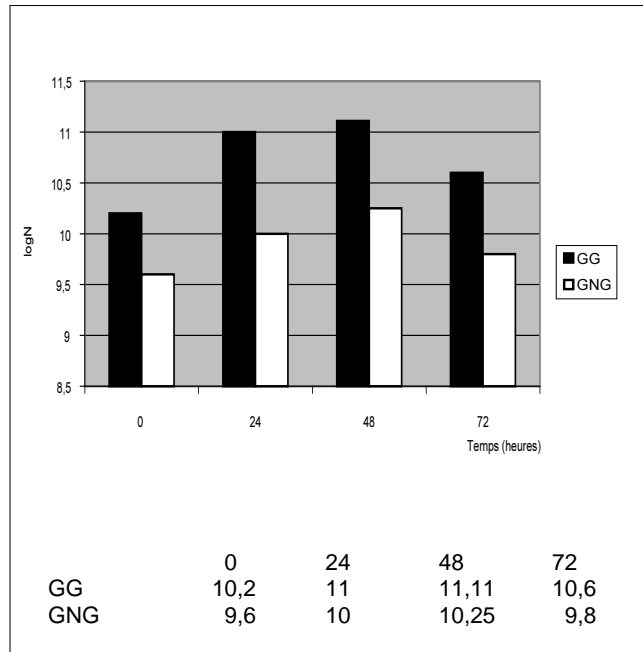


Figure 3: Evolution des bactéries lactiques totales

Les bactéries lactiques, du genre *Leuconostoc*, présentes au début de la fermentation dans les deux types de pototo-poto disparaissent totalement après 24 heures (Figure 4) pendant que les Lactocoques passent de $7,1 \cdot 10^6$ à $3,2 \cdot 10^9$ U.F.C./ml dans les pototo-

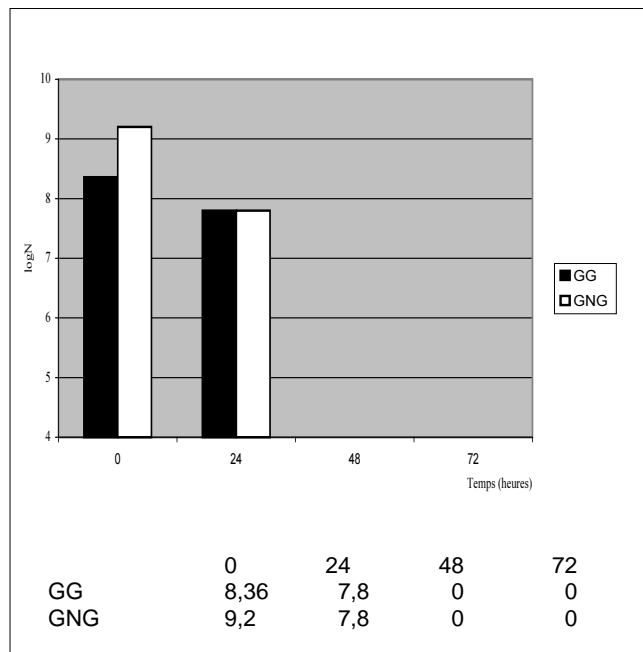


Figure 4: Evolution des Leuconostocs

pototo à grains germés avec un pic à 48 heures, et de $1,0 \cdot 10^9$ à $1,4 \cdot 10^9$ U.F.C./ml dans les pototo-poto à grains non germés (Figure 5).

Les levures présentes dès le début de la fermentation (Figure 6) croissent avec l'acidité du milieu: la population passe de $3,2 \cdot 10^6$ à $4,0 \cdot 10^9$ U.F.C./ml pour les

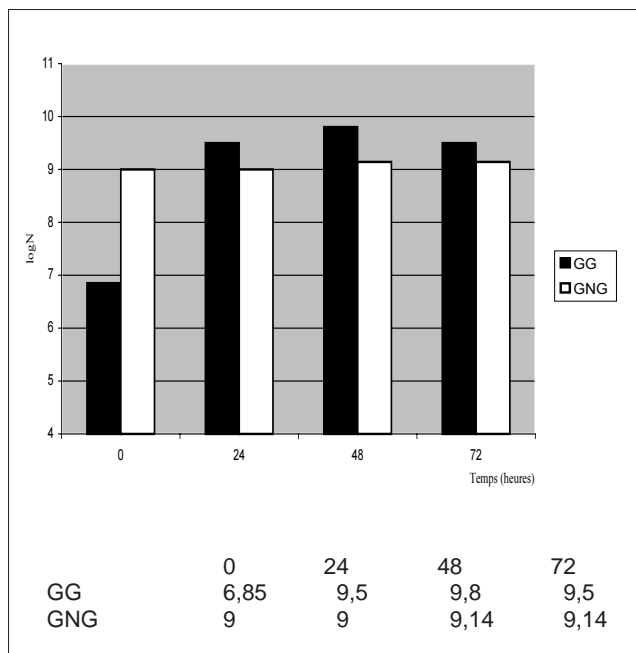


Figure 5: Evolution des Lactococcus

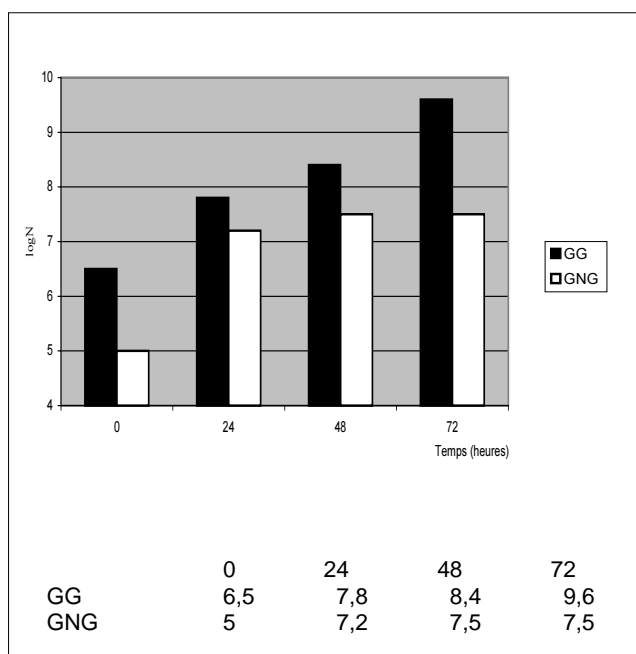


Figure 6: Evolution des levures

poto-poto à grains germés et de $1,0 \cdot 10^5$ à $3,210^7$ U.F.C./ml pour les poto-poto à grains non germés.

Identification de la microflore lactique

Cent trente et une souches de bactéries lactiques ont été isolées et examinées. Le tableau 2 donne les fréquences des souches identifiées. Le genre *Lactobacillus* constitue plus de la moitié (55%) des bactéries lactiques isolées et *Lactobacillus plantarum* est l'espèce majoritaire (27%). Les autres espèces du genre *Lactobacillus* sont *Lactobacillus pentosus* (7,6%), *Lactobacillus cellobiosus* (8,4%), *Lacto-*

bacillus brevis (10%). Le genre *Leuconostoc* constitue le deuxième groupe de la flore lactique; il représente 28% des souches isolées avec *Leuconostoc mesenteroides* (19%) et *Leuconostoc citreum* (9%). Les autres souches isolées ont été identifiées comme *Lactococcus lactis* sp. *lactis* (7,6%), *Pediococcus acidilactici* (10%). Ces bactéries appartiennent aussi bien aux bactéries lactiques homofermentaires et hétérofermentaires.

Evolution du pH

Pendant la fermentation, le pH des poto-poto chute rapidement. En effet, en 24 heures le pH passe de 4,4 à 3,7 pour les poto-poto à base de grains non germés et de 4,3 à 3,7 pour les poto-poto à base de grains germés; il se fixe à 3,7 pour le reste de la période étudiée (Figure 7) dans les deux cas.

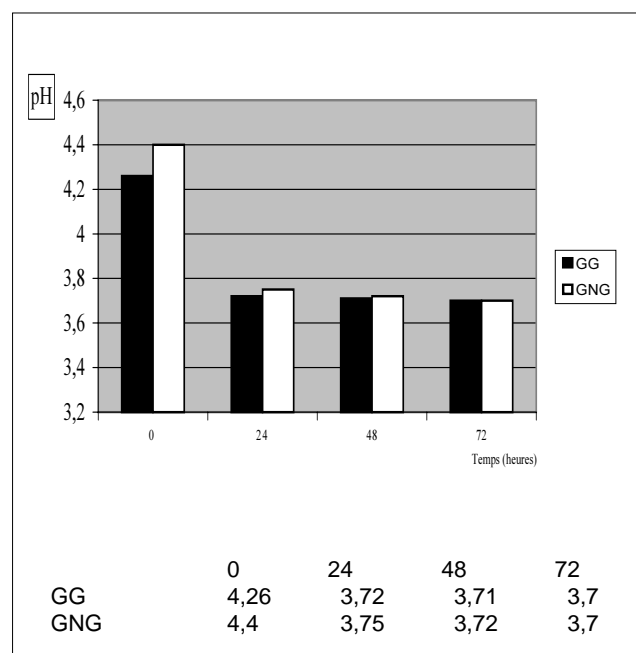


Figure 7: Evolution des pH

Discussion - conclusion

La présente étude confirme les résultats de nos précédents travaux (14): elle révèle que la microflore dominante du poto-poto est constituée de bactéries lactiques ($1,8 \cdot 10^{10}$ à $1,3 \cdot 10^{11}$) et de levures ($3,2 \cdot 10^7$ à $4,0 \cdot 10^9$). L'association de ces deux types de micro-organismes est retrouvée dans les fermentations spontanées à base de maïs et de beaucoup d'autres céréales (1, 2, 5, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 24). Le tableau 2 qui récapitule les résultats de ces différents travaux révèle que quelque soient les procédés utilisés pour la transformation traditionnelle des grains de maïs, les processus fermentaires mettent en jeu des bactéries lactiques.

L'évolution de la population des bactéries lactiques est parallèle à la diminution du pH de fermentation. Ces résultats sont en accord avec ceux de Louembé *et al.* (14), Hounhougan (10), Maria Del Carmen (15).

Tableau 2
Bactéries lactiques de la pâte fermentée de maïs

Genre (nombre de souches isolées et identifiées)		Espèces (nombre de souches isolées et identifiées)	
Lactobacillus (72)	55%	<i>Lactobacillus plantarum</i> (37)	28,2%
		<i>Lactobacillus brevis</i> (13)	10,0%
		<i>Lactobacillus cellobiosus</i> (12)	9,1%
		<i>Lactobacillus pentosus</i> (10)	7,6%
Leuconostoc (36)	28%	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (24)	19%
		<i>Leuconostoc citreum</i> (12)	9%
Lactococcus (10)	7,6%	<i>Lactococcus lactis</i> sp. <i>lactis</i> (10)	7,6%
Pediococcus (13)	10%	<i>Pediococcus acidilactici</i> (13)	10%

(72) = nombre de souches de *Lactobacillus* isolées, soit 72 *Lactobacillus*

Parmi les bactéries lactiques, le genre *Lactobacillus* constitue la flore dominante comme plusieurs chercheurs (2, 10, 15, 16, 17) l'ont montré. Il serait responsable de l'acidification du produit fini.

Les *Lactobacillus* sont des bactéries d'une aide précieuse en technologie alimentaire, souvent utilisés comme starter. Présents à la surface des plantes et des fruits, ils interviennent dans la production de nombreux produits alimentaires (choucroutes, ensilages, boissons fermentées ou sucrées). Ils jouent également un rôle important dans les produits à base de viande, par exemple la préparation des saucissons crus.

Par comparaison au mawé béninois (10), produit équivalent au pototo congolais, il faut retenir la présence simultanée dans les deux produits de *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis*, *Pediococcus acidilactici*, *Leuconostoc mesenteroides* et *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus plantarum* microflore majoritaire du pototo et *Lactobacillus pentosus* sont absents du mawé tandis que *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus reuteri* retrouvés à 90% dans le mawé sont absents du pototo. *Lactobacillus brevis* majoritairement importante (85%) ne représente que 10% des bactéries lactiques dans le pototo.

Les souches de *Lactobacillus plantarum* qui représentent l'essentiel des *Lactobacillus* dans le cas du pototo ont été également identifiées respectivement par Akinrele dans l'ogi nigérian (2), Odunfa et Adeyele dans l'ogi baba (24). Elles constituent comme dans toutes les fermentations alimentaires, la flore dominante en fin de fermentation en raison de leur tolérance aux pH très acides.

Lactococcus lactis a été aussi isolé dans le pozol mexicain (15). Communément retrouvé des produits végétaux, céréales, haricots, pois, pomme de terre, et

dans le lait cru de vache contaminé à partir de la mamelle ou du fourrage, *Lactococcus lactis* est largement utilisé dans l'industrie alimentaire comme souches «starter» dans la production de fromage, de laits fermentés, de la caséine.

Les *Pediococcus* sont également isolés d'une large variété de végétaux et de fruits, de produits carnés et de la bière. On les trouve en abondance dans de nombreux produits fermentés, choucroutes, concombres, olives, etc.

Les *Leuconostoc mesenteroides* considérés comme population initiale dans les fermentations naturelles sont bien présentes dans le pototo pendant les 24 premières heures ($2,3 \cdot 10^8$ au départ et $6,3 \cdot 10^7$ U.F.C./ml après 24 heures); mais, ils disparaissent à partir de 48 heures dans les deux produits obtenus pendant que les *Lactobacillus*, *Lactococcus lactis* et *Pediococcus* restent bien présents.

La disparition des *Leuconostoc* à partir de la 48^{ème} heure explique la diminution de la population de bactéries lactiques après 48 heures. Cette disparition résulte du pH d'acidification du milieu (pH 3,72) incompatible avec le pH optimum de croissance des *Leuconostoc* situé entre 5,0-6,3. La sensibilité des *Leuconostoc* serait liée à leur incapacité à maintenir un gradient de pH entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule bactérienne en présence de fortes concentrations d'acétate et de lactate.

Cette sensibilité particulière de chaque espèce bactérienne au pH du milieu qui sont pour les bactéries lactiques respectivement de 3,2-3,5 (*Lactobacillus*), de 3,5-4,4 (*Pediococcus*), de 4,0-4,5 (*Lactococcus*), 4,2-4,6 (*Enterococcus*) et de 5,0-6,3 (*Leuconostoc*) déterminent la compétition dans les produits de fermentation entre les différents microorganismes et explique dans le cas du pototo-poto la séquence des bactéries et la supplantation de *Lactococcus* avec d'autres bacté-

ries lactiques. Par ailleurs, l'acidification qui suit leur multiplication (< 4) constitue un facteur antagoniste pour le développement des autres espèces et font des bactéries lactiques en général, et des *Lactobacillus* en particulier, une flore de barrière chez l'homme.

Les levures, avec les bactéries lactiques communément impliquées soit comme groupe unique, soit en combinaison avec d'autres groupes de microorganismes, constituent les microorganismes dominants du pototo-poto, où elles sont particulièrement abondantes ($3,2 \cdot 10^7$ à $4,0 \cdot 10^9$), comme elles le sont dans bien de fermentations naturelles des aliments d'origine végétale (13).

L'environnement acide, créé par les bactéries lactiques (pH évoluant de 4,26 à 3,7 ou de 4,4 à 3,7), favoriserait leur développement. En contre partie, le développement des levures stimulerait la croissance des bactéries lactiques par la production d'acides aminés, des facteurs de croissance comme les vitamines de la série B, le CO₂, le pyruvate, le propionate, l'acétate et le succinate (12).

Cette microflore a un rôle essentiel dans ces fermentations naturelles; en effet, l'alcool produit par les levures et les acides produits par les bactéries lactiques ainsi que l'anaérobiose induite par la fermentation inhibent le développement des champignons filamenteux et des bactéries associées à l'altération et à la toxicité des aliments. En outre, l'association des bactéries lactiques et des levures produit le goût et l'arôme caractéristique et agréable des aliments fermentés (12, 13).

Dans l'ensemble, les microorganismes sont plus abondants dans les pototo-poto produits à partir des grains germés. La dégradation de l'amidon pendant la germination accroît la quantité des sucres simples (fructose, glucose) consommés par les microorganismes.

Remerciements

Les auteurs adressent leurs vifs remerciements à l'Agence Aire-Développement et l'Unesco d'avoir mis à leur disposition des moyens financiers ayant permis la réalisation de la présente étude.

Références bibliographiques

- Adegoke G.O. & Babalola A.K., 1988, Characteristics of micro-organisms of importance in the fermentation of fufu and ogi, two nigerian foods. *Journal of applied Bacteriology*, 65, 449-459.
- Akinrele I.A., 1970, Fermentation studies on maize during the preparation of a traditional african starch-cake food. *J. Sci. Agric.* 21, 619-625.
- Akinrele I.A. & Edwards C.C.A., 1971, An assesment of the nutritive value of maize-soja mixture, soy-ogi, as a weaning food in Nigeria. *Brit. J. Nutr.* 26, 177-185.
- Andah A. & Muller H.G., 1973, Studies on koko a ghanian fermented maize porridge. *Ghana J. Agric. Sci.* 6, 93-102.
- Banigo, Onyekwere & Akinrele, 1977, Nigerian ogi, *In: Hand book*, Keith. Steinkraus. Vol. 9, 189-198, Marcel Dekker, Inc. New york and Basel.
- Collins C.H. & Lyne P.M., 1979, *Microbiological Methods* (4th ed.), Butterworths (London).
- Cooke R.D., Twiddy D.R. & Reilly P.J.A., 1987, Lactic acid fermented as a low-cost means of food preservation in tropical countries. *FEMS Microbiol. Rev.* 46, 369-379.
- De Man J.C., Rogosa M. & Sharpe M.E., 1960, A medium for the cultivation of Lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 23, 130-135.
- Harring W.F. & McCance M.E., 1976, *Laboratory methods in food and dietary microbiology*. Academic Press (London).
- Hounhouigan D.J., Nout M.J.R., Nago C.M., Houben J.H. & Rombouts F.M., 1993a, Characterisation and frequency distribution of species of lactic acid bacteria involved in the processing of mawè, a fermented maize dough from Benin; *International Journal of food Microbiology*, 18, 279-287.
- Hounhouigan D.J., Nout M.J.R., Nago C.M., Houben J.H. & Rombouts F.M., 1993b, Microbial changes in mawè during natural fermentation. *World journal of Microbiology and Biotechnology*, 10, 410-413.
- Hounhouigan D.J., Nout M.J.R., Nago C.M., Houben J.H. & Rombouts F.M., 1999, Use of starter cultures of lactobacilli and yeast in the fermentation of mawè, an african maize product. *Trop. Sci.* 39, 220-226.
- Larry R.B., 1995, Application of biotechnology to indigenous fermented foods. *Food Technology*, 1, 97-99.
- Louembé D., Brauman A., Tchicaya F. & Kobawila S.C., 1996, Etude microbiologique et biochimique de la bouillie de maïs "poto-poto". *Microbiologie-Aliments-Nutrition*, vol. 14, 245-253.
- Maria Del Carmen Wachter Rodarte, 1995, Estudios sobre la microbiologia del pozol. Thèse.
- Mbugua S.K., 1981, Microbiol and biochemical aspects of uji, an East African sour cereal porridge. Fermentation, and it enhancement through application of lactic acid bacteria. Ph.D Thesis. Cornell university.
- Mbugua S.K., 1984, Isolation and characterisation of lactic acid bacteria during the traditional fermentation of uji. *East African Agriculture and Forestry Journal*, 50, 36-43.
- Mbugua S.K. & Njenga J., 1992, The anti-microbial activity of fermented uji, *Ecol. Food Nutr.* 28, 191-198
- Mensah P., Tomkins A.M., Drasar B.S. & Harrison T.J., 1992, Antimicrobiol effect of fermented Ghanaian maize dough. *J. Appl. Bacteriol.* 70, 203-210.
- Mosha A.C. & Svanberg U., 1983, Preparation of weaning foods with high nutrient density using flour of germinated cereals. *Food and Nutrition Bulletin*, 5, 10-14.
- Murdock F.A. & Fields M.L., 1984, B-vitamin content of natural lactic acid fermented corn meal. *J. Food Sci.* 49, 373-375.
- Nago M.C., Hounhouigan J.D., Akissoe N., Zanou E. & Mestres C., 1998, Characterisation of beninese traditional ogi, a fermented maize slurry: physicochemical and microbiological aspects: *International Journal of food Science and Technology*, 33, 307-315.
- Nout M.J.R. & Rombouts F.M., 1992, Fermentative preservation of plants foods. *J. Appl. Bacteriol. Symposium supplement*, 73, 136-147.
- Odufa S.A., 1985, African fermented foods, *In: Wood B.J.B.(Ed.) Microbiology of fermented food* vol. 8, 155-191. London and New-york Elsevier Applied science publishers.
- Plahar W.A. & Leung H.K., 1983, Composition of ghanian fermented maize meal and the effect of soya fortification on sensory properties. *J. Sci. Food Agric.* 34, 407-411.
- Trèche S., Giamarchi P., Gallon G. & Massamba J., 1992, Les bouillies de sevrage au Congo: Composition, Valeur nutritionnelle et Modalités d'utilisation; 5^{ème} journée internationale du Germ. Montpellier, 22-27 Nov. 1992.

D. Louembé, Congolais, Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles, Maître de Conférences, Faculté des Sciences, Université Marien Nguabi.

S.C. Kobawila, Congolais, Doctorat 3^{ème} cycle, Maître Assistant, Faculté des Sciences, Université Marien Nguabi.

S. Kéléké, Congolais, Doctorat unique, Chargé de Recherche, Délégation Générale de la Recherche Scientifique et Technologique.

J-P. Nzoussi, Congolais, Etudiant, Diplôme Ingénieur de développement rural.

Contribution à l'étude de l'écologie et de la biologie des homoptères ravageurs des arbres fruitiers et autres plantes II. – Influence de la plante-hôte et de sa phénologie sur l'évolution des infestations d'*Aleurodicus dispersus* Russell (Hom.: Aleyrodidae) en République du Congo

A. Kiyindou*

Keywords: *Aleurodicus dispersus*- Aleyrodidae- Host plants- Frequency of infestation- Congo

Résumé

Cette étude avait pour but d'évaluer les fréquences d'infestations de l'aleurode, *Aleurodicus dispersus* Russell sur 20 espèces de plantes-hôtes. Les observations effectuées en conditions naturelles montrent le rôle important de l'espèce hôte et de sa phénologie sur la répartition saisonnière des infestations. La grandeur des infestations paraît corrélée aux effectifs des feuilles âgées. De plus, il a été mis en évidence que les hôtes *Hura crepitans*, *Persea americana*, *Acacia auriculoformis*, *Elaeis guineensis* et l'hybride *Eucalyptus alba* x *Eucalyptus urophylla* étaient fortement attractifs pour la ponte d'*A. dispersus*, alors que *Mangifera indica*, *Citrus reticulata*, *Carica papaya* et *Dacryodes edulis* étaient peu attractifs pour cet aleurode.

Summary

Contribution to the Knowledge of the Ecology and Biology of Homopterous Pests of Fruit Trees and other Plants: II. – The influence of the Host Plant and its Phenology on the Evolution of Infestation of *Aleurodicus dispersus* Russell (Hom.: Aleyrodidae) in Republic of the Congo

The purpose of this study was to estimate the infestations' frequencies of *Aleurodicus dispersus* Russell on 20 host plants species.

The observations carried out under natural conditions reveal the prominent part taken by host species and its phenology on the seasonal distribution of the infestations.

The magnitude of the infestations seems to be correlated with the number of elderly leaves. Furthermore, it has been proved that hosts as *Hura crepitans*, *Persea americana*, *Acacia auriculoformis*, *Elaeis guineensis* and *Eucalyptus alba* x *Eucalyptus urophylla* hybrid were very attractive for the laying of *A. dispersus*, while *Mangifera indica*, *Citrus reticulata*, *Carica papaya* and *Dacryodes edulis* were less attractive for the whitefly.

Introduction

L'aleurode *Aleurodicus dispersus* Russell est un ravageur polyphage en Amérique tropicale, en Asie du Sud et du Sud-Est, dans le Pacifique, et en Afrique intertropicale (2, 14, 15, 16, 20, 21).

Bien qu'une large gamme de plantes-hôtes (27 familles, 38 genres et ± 100 espèces) ait été inventoriée dans le monde (4), l'aleurode marque probablement, des préférences spécifiques et variétales. Cependant, peu d'études ont confirmé l'hypothèse précédente. On peut signaler à ce propos le travail

fragmentaire de Cherry entrepris en Floride (6), et celui de Shah-Alam *et al.*, (21) au Bangladesh sur des sensibilités différentes de variétés de goyavier.

Par ailleurs, de nombreux travaux réalisés sur ce déprédateur étaient principalement orientés vers l'évaluation de son importance économique (3, 9, 13, 14, 22, 23). L'influence de la plante-hôte sur le développement et la reproduction a été précisée, en conditions semi-contrôlées de laboratoire, au Congo (10), et l'influence du végétal sur la dynamique des popula-

* Unité de Recherches en Phytologie/Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technologique (URPHYT/DGRST) B.P. 2499 Brazzaville, République du Congo.

Reçu le 23.10.01. et accepté pour publication le 01.08.02.

tions du ravageur a été étudiée dans la nature au Congo (1, 10).

Les différences de niveau d'infestations observées chez *A. dispersus* en relation avec la plante-hôte (1, 6, 10), nous ont incité à étudier un aspect particulier de la phénologie de la plante en rapport avec la dynamique du ravageur. Cette étude fait l'objet du présent article. Elle permet de préciser l'incidence de la nature et de l'âge des feuilles du végétal sur la fréquence d'infestations par le phytophage, qui se traduit par des préférences du site de ponte.

Conditions de l'étude

Le milieu

Les observations sur la fréquence des plantes-hôtes infestées par l'aleurode, *Aleurodicus dispersus* ont été réalisées en 1998, dans quatre circonscriptions administratives sur sept que compte Brazzaville. La zone d'étude s'étend sur environ 20 km de long et 5 km de large. Elle est couverte d'une végétation abondante et diversifiée. Dans ce travail, on a retenu un peuplement d'arbres très clairsemé à base des espèces végétales plantées (Tableau 1).

été divisée en quatre biotopes distincts, représentatifs des conditions locales: proximité ou éloignement du pâtre de maisons et de l'avenue. Pour chaque biotope, dix arbres sont sélectionnés pour chacune des vingt espèces constituant le peuplement d'arbres.

Pour déterminer la fréquence des infestations, chaque arbre est examiné visuellement pendant cinq minutes. L'observation s'effectue à la hauteur de la frondaison tout autour de la couronne extérieure. Si la présence d'*A. dispersus* (tous stades confondus) est constatée, on dénombre, sur les organes foliaires, le nombre d'ovisacs d'aleurodes par examen de vingt feuilles repérées au hasard dans chaque arbre. Les quatre biotopes de l'habitat ont été visités à raison d'un passage par biotope et par semaine. L'ensemble de l'habitat a été exploité en l'espace de 4 mois, en juillet-août (période sèche) et octobre-novembre (période très pluvieuse). Les quatre échantillonnages hebdomadaires ont été regroupés en un échantillon mensuel de huit cent feuilles/espèce végétale. Toute présence d'ovisac est considérée comme une ponte. Au cours de l'année climatique 1998, le passage de la période sèche à une période fortement pluvieuse ne s'est pas fait d'une manière brutale: en septembre, la

Tableau 1
Liste non exhaustive des plantes-hôtes d'*A. dispersus* au Congo

Plantes-Hôtes	Numéro d'identification	Famille	Usage
<i>Mangifera indica</i>	1	Anacardiaceae	F
<i>Citrus reticulata</i>	2	Rutaceae	F
<i>Carica papaya</i>	3	Caricaceae	F
<i>Citrus paradisi</i>	4	Rutaceae	F
<i>Spondias dulcis</i>	5	Anacardiaceae	F
<i>Dacryodes edulis</i>	6	Burseraceae	F
<i>Elaeis guineensis</i>	7	Arecaceae	H
<i>Acacia auriculoformis</i>	8	Mimosaceae	O
<i>Eucalyptus torelliana</i>	9	Myrtaceae	O
Hybride <i>Eucalyptus alba</i> x <i>E. urophylla</i>	10	Myrtaceae	O
Hybride <i>Manihot esculenta</i> x <i>M. glaziovii</i>	11	Euphorbiaceae	L
<i>Citrus aurantium</i>	12	Rutaceae	F
<i>Citrus aurantifolia</i>	13	Rutaceae	F
<i>Citrus sinensis</i>	14	Rutaceae	F
<i>Acacia mangium</i>	15	Mimosaceae	O
<i>Cocos nucifera</i>	16	Arecaceae	H
<i>Psidium guajava</i>	17	Myrtaceae	F
<i>Persea americana</i>	18	Lauraceae	F
<i>Terminalia catappa</i>	19	Combretaceae	O
<i>Hura crepitans</i>	20	Euphorbiaceae	O

F: Fruit, H: Huile, L: Légume, O: Ombrage

Méthodes d'étude

Du fait de sa vaste superficie, de la diversité du peuplement végétal (plusieurs espèces), de la présence de pâtés de maisons, et de larges avenues, l'habitat est hétérogène; ces éléments dans le paysage peuvent engendrer en certains points des conditions écologiques particulières, aussi en a-t-il été tenu compte pour déterminer l'échantillonnage. La zone d'étude a

pluviométrie, tout en étant déficitaire, a été marquée par des précipitations assez significatives en valeurs absolues. Les perturbations physiologiques qui se traduisent en période pluvieuse chez la plante-hôte par une abondante chute des feuilles, en rapport avec les poussées de sève, ont été très fortement ressenties en septembre 1998. Ceci avait conduit donc à ne pas tenir compte, dans cet article, des données du mois de septembre 1998.

Analyse des résultats

Une Analyse en Composantes Principales (A.C.P) (7) a porté sur les variables suivantes pour l'ensemble des individus (20 espèces végétales):

- nombre total d'arbres infestés d'aleurodes: ARI,
- nombre total de feuilles avec ovisacs d'aleurodes par rapport à l'ensemble des arbres examinés: FEO,
- nombre d'ovisacs/feuille par rapport à toutes les feuilles observées: OVF.

Les valeurs moyennes de ces variables sont traitées statistiquement par une analyse de la variance.

Les données concernant les infestations d'*A. dispersus* en relation avec l'hôte végétal et ses organes foliaires, et le rapport de feuilles avec ovisacs se rapportent aux saisons considérées: saison sèche (juillet-août), saison des pluies (octobre-novembre).

Résultats

Les observations en saison sèche

L'interprétation d'une Analyse en Composantes Principales (A.C.P.) faite sur l'ensemble des individus (20 espèces de plantes-hôtes) et les variables étudiées ARI, FEO et OVF a permis d'obtenir les facteurs discriminants 1 et 2; ceux-ci cumulent 99,9% de la variabilité. Ces facteurs sont indiqués sur la figure 1.

- L'axe 1 participe, pour 94% de la variabilité observée, avec une contribution relative dans l'ordre de décroissance: les feuilles portant des ovisacs d'aleurodes, les ovisacs par feuille et les arbres infestés. On peut définir cet axe comme étant celui qui représente l'attraction du lieu de ponte.
- L'axe 2 contribue, pour 5,9% de la variabilité observée, dont la contribution relative est apportée par les arbres infestés. Cet axe peut être défini comme représentatif de l'infestation.

Les observations en saison des pluies

A partir d'une analyse en Composantes Principales (A.C.P) effectuée sur les 20 espèces de plantes-hôtes, les variables ARI, FEO et OVF; on obtient les facteurs discriminants 1 et 2 qui cumulent 94,9% de la variabilité (Figure 2).



Figure 1: Plan factoriel d'une analyse des correspondances effectuée sur l'ensemble des plantes-hôtes et portant sur les 3 variables mesurées en saison sèche

- ARI: nombre total d'arbres infestés d'aleurodes
- FEO: nombre total de feuilles avec ovisacs d'aleurodes par rapport à l'ensemble des arbres examinés
- OVF: nombre d'ovisacs/feuille par rapport à toutes les feuilles observées

Les nombres 1 à 20 sont relatifs aux numéros d'identification et aux plantes-hôtes correspondantes dans le tableau 1.

- l'axe 1 représente, pour 63% de la variabilité observée, où la contribution relative est apportée par les feuilles avec ovisacs d'aleurodes et les arbres infestés.
- L'axe 2 indique, pour 31,9% de la variabilité observée dont la contribution relative est apportée par les ovisacs/feuille.

L'analyse de la variance montre que les effets de l'espèce hôte et de la période d'observation sont très hautement significatifs sur les effectifs des vieilles feuilles avec ovisacs d'*A. dispersus* (Tableau 2), alors que seul

Tableau 2
Analyse de la variance sur l'effet de l'espèce hôte et de la date d'observation sur le nombre de feuilles avec ovisacs d'aleurodes

Effet	Jeunes feuilles			Vieilles feuilles		
	D. L.	C. Moy.	F	D. L.	C. Moy.	F
Espèce hôte	19	28,0	2,69 NS	19	111,8	6,22 *
Date d'observation	3	387,5	37,17 ***	3	1273,6	109,0***
Espèce hôte x Date d'observation	57	17,1	1,64 NS	57	23,5	15,5**

*** } hautement significatif
 ** }
 * significatif
 NS: non significatif



Figure 2: Plan factoriel d'une analyse des correspondances effectuée sur l'ensemble des plantes-hôtes et portant sur les 3 variables mesurées en saison des pluies.

l'effet période d'observation est hautement significatif sur les jeunes feuilles avec ovisacs d'aleurodes.

Influence de la nature de l'organe foliaire hôte sur la fréquence de l'infestation

Pour préciser le rôle de l'organe foliaire dans les fréquences d'infestations, on a comparé les rapports:

$$\frac{\text{nombre de vieilles feuilles avec ovisacs d'aleurodes}}{\text{nombre d'arbres infestés}}$$

au rapport:

$$\frac{\text{nombre de jeunes feuilles avec ovisacs d'aleurodes}}{\text{nombre d'arbres infestés}}$$

Des observations hebdomadaires ont permis de constater que le premier rapport est toujours supérieur au deuxième. Ceci traduit que les feuilles âgées constituent le lieu privilégié de ponte pour les femelles d'*A. dispersus* pendant toute la période étudiée (juillet, août, octobre et novembre). La valeur des rapports, selon les espèces végétales est donnée dans les tableaux 3 et 4. Il faut noter qu'en juillet et novembre, le rapport:

$$\frac{\text{nombre de vieilles feuilles avec ovisacs d'aleurodes}}{\text{nombre d'arbres infestés}}$$

est plus petit qu'en août-octobre (Tableau 3), mois qui correspondent respectivement à la période pendant laquelle l'inoculum infestant se constitue (juillet) et

Tableau 3
Evolution du rapport de vieilles feuilles avec ovisacs d'aleurodes sur arbres infestés

Plantes-hôtes	Période d'observation			
	Saison sèche		Saison des pluies	
	juillet	août	octobre	novembre
<i>Mangifera indica</i>	0,60 (0,07) ⁽¹⁾	0,75 (0,08)	1,00 (0,09)	0,00
<i>Citrus reticulata</i>	0,43 (0,03)	0,73 (0,08)	0,75 (0,08)	1,00 (0,09)
<i>Carica papaya</i>	0,37 (0,02)	1,22 (0,12)	1,00 (0,10)	0,33 (0,01)
<i>Citrus paradisi</i>	0,94 (0,08)	1,60 (0,16)	1,00 (0,10)	1,00 (0,09)
<i>Spondias dulcis</i>	0,44 (0,03)	0,50 (0,04)	1,67 (0,16)	0,00
<i>Dacryodes edulis</i>	0,73 (0,06)	1,33 (0,13)	0,33 (0,03)	1,00 (0,09)
<i>Elaeis guineensis</i>	1,78 (0,16)	2,15 (0,18)	1,33 (0,13)	0,50 (0,04)
<i>Acacia auriculoformis</i>	1,68 (0,16)	2,40 (0,19)	0,80 (0,07)	1,50 (0,13)
<i>Eucalyptus torelliana</i>	1,31 (0,13)	2,08 (0,18)	0,60 (0,07)	1,00 (0,08)
Hybride <i>Eucalyptus alba</i> x <i>E. urophylla</i>	1,48 (0,13)	1,78 (0,16)	0,80 (0,07)	1,50 (0,13)
Hybride <i>Manihot esculenta</i> x <i>M. glaziovii</i>	1,33 (0,13)	1,79 (0,16)	1,60 (0,16)	1,50 (0,14)
<i>Citrus aurantium</i>	1,05 (0,10)	1,18 (0,12)	1,00 (0,09)	1,00 (0,08)
<i>Citrus aurantifolia</i>	1,20 (0,12)	1,69 (0,16)	1,14 (0,10)	1,00 (0,08)
<i>Citrus sinensis</i>	1,00 (0,10)	1,15 (0,10)	0,62 (0,07)	1,00 (0,09)
<i>Acacia mangium</i>	1,11 (0,10)	1,27 (0,13)	1,14 (0,10)	0,50 (0,03)
<i>Cocos nucifera</i>	1,23 (0,12)	1,71 (0,15)	1,64 (0,16)	1,50 (0,13)
<i>Psidium guayava</i>	0,91 (0,08)	1,03 (0,10)	1,33 (0,13)	0,75 (0,06)
<i>Persea americana</i>	1,43 (0,13)	1,64 (0,16)	1,69 (0,16)	1,00 (0,09)
<i>Terminalia catappa</i>	1,07 (0,10)	1,35 (0,13)	1,00 (0,10)	1,00 (0,08)
<i>Hura crepitans</i>	1,82 (0,18)	1,93 (0,18)	1,86 (0,18)	1,67 (0,16)

(1) Les nombres entre parenthèses sont les écarts-types des valeurs moyennes.

décline (novembre), et à celle pendant laquelle l'infestation est à son niveau maximal, tandis que le rapport:
$$\frac{\text{nombre de jeunes feuilles avec ovisacs d'aleurodes}}{\text{nombre d'arbres infestés}}$$

est moins stable (Tableau 4); probablement dû à des effectifs numériquement faibles.

La comparaison des rapports présentés dans le tableau 3 peut être résumée ainsi:

- les espèces hôtes *H. crepitans*, *E. guineensis*, *A. auriculoformis* sont plus attractives en début de l'infestation par rapport à l'hybride *E. alba x E. urophylla*, *P. americana*,
- les espèces hôtes *E. torelliana*, *C. nucifera*, *C. aurantifolia* et l'hybride *M. esculenta x M. glaziovii* sont intermédiaires par rapport aux précédentes, du moins en juillet,
- les autres espèces hôtes sont peu attractives. Cependant, les observations faites au moment où l'infestation est maximale, apparaissent plus complexes à interpréter,
- les espèces hôtes *E. torelliana*, *C. nucifera* et l'hybride *M. esculenta x M. glaziovii*, sont aussi attractives que les espèces jugées attractives au début de l'infestation,
- il n'y a en revanche, pas de différence significative entre le moment où s'amorce l'infestation et la période où celle-ci devient maximale pour 4 des espèces moins attractives: *M. indica*, *C. reticulata*, *C. papaya* et *D. edulis*.

Discussion et conclusion

L'incidence de la nature de l'organe hôte sur les fréquences d'infestations d'*A. dispersus* est ici précisée pour la 1^{ère} fois. L'infestation varie en fonction de la période d'observation. La feuille s'est révélée être le site de ponte préféré par la femelle du phytophage. Différents facteurs influent sur l'attraction de l'hôte dont le principal serait l'âge avancé de l'organe foliaire; la présence chez toutes les espèces de plantes-hôtes, d'une plus grande quantité d'ovisacs sur les feuilles âgées, en particulier en saison sèche, semble confirmer ce rapport ovisacs/feuille âgée.

L'infestation par *A. dispersus* sur des plantes-hôtes considérées varie également avec les conditions saisonnières (saison sèche - saison des pluies). Le rôle mécanique de la pluie a déjà été relevé (10, 22). L'extension des infestations de l'aleurode n'est pas dans tous les cas en relation directe avec les facteurs climatiques (5, 12), d'ailleurs l'accroissement des infestations survient selon deux mécanismes directement liés à l'état morphophysologique de l'hôte: d'une part, une perturbation de la plante-hôte se traduisant par le renouvellement du feuillage (8), d'autre part des poussées de sève annuelles, comme c'est le cas, généralement reconnu, des *Citrus* (17, 18, 19).

A l'instar des travaux de Fabres (8) qui établissent, dans d'autres conditions, d'une manière précise la chute des feuilles comme facteur de perturbation des populations d'autres espèces d'homoptères; on peut retenir dans notre cas, le processus de renouvellement du feuillage pour expliquer les différences de

Tableau 4
Evolution du rapport de jeunes feuilles avec ovisacs d'aleurodes sur arbres infestés

Plantes hôtes	Période d'observation			
	Saison sèche		Saison des pluies	
	juillet	août	octobre	novembre
<i>Mangifera indica</i>	0,27 (0,02) ⁽¹⁾	0,12 (0,01)	1,00 (0,10)	0,00
<i>Citrus reticulata</i>	0,14 (0,01)	0,18 (0,01)	0,75 (0,06)	0,00
<i>Carica papaya</i>	0,62 (0,07)	0,55 (0,04)	0,25 (0,01)	0,33 (0,02)
<i>Citrus paradisi</i>	0,17 (0,01)	0,40 (0,03)	1,25 (0,12)	0,50 (0,04)
<i>Spondias dulcis</i>	0,44 (0,03)	0,50 (0,04)	1,00 (0,10)	0,00
<i>Dacryodes edulis</i>	0,36 (0,02)	0,22 (0,01)	0,11 (0,01)	0,50 (0,04)
<i>Elaeis guineensis</i>	0,36 (0,02)	0,38 (0,03)	0,67 (0,07)	0,50 (0,04)
<i>Acacia auriculoformis</i>	0,36 (0,02)	0,53 (0,04)	0,60 (0,07)	0,50 (0,04)
<i>Eucalyptus torelliana</i>	0,21 (0,01)	0,33 (0,02)	0,40 (0,03)	1,00 (0,10)
Hybride <i>Eucalyptus alba x E. urophylla</i>	0,30 (0,02)	0,55 (0,04)	0,20 (0,01)	0,50 (0,04)
Hybride <i>Manihot esculenta x M. glaziovii</i>	0,21 (0,01)	0,16 (0,01)	0,40 (0,03)	0,00
<i>Citrus aurantium</i>	0,14 (0,01)	0,11 (0,01)	0,09 (0,00)	0,00
<i>Citrus aurantifolia</i>	0,12 (0,01)	0,22 (0,01)	0,43 (0,03)	1,00 (0,10)
<i>Citrus sinensis</i>	0,14 (0,01)	0,19 (0,01)	0,12 (0,01)	0,67 (0,07)
<i>Acacia mangium</i>	0,34 (0,03)	0,31 (0,02)	0,28 (0,02)	0,50 (0,04)
<i>Cocos nucifera</i>	0,19 (0,01)	0,18 (0,01)	0,27 (0,02)	1,50 (0,14)
<i>Psidium guayava</i>	0,14 (0,01)	0,21 (0,01)	0,33 (0,02)	0,50 (0,04)
<i>Persea americana</i>	0,29 (0,02)	0,21 (0,01)	0,31 (0,02)	0,50 (0,04)
<i>Terminalia catappa</i>	0,25 (0,01)	0,61 (0,07)	0,36 (0,03)	1,00 (0,10)
<i>Hura crepitans</i>	0,29 (0,02)	0,07 (0,00)	0,28 (0,02)	1,00 (0,10)

(1) Les nombres entre parenthèses sont les écarts-types des valeurs moyennes.

niveaux des infestations. En période de déficit hydrique très marquée (saison sèche), la chute des vieilles feuilles est progressive en rapport avec les faibles poussées de sève des mois de juillet-août. Par contre, au cours de la période fortement pluvieuse, la chute des vieilles feuilles est brutale, fugace et liée aux abondantes poussées de sève de début de saison des pluies (octobre-novembre). Ces deux phases semblent provoquer des ruptures régulières dans la coïncidence entre l'infestation et la disponibilité du feuillage des plantes-hôtes.

A l'arrivée des pluies abondantes, la chute consécutive des vieilles feuilles ramène les effectifs de ces dernières à un niveau relativement bas.

Cependant, il n'a été noté aucune augmentation des pontes sur les jeunes feuilles qui se développent avec la poussée de sève.

Les résultats présentés dans cet article montrent enfin qu'il n'est pas inutile d'étudier avec précision le rôle des caractéristiques physiologiques de la plante-hôte (éléments minéraux et substances chimioprotectrices contenus dans les feuilles), étape préalable nécessaire à l'étude des interactions plante-insecte.

Remerciements

L'auteur remercie M. Mvila, de l'Unité de Recherches en Phytatrie (URPHYT) et M. Bitemo, du Centre de Recherches et d'Etudes en Sciences Sociales et Humaines (CRESSH), pour l'exploitation statistique des données permettant l'Analyse en Composantes Principales (A.C.P.) et l'analyse de la variance.

Références bibliographiques

- Adoumbaye I.P., 1996, Etude de la relation entre les arbres fruitiers et l'aleurode *Aleurodicus dispersus* Russell (Homoptera: Aleyrodidae): Détermination de ses plantes-hôtes essentielles au Congo, mémoire de fin d'études IDR, Univ. Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo. 41 p.
- Akinlosotu T.A., Jackai L.E.N., Ntonifor N.N., Hassan A.T., Agyakwa C.W., Odebiyi J.A., Akingbohunge A.E. & Rossel H.W., 1993, Spiralling whitefly in Nigeria, FAO Plant Prot. Bull. 41, 126-129.
- Anonyme, 1988, Quarterly Newsletter. Asia and Pacific Commission n° 90, 8p.
- Anonyme, 1990, Pest profile n° 20, Mapps Newsletter, 14, 7.
- Cherry R., 1979, Temperature tolerance of the whitefly species found in Florida, Environ. Entomol. 8, 1150-1152.
- Cherry R., 1980, Host plant preference of the whitefly, *Aleurodicus dispersus* Russel, Florida Entomologist, 63, 222-225.
- Dagnélie P., 1975, Analyse statistique à plusieurs variables. Les Presses agronomiques de Gembloux.
- Fabres G., 1977, Intervention de *Synnematium jonesii* (Fungi-Imperfecti) et d'*Aphytis cochereaui* (Hym.: Aphelinidae) lors d'une pullulation de *Lepidosaphes beckii* (Hom.: Diaspididae) dans les habitats ombragés de la Nouvelle-Calédonie, Ann. Zool. Ecol. anim. 9, 601-614.
- Kajita H., Samudra I.M., Naito A., 1991, Discovery of the spiralling whitefly *Aleurodicus dispersus* Russell (Hom.: Aleyrodidae) from Indonesia, with notes of its host plants and natural enemies, Appl. Entomol. Zool. 26, 397-400.
- Kiyindou A., 2002, Contribution à l'étude de l'écologie et de la biologie des homoptères ravageurs des arbres fruitiers et autres plantes. I - Comparaison de l'évolution des populations d'*Aleurodicus dispersus* Russell (Hom.: Aleyrodidae) sur agrumes et avocatier en République du Congo, Tropicultura Vol. 20,3, 135-139.
- Kiyindou A., Adoumbaye I.P., Mizere D. & Moussa J.B., 1999, Influence de la plante-hôte sur le développement et la reproduction de l'aleurode *Aleurodicus dispersus* Russell (Hom.: Aleyrodidae) en République du Congo. Fruits, 54, 115-122.
- Kumashiro B.R., Lai P.Y., Funasaki G.Y. & Teramoto K.K., 1983, Efficacy of *Nephaspis amnicola* and *Encarsia haitiensis* in controlling *Aleurodicus dispersus* in Hawaii. Proceedings, Hawaiian Entomological Society, 24, 261-269.
- Laufoto T.P. & Iwamoto R., 1982, American Samoa and Guam, spiralling whitefly, FAO Plant Protection Committee for South East-Asia, Pacific Region Quarterly Newsletter, 25, 155-160.
- Martin J.H., 1990, The whitefly pest species *Aleurodicus dispersus* and its rapid extension of range across the Pacific and South East Asia. Mapps Newsletter, 14, 36.
- Mound L.A. & Halsey S.H., 1978, Whitefly of the world, British Museum (Natural History) and John Wiley & Sons, London 340 p.
- Neuenschwander P., 1994, Spiralling whitefly, *Aleurodicus dispersus*, a recent invader and new cassava pest. Africa Crop Science Journal, 2, 419-421.
- Onillon J.C., 1973, Contribution à l'étude de la dynamique des populations d'homoptères inféodés aux agrumes. V. 2. Possibilités de régulation des populations d'*Aleurothrixus floccosus* Mask. (Homopt., Aleyrodidae) sur agrumes par *Cales noacki* How. (Hymenopt., Aphelinidae), OEPP/EPPO Bull. 3, 17-26.
- Onillon J.C., 1975, Contribution à l'étude de la dynamique des populations d'homoptères inféodés aux agrumes. V. 3. Evolution des populations d'*Aleurothrixus floccosus* Mask. (Homopt., Aleyrodidae) pendant les trois années suivant l'introduction de *Cales noacki* How. (Hymenopt., Aphelinidae), Fruits, 30, 237-244.
- Onillon J.C., Onillon J. & Brun P., 1975, Contribution à l'étude de la dynamique des populations d'homoptères inféodés aux agrumes. II-3. Premières observations sur l'évolution comparée des populations de *Dialeurodes citri* Ashmead (Homopt., Aleyrodidae) en Corse et dans le Sud-Est de la France, Fruits, 30, 167-172.
- Russell L.M., 1965, A new species of *Aleurodicus* Douglas and two close relative (Homoptera: Aleyrodidae). The Florida Entomologist, 1, 49-55.
- Shah-Alam, Islam M.N., Alam M.Z. & Islam M.S., 1997, Identification of the whitefly in guava, its spatial distribution and host susceptibility. Bangladesh Journal of Entomology, 7, 67-73.
- Weems H.V. Jr., 1971, *Aleurodicus dispersus* Russell (Homoptera: Aleyrodidae), a possible vector of the lethal yellowing disease of coconut palms. Florida. Division of Plant Industry. Ent. Circ. n° 111: 2 p.
- Wijisekera G.A.W. & Kudagamage C., 1989, Life history and control of spiralling whitefly *Aleurodicus dispersus* (Homoptera: Aleyrodidae). Fast spreading pest in Sri Lanka, Div. Entomol., Cent. Agr. Res. Inst., Gannoruwa, Peradeniya, Sri Lanka, 22-25.

A. Kiyindou, Congolais, Diplôme Universitaire en Recherche, Université de Nice, France, Option Biologie Animale, Doctorat de l'Université de Rennes I, France, option Sciences biologiques. Chargé de Recherches, Comité Africain et Malgache de l'Enseignement Supérieur (CAMES). Chef de l'Unité de Recherches en Phytatrie, Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technologique (URPHYT/DGRST), République du Congo.

Exploitation de la variabilité somaclonale pour la recherche d'œillet (*Dianthus caryophyllus* L.) tolérant à la salinité

F. Haouala*, C. Hannachi* & E. Zid**

Keywords: Carnation- *in vitro* regeneration- Salinity- Vitrovariation

Résumé

La callogenèse chez l'œillet (*Dianthus caryophyllus* L. 'Légion d'Honneur') est induite à partir de segments d'entre-nœuds sur un milieu contenant de l'ANA 0,1 mg.l⁻¹ et du TDZ 0,1 mg.l⁻¹. La régénération des plantes à partir de cals cellulaires nécessite la présence de la BA 2 mg.l⁻¹. L'enracinement des pousses est obtenu sur un milieu contenant de l'AIB 0,5 mg.l⁻¹. La croissance des cals est très réduite et le taux de régénération est fortement affecté en présence de NaCl 100 mM. L'enracinement des pousses est meilleur en absence de NaCl. Les plantes régénérées présentent des variations somaclonales et celles obtenues sous stress salin ont une meilleure tolérance relative à la salinité que les plantes régénérées en absence de sel.

Summary

Exploitation of Somaclonal Variability for Research of Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) Tolerant to Salinity

Callogenesis in carnation (*Dianthus caryophyllus* L. 'Légion d'Honneur') is possible from internodes in a medium containing 0.1 mg.l⁻¹ NAA and 0.1 mg.l⁻¹ TDZ. Regeneration from callus needs 2 mg.l⁻¹ BA. Shoots rooting is obtained on a medium containing 0.5 mg.l⁻¹ IBA. Callus growth is reduced and regeneration rate is very affected in presence of NaCl 100 mM. Shoot rooting is better without NaCl.

Regenerated plants present somaclonal variation and those obtained under salt stress have a better relative tolerance to salinity than plants regenerated without salt.

Introduction

La salinité des sols touche actuellement 25% environ des terres irriguées (12) et concerne plus particulièrement les zones arides et semi-arides, telles que les régions tropicales et méditerranéennes. Le fort ensoleillement et la faible pluviométrie ont obligé les agriculteurs de ces régions à irriguer en quantité importante et, souvent, avec une eau saumâtre. Les sels s'accumulent au cours des ans à la surface des sols sans pouvoir être lessivés par les faibles quantités de pluie, rendant ainsi peu à peu les terres impropres à la culture. Dans ces conditions, la culture des espèces florales, connues pour leur forte sensibilité à la salinité (13), peut être sérieusement compromise. En effet, pour l'œillet des fleuristes (*Dianthus caryophyllus* L.), le rendement en fleurs commence à baisser dès que la conductivité électrique de l'eau d'irrigation atteint 1,2 dS.m⁻¹ (21).

Les techniques de culture *in vitro*, à l'origine des variations somaclonales et gamétoclonales, peuvent intervenir dans les programmes d'amélioration de la tolérance à la salinité. En effet, elles ont été utilisées avec succès pour sélectionner chez un certain nombre d'espèces cultivées des lignées cellulaires tolérantes à la salinité (5, 10, 16, 24). Des plantes entières ont été régénérées à partir de lignées cellulaires sélectionnées pour leur résistance à la salinité et la transmission de ce caractère de tolérance à la descen-

dance a été observée notamment chez le *Coleus* (4), le colza (9), le *Citrus* (10) et le tabac (16).

Chez l'œillet, la régénération de pousses *in vitro* est influencée par le génotype, la nature de l'explant et la balance hormonale (6). L'organogenèse peut avoir lieu à partir de divers explants, tels que l'hypocotyle (17), les cotylédons (2), les entre-nœuds (19), les feuilles (23) et les pétales (7, 11). L'initiation de pousses adventives à partir de cals cellulaires est obtenue généralement sur des milieux à forte concentration en cytokinines, telle la BA à 3 mg.l⁻¹ (11).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet du stress salin (NaCl) sur la régénération *in vitro* de l'œillet et la possibilité d'exploiter cette technique dans l'amélioration de la tolérance à la salinité chez cette espèce.

Matériel et méthodes

L'étude porte sur l'œillet (*Dianthus caryophyllus* L.) super-géant Chabaud, 'Légion d'Honneur', cultivar annuel connu par ses fleurs doubles de couleur rouge vif. Le milieu de culture est celui de Murashige et Skoog (15) en ce qui concerne les macro et les oligo-éléments seulement. A partir de ce milieu de base MB, 5 autres milieux sont confectionnés pour la germination des graines, l'induction de la callogenèse (MC), la régénération des pousses (MR), la prolifération de celles-ci (MP) et leur enracinement (ME). La composition de ces milieux est signalée au tableau 1. Le pH

Abréviations: ANA: acide naphthalène acétique; BA: Benzyl-adénine; AIB: acide indolyl-butyrrique; TDZ: thidiazuron.

* Laboratoire d'Agriculture Durable. Ecole Supérieure d'Horticulture, 4042 Chott Mariem, Sousse, Tunisie.

** Unité d'Ecophysiologie Végétale et Nutrition des Plantes. Faculté des Sciences de Tunis, Campus Universitaire, 1060 Tunis, Tunisie.

Reçu le 26.04.01. et accepté pour publication le 13.09.02.

Tableau 1
Composition chimique des milieux de culture utilisés pour la germination, la callogenèse (MC), la régénération (MR), la prolifération (MP) et l'enracinement (ME) de l'œillet 'Légion d'Honneur'. Le milieu de base MB est celui de Murashige et Skoog (15) pour les macro et les oligoéléments. Le milieu MB/2 représente le milieu MB dilué 2 fois

	Germination	Callogenèse (MC)	Régénération (MR)	Prolifération (MP)	Enracinement (ME)		
milieu de base (MB)	MB/2	MB/2	MB	MB/2	MB/2		
acide nicotinique (mg.l ⁻¹)	0,5	0,5	0	0,5	0		
pyridoxine-HCl (mg.l ⁻¹)	0,5	0,5	0	0,5	0		
thiamine-HCl (mg.l ⁻¹)	0,1	0,1	1	0,1	1		
glycine (mg.l ⁻¹)	2	2	0	2	0		
myo-inositol (mg.l ⁻¹)	0	100	100	100	0		
ANA (mg.l ⁻¹)	0	0,1	0,05	1	0		
AIB (mg.l ⁻¹)	0	0	0	0	0,5		
TDZ (mg.l ⁻¹)	0	0,1	0	0	0		
BA (mg.l ⁻¹)	0	0	2	0	0		
AgNO ₃ (mg.l ⁻¹)	0	0	10	0	0		
saccharose (g.l ⁻¹)	10	30	30	20	20		
agar-agar (g.l ⁻¹)	6	8	8	8	8		
NaCl (mM)	0	0	100	0	100	0	100

des milieux de culture est ajusté à 5,8. Les cultures sont conduites à une température de 24 ± 1 °C, sous un éclairage artificiel de $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et une photopériode de 16 h.

Les explants utilisés sont constitués de segments d'entre-nœuds de 5 à 7 mm de longueur et de 1 mm de diamètre, prélevés sur des plantules issues de semis. Les graines sont désinfectées à l'alcool à 70 ° pendant 5 s, puis à l'eau de Javel pendant 20 min et, enfin, ensemencées en conditions stériles jusqu'à l'obtention de plantules à 7 paires de feuilles. Les segments d'entre-nœuds sont repiqués horizontalement sur un milieu de callogenèse contenant de l'ANA et du TDZ et 2 concentrations de NaCl (0 et 100 mM). Chaque traitement comporte 48 explants. Les explants cultivés en absence de sel continuent à l'être dans toutes les étapes du protocole. De même, les explants soumis au départ à la salinité subissent cette contrainte jusqu'à la fin de la phase *in vitro*. Les cals, obtenus en présence comme en absence de NaCl, sont fragmentés et les microcals placés respectivement sur un milieu de régénération contenant du AgNO₃, additionné ou non de NaCl 100 mM. En vue de leur multiplication, les pousses régénérées ont été soumises à deux subcultures mensuelles sur un milieu de prolifération (MP). Au stade 2 paires de feuilles, les jeunes tiges sont transférées sur des milieux d'enracinement, en présence ou non de NaCl 100 mM. Chaque traitement comporte 72 explants. L'acclimatation des vitroplants se fait en mini-serre sous une humidité relative saturante et à une tempé-

rature de 25 °C. Après deux semaines, les plantules sont repiquées en pots de terre cuite de 16 cm de diamètre remplis de sable grossier. La culture est conduite en serre vitrée, jusqu'à la floraison des plantes, à une température de 25 ± 3 °C. L'arrosage est assuré avec une solution nutritive complète additionnée ou non de différentes doses de NaCl, de manière à obtenir les concentrations finales suivantes: 10, 35, 60, 85 et 110 mM NaCl. La solution 10 mM, préparée à partir d'eau courante, est prise comme témoin.

Résultats

1. Callogenèse

Le cal commence à se former d'un seul côté du segment d'entre-nœud, puis se généralise à l'ensemble de l'explant, ce qui suggère une certaine polarité de la callogenèse. Le tableau 2 montre qu'en absence de NaCl, la quasi-totalité des explants forme des cals après 3 semaines de culture. La présence de NaCl ralentit la callogenèse, sans trop modifier son taux final qui est de 92%. Sur milieu témoin, les cals sont globuleux, chlorophylliens et à structure compacte. En présence de NaCl 100 mM, les cals sont de couleur vert clair et présentent au contact du milieu de culture une légère coloration brunâtre (Figure 1). La masse de matière fraîche des cals, mesurée après 5 semaines de culture, est très affectée par la présence de NaCl dans le milieu (Figure 2). En effet, sur NaCl 100 mM, la masse moyenne des cals est de 60 mg et

Tableau 2
Pourcentage de callogenèse chez des segments d'entre-nœuds d'œillet 'Légion d'Honneur', prélevés sur des plantes-mère issues de semis *in vitro*, et cultivés sur le milieu de callogenèse (MC) en présence de NaCl 100 mM ou non (milieu témoin)

Durée de la culture	MC = MB/2 + ANA + TDZ	
	Témoin	NaCl 100 mM
semaine 1	0	0
semaine 2	93,0 ± 6,2 acd	25,2 ± 2,2 b
semaine 3	100 ± 7,1 ad	70,1 ± 5,3 c
semaine 4	100 ± 7,1 ad	80,8 ± 6,1 cd
semaine 5	100 ± 7,1 ad	92,0 ± 7,4 d

Nombre d'explants par traitement: 48.
 Les valeurs, avec intervalles de sécurité, suivies de lettres distinctes sont significativement différentes au seuil 5%.

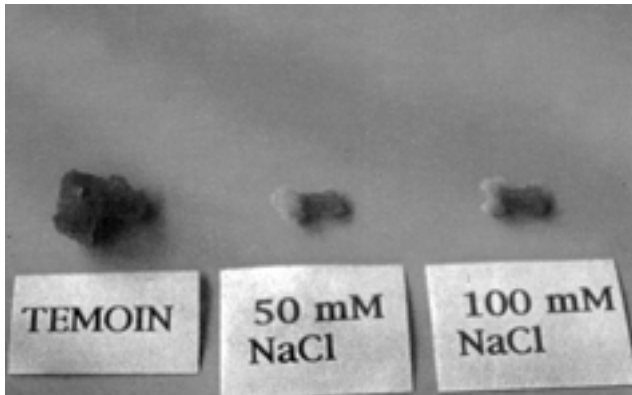


Figure 1: Aspect des cals issus de segments d'entre-nœuds d'œillet 'Légion d'Honneur', cultivés sur le milieu de callogenèse (MC) en présence de NaCl 100 mM. Le milieu témoin est dépourvu de sel.

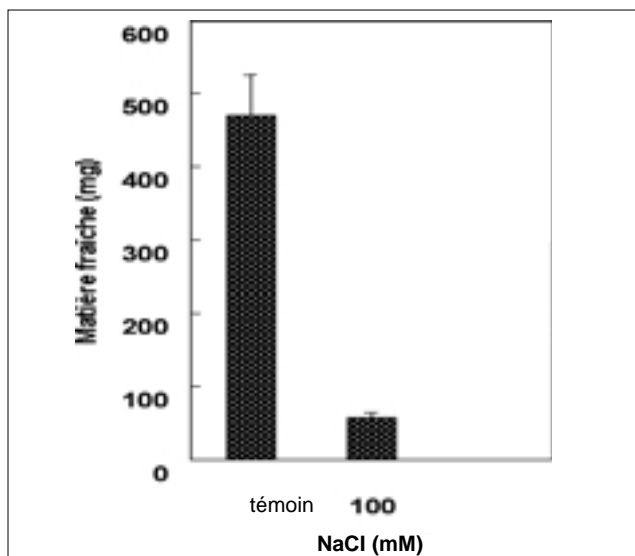


Figure 2: Masse de matière fraîche des cals issus de segments d'entre-nœuds d'œillet 'Légion d'Honneur', cultivés sur le milieu de callogenèse (MC) en présence de NaCl 100 mM. Le milieu témoin est dépourvu de sel.

ne représente plus que 12% de celle des cals témoins.

2. Régénération

Le taux de régénération obtenu après 4 semaines de culture sur milieu témoin est de 29% (Tableau 3). Sur ce milieu, les bourgeons néoformés se développent correctement donnant naissance à des pousses de couleur vert foncé (Figure 3). En présence de NaCl 100 mM, sur 1008 microcals mis en culture, un seul a permis la régénération d'une pousse.

Tableau 3
Pourcentage de régénération de pousses d'œillet 'Légion d'Honneur' à partir de cals issus de segments d'entre-nœuds sur le milieu de régénération (MR). Nombre d'explants au départ: témoin= 72; NaCl 100 mM= 1008

Durée de la culture	MR = MB + ANA + BA + AgNO3	
	Témoin	NaCl 100 mM
semaine 1	0	0
semaine 2	0	0
semaine 3	21 ± 2,3 a	0,1 ± 0 c
semaine 4	29 ± 3,3 b	0,1 ± 0 c

Les valeurs, avec intervalles de sécurité, suivies de lettres distinctes sont significativement différentes au seuil 5%.

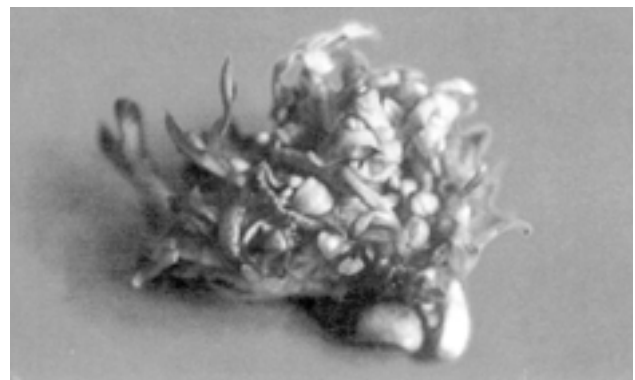
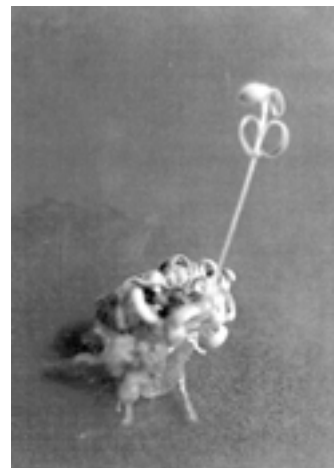


Figure 3: Régénération et croissance de pousses d'œillet 'Légion d'Honneur' à partir de cal issu de segment d'entre-nœud sur le milieu de régénération (MR).

3. Prolifération

Le taux de prolifération des pousses, après 4 semaines de culture, est légèrement diminué par la salinité du milieu. En effet, il passe de 10 chez le témoin à 8 en présence de NaCl 100 mM.

4. Enracinement

En présence d'AIB à 0,5 mg.l⁻¹, l'enracinement des pousses est satisfaisant, mais reste plus élevé en absence (93%) qu'en présence de NaCl (74%) (Tableau 4).

Tableau 4
Pourcentage d'enracinement de pousses d'œillet 'Légion d'Honneur' issues de régénération à partir de cals sur le milieu d'enracinement (ME)

Durée de la culture	ME = MB/2 +AIB	
	Témoin	NaCl 100 mM
semaine 1	0	0
semaine 2	76,6 ± 6,9 a	24,2 ± 2,5 c
semaine 3	81,2 ± 7,7 ab	48,4 ± 5,1 d
semaine 4	93,3 ± 9,2 b	74,2 ± 7,8 a

Nombre d'explants mis en culture: 72 par traitement.

Les valeurs, avec intervalles de sécurité, suivies de lettres distinctes sont significativement différentes au seuil 5%.

5. Culture en serre

Les plantules régénérées aussi bien en absence qu'en présence de NaCl, désignées respectivement vitroplants T et vitroplants S, ont montré des modifications morphologiques au cours de leur développement. Ces modifications concernent principalement l'aspect général de la fleur, la couleur des pétales, et la présence ou non de panachures. Ainsi, chez certains vitroplants, les fleurs sont simples et possèdent moins de pétales (Figure 4). Chez d'autres, les fleurs

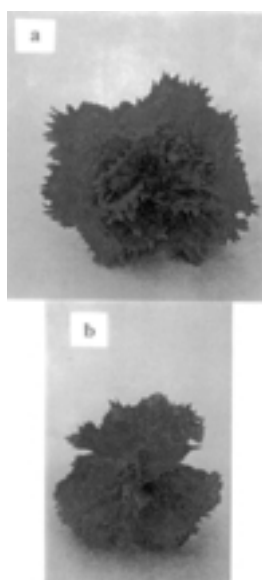


Figure 4: Vitrovariations touchant l'aspect de la fleur observées chez des vitroplants d'œillet 'Légion d'Honneur', régénérés à partir de cals et cultivés en pots sous serre: (a) fleur normale (double), (b) fleur simple.

sont roses ou gardent la couleur rouge, mais elle est moins intense. Enfin, certains individus produisent des fleurs avec une panachure de couleur blanche, plus ou moins importante des pétales. Cette panachure est surtout visible sur la face inférieure des pétales (Figure 5).

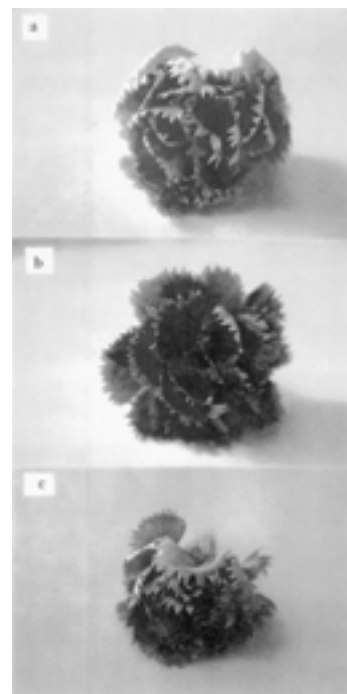


Figure 5: Vitrovariations touchant la couleur de la fleur observées chez des vitroplants d'œillet 'Légion d'Honneur', régénérés à partir de cals et cultivés en pots sous serre: (a) couleur rose, (b) couleur rouge clair, (c) présence de panachure.

Par ailleurs, la phase de développement végétatif, chez les vitroplants S, s'étale sur une période anormalement longue, dépassant une année, alors que cette période est de 5 à 7 mois seulement chez les vitroplants T. De plus, la tige présente, au moment de l'entrée en floraison, un allongement exagéré, excédant dans certains cas le double de la longueur habituellement atteinte chez les vitroplants T. Ainsi, sur le milieu témoin (NaCl 10 mM), la longueur de la tige principale à la floraison atteint 115 cm chez les vitroplants S alors qu'elle n'est que de 48 cm seulement chez les vitroplants T.

6. Evaluation agronomique

Pour pouvoir évaluer, agronomiquement, la tolérance à la salinité chez l'œillet, il est impératif de juger sa production florale. La masse de matière fraîche des fleurs produites par plante est en faveur des plantes régénérées en absence de sel (vitroplants T). Toutefois, les différences vont en s'atténuant avec l'augmentation de la concentration de NaCl dans la solution d'arrosage. L'expression de ces résultats en pourcent du témoin montre que la production florale est relativement plus affectée par le sel chez les vitroplants T (Figure 6). Ainsi, la tolérance relative à la salinité devient meilleure chez les plantes régénérées

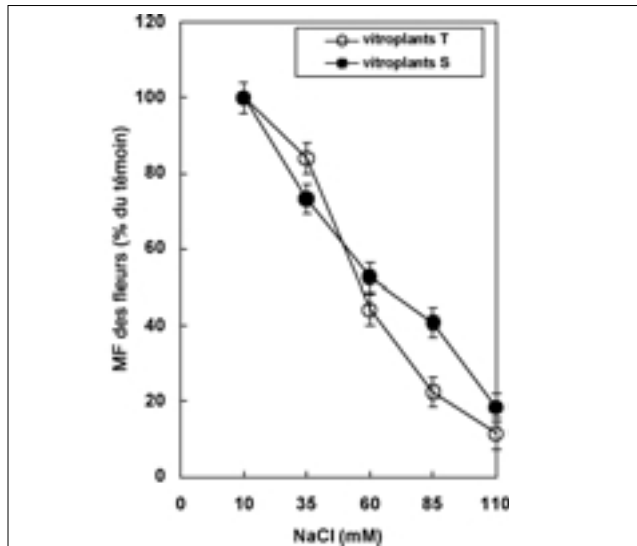


Figure 6: Effet de la salinité sur la production relative des vitroplants régénérés en absence (vitroplants T) ou en présence de NaCl (vitroplants S), appréciée par la masse de matière fraîche (MF) des fleurs produites par plante exprimée en pour-cent du témoin (NaCl 10 mM). Les plantes ont été cultivées en pots sous serre et arrosées avec des solutions à différentes concentrations de NaCl. Les intervalles de sécurité sont calculés au seuil 95%.

sous stress (vitroplants S) pour les doses de NaCl supérieures à 35 mM.

Discussion

La technique de régénération des plantes sous une pression sélective, par addition d'un agent stressant comme NaCl, a été utilisée pour diverses espèces, dans un but d'amélioration de la tolérance à la salinité. Plus particulièrement, la culture *in vitro* a permis de sélectionner des variants tolérants au sel en utilisant des cellules isolées, des cals ou des tissus organisés. Plusieurs plantes ont pu ainsi être régénérées sous stress salin à partir de cals cellulaires: orge (1), blé (18), pomme de terre (8) et *Citrus* (3).

Dans notre expérimentation, la régénération de plantes d'œillet a pu être obtenue à partir de segments d'entre-nœuds, en présence ou en absence de NaCl 100 mM dans les milieux de callogenèse et de régénération. Dans ces conditions, la salinité ralentit la callogenèse, sans l'inhiber complètement. Elle diminue le taux de callogenèse de 8%, mais c'est la croissance des cals qui est la plus affectée par le sel. D'autre part, le fait le plus marquant est que le taux de régénération sous stress salin, par néoformation à partir de cals cellulaires, est très faible et ne dépasse

pas 1 pour 1000. Cet effet inhibiteur de NaCl sur l'organogenèse a été observé chez d'autres espèces, comme la pomme de terre (8) ou le tabac (22). Des résultats similaires sont aussi obtenus par Beloualy et Bouharmont (3) chez le *Citrus* où 2 cas seulement sur un effectif de 10^4 ont présenté une aptitude à la régénération en présence de NaCl. Cette rareté des individus survivants en présence d'un agent stressant milite en faveur de l'acquisition de la tolérance.

La pression sélective par NaCl peut être appliquée pendant la phase de callogenèse et/ou de régénération. Quand la présence de sel n'inhibe pas totalement le processus de régénération lui-même, son addition dans le milieu peut augmenter la probabilité de régénération des plantes tolérantes (16). Dans la majorité des cas, le sel est appliqué d'emblée dans des conditions provoquant une inhibition marquée de la croissance cellulaire. Par contre, l'application d'une pression sélective graduelle peut favoriser la mise en place de mécanismes d'acclimatation qui ne subsistent pas toujours chez les plantes régénérées (14).

L'utilisation de la BA a facilité la régénération des pousses. En effet, cette cytokinine est connue pour ses effets stimulateurs sur la néoformation de bourgeons adventifs chez l'œillet (11, 19). Par ailleurs, l'addition d'ions Ag^+ est nécessaire pour stimuler la néoformation des bourgeons (8). Selon Songstad *et al.* (20), Ag^+ ralentit la synthèse d'éthylène, facteur défavorable à la régénération.

Les plantes régénérées à partir de cals, en absence et en présence de NaCl, ont présenté des indices de vitrovariations qui se sont exprimés essentiellement au niveau de la pigmentation de la fleur. Nous pouvons estimer que les variations somaclonales qui ont touché la coloration de la fleur (couleur rose, présence de panachure...) offrent un matériel végétal nouveau qui peut être exploité avantageusement pour la production de fleurs coupées d'œillet ou pour la décoration des jardins et des massifs. Par contre, les variations qui ont concerné l'aspect général de la fleur (fleurs simples) sont loin d'être intéressantes sur le plan commercial.

En définitive, la régénération *in vitro* de l'œillet 'Légion d'Honneur' est possible à partir de segments d'entre-nœuds. La salinité a pour effet de ralentir la callogenèse et de diminuer considérablement le taux de régénération. L'enracinement des pousses est satisfaisant en présence d'AIB $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ et son taux est diminué par la salinité. L'exploitation de la variation somaclonale peut conduire à l'amélioration de la tolérance au sel et l'acquisition de ce caractère *in vitro* peut être transmis aux plantes obtenues par clonage.

Références bibliographiques

1. Aboel M., 1990, Selection of salt tolerant embryogenic cell lines of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.). In: Progress in plant cellular and molecular biology. Abstract of the VIIth International Congress on plant tissue and cell culture. Ed. Nijkampa H., Vanderplas L. and Artrijk J. Kluwer Academic Publishers, Amsterdam, 146.
2. Amita J., Husain S. & Kothari S.L., 1997, Micropropagation of *Dianthus caryophyllus* L. Control of vitrification. J. Plant Biochem. Biotech. 6, 35-37.
3. Beloualy N. & Bouharmont J., 1993, Amélioration de la tolérance à la salinité par sélection *in vitro* chez deux porte-greffes de *Citrus*. In: Le progrès génétique passe-t-il par le repérage et l'inventaire des gènes? Ed. AUPELF-UREF John Libbey Eurotext, Paris, 301-304.
4. Collin H.A., Burton F.M., Ibrahim K.M. & Collins J.C., 1990, Transmission of salt tolerance from tissue culture to seed progeny in *Coleus blumei*. In: Progress in plant cellular and molecular biology. Abstract of the VIIth

- International Congress on Plant tissue and cell culture. Ed. Nijkampa H., Vanderplas L. and Artrijk J., Amsterdam, 151.
5. Dix P.J., 1980, Environmental stress resistance: selection in plant cell cultures. *In: Plant Cell Cultures: results and perspectives*. Ed. Sala I., Parisi B., Cella R. and Ciferri O. Elsevier, Amsterdam, 183-186.
 6. Frey L. & Janick J., 1991, Organogenesis in carnation. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **116** (6), 1108-1112.
 7. Gimelli F., Ginatta G.B., Venturo R. & Positano S. & Buiatti M., 1984, Plantlet regeneration from petals and floral induction *in vitro* in the mediterranean carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Riv. Ortoflorofruitt. Ital.* **68**, 107-121.
 8. Hannachi C., 1996, Amélioration de la tolérance de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) à la salinité (NaCl) par voie biotechnologique. Thèse de Doctorat, Gand (Belgique), 152 p.
 9. Jain R.K., Chowdhory J.B. & Jain S., 1990, Development of genetically stable salt-tolerant somaclones of *Brassica juncea*. *In: Progress in plant cellular and molecular biology. VIIth International Congress on plant tissue and cell culture*. Ed. Nijkampa H., Vanderplas L. and Artrijk J. Kluwer academic publishers, Amsterdam, 151.
 10. Kochba I.D., Ben Hayyim G., Spiegel-Roy R., Saad S. & Newman H., 1982, Selection of stable salt tolerant callus cell lines and embryos in *Citrus sinensis* L. and *C. aurantium* L. *Z. Pflanzenphysiol.* **106**, 111-118.
 11. Leshem B., 1986, Carnation plantlets from vitrified plants as a source of somaclonal variation. *HortScience*, **21** (2), 320-321.
 12. Levigneron A., Lopez F., Vansuyt G., Berthomieu P., Fourcroy P. & Casse-Delbart F., 1995, Les plantes face au stress salin. *Cahiers Agricultures*, **4**, 263-273.
 13. Maas E.V., 1986, Salt tolerance of plants. *Applied Agricultural Research*, vol **1**, n° **1**, 12-26.
 14. Mc Hughen A., 1987, Salt tolerance through increased vigor in a flax line (STS-11) selected for salt tolerance *in vitro*. *Theor. Appl. Genet.* **74**, 727-732.
 15. Murashige T. & Skoog F., 1962, A medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, **15**, 473-497.
 16. Nabors M.W., Gibbs S.E., Bernstein C.S. & Neis M.E., 1980, NaCl-tolerant tobacco plants from cultured cells. *Z. Pflanzenphysiol.* **97**, 13-17.
 17. Petru E. & Landa Z., 1974, Organogenesis in isolated carnation plant callus tissue cultivated *in vitro*. *Biologia Plant*, **16**, 450-453.
 18. Piri K., 1991, Contribution à la sélection *in vitro* de plantes androgéniques de blé pour leur tolérance au NaCl. Thèse de Doctorat, Gembloux (Belgique), 168 p.
 19. Radojevic L., Djordjevic N. & Petrovic J., 1989, *In vitro* culture techniques for carnation cultivars breeding. *Intl. Symp. In vitro Culture and Hort. Breeding*, Cesena, Italy, 30 May-3 June 1989.
 20. Songstad D.D., Armstrong C.L. & Petersen W.L., 1991, AgNO₃ increases type II callus production from immature embryos of maize inbred B 73 and its derivatives. *Plant Cell. Rep.* **9**, 699-702.
 21. Sonneveld C. & Voogt W., 1983, Studies on the salt tolerance of some flower crops grown under glass. *Plant and Soil*, **74**, 41-52.
 22. Sumaryati S., Negrutiu I. & Jacobs M., 1992, Salt and water stress resistant mutants isolated from protoplast of *Nicotiana plumbaginifolia* (Viviani). *Med. Fac. Lanbouww. Univ. Gent.* **57/4a**, 1507-1516.
 23. Takeda Y., 1978, Carnation mubyo-nae no ikusei. *In: Enqei-shokubutu no kikan to soshiki no baiyo*. Ed. S. Kako, Seibundo-Shinko-sha, Tokyo, 114-147.
 24. Zenk M.H., 1974, Haploids in physiological and biochemical research. *In: Haploids in higher plants: Advances and potential*. Ed. Kasha K.J. Univ. Guelph Press, Ontario (Canada), 339-354.

F. Haouala, Tunisien, Dr. en Biologie, Maître-Assistant, Ecole Supérieure d'Horticulture de Chott Mariem, Tunisie.

C. Hannachi, Tunisien, Dr. en Sciences Agronomiques, Maître de Conférences, Ecole Supérieure d'Horticulture de Chott Mariem, Tunisie.

E. Zid, Tunisien, Dr. es Sciences Naturelles, Professeur, Faculté des Sciences de Tunis, Tunisie.

ERRATA

Volume 20,2 page 2 de couverture, au sommaire, page 83 ainsi que page 4 de couverture au contents, lire J.T.C. Codjia au lieu de J.-C. Codjia.

Nodulation Effectivity, N-Accumulation and Yield of Soybean (*Glycine max*) in a Clayloam Soil Treated with Pre- and Post-Emergence Herbicides

M.A.N. Anikwe*, C.I. Okonkwo+ & C.N. Mbah+

Keywords: *Rhizobium*- N-accumulation- Herbicides- Soybean

Summary

Introduction of exogenous micro-organisms in the rhizosphere of crop plants for plant growth enhancement requires a careful study of factors affecting their performance. We studied the effect of pre-and post-emergence herbicides on nodulation, N-accumulation and yield of soybean inoculated with exotic Rhizobium strains in a Dystric Leptosol. The treatments comprising a control with no herbicide treatment, a pre-emergence herbicide treatment and a combination of pre-and post-emergence herbicide treatment were set out in the field using a randomized complete block design. The results show that both post-emergence and a combination of pre- and post-emergence herbicide treatments applied at 3 weeks after planting reduced nodulation, shoot dry weight, N-accumulation in the biomass and seed yield. Pre-emergence herbicide application reduced weed density and sparingly affected nodule dry weight, N-accumulation and seed yield. The results of the work suggest that selection and timing of herbicide application in soybean plots affect weed competition, nodulation, N-accumulation and overall performance of the crop in the field.

Résumé

Etude de la nodulation, de la fixation de l'azote et du rendement du soja (*Glycine max*) cultivé sur un sol limono- argileux traité avec des herbicides en pré- et post-levée

L'utilisation des microorganismes exogènes dans le rhizosphère pour accroître la croissance des plantes requiert une étude préalable des facteurs affectant leurs performances. L'effet des herbicides appliqués en pré-levée et post-levée sur la nodulation, la fixation de l'azote et le rendement du soja cultivé dans un leptosol dystrique, inoculé avec des souches exotiques de Rhizobium a été étudié dans un essai réalisé en blocs aléatoires (un témoin sans herbicides, un traitement d'herbicides en pré-levée et une combinaison d'herbicides appliqués en pré-levée et en post-levée). Les résultats obtenus montrent que les deux applications (application d'herbicides en pré-levée et la combinaison d'herbicides appliqués en pré-levée et en post-levée) réalisées trois semaines après le semis réduisent d'une manière significative la nodulation, le poids sec des tiges, la fixation de l'azote dans la biomasse ainsi que le rendement en graines. L'application d'herbicide en pré-émergence réduit la densité des adventices et affecte modérément le poids sec des nodules, l'accumulation d'azote et le rendement en graine. Cet essai montre également que le temps d'application des herbicides a un effet significatif sur la compétition du soja avec des adventices, un effet sur sa nodulation ainsi que sur sa capacité de fixation de l'azote et également sur toutes les performances de la plante.

Introduction

In the tropics, weeds constitute a major impediment in the production of improved crop cultivars, particularly food legumes such as soybean (2). They can reduce yield by over 80 percent, depending on the density and species of weed (9). Those commonly associated with soybean are Barnyard grass (*Echinochloa* sp.), *Amaranthus spinosus*, volunteer cereals, nightshade (*Solanum* sp.), and nutsedge (*Cyperus* sp.) (12). Volunteer cereals are cereal crops, maize (*Zea mays* L.), sorghum (*Sorghum bicolor*), millet (*Pennisetum* sp.) etc. from previous years cropping whose seeds germinate and grow in the field in the concurrent sea-

son. They were not planted by the farmer and are technically weeds.

Weeds interfere with crops by competing for nutrients, water and light. They may also introduce allelochemicals into the habitat they share with crops. The effects of weed interference may at first be reduced plant vigour, delayed development, or suppression of specific growth characters such as flowering and fruit formation. But the ultimate effect is reduction of crop yield.

Some yield components are good indicators of weed competition in soybean (13). These indicators are: leaf

*Corresponding Author's E-mail Address: anikwema@yahoo.co.uk

+Department of Agronomy and Ecological Management, Faculty of Agriculture, Enugu State University of Science and Technology, P.M.B. 01660 Enugu, Nigeria.

+Department of Soil Science, Ebonyi State University, P.M.B.053 Abakaliki, Nigeria.

Received on 25.09.01. and accepted for publication on 26.09.02.

area index (LAI), shoot dry weight and plant height. All of these yield indicators are reduced when weeds adversely affect grain yield (9).

The data available for weed infestation of soybean in tropical environments show that weeds reduce crop quality and yield by as much as 40-80% (9, 13). They also indicate that soybeans in weed-infested fields are more liable to lodging than those in fields where weeds are adequately controlled because weeds remove some nutrients that would otherwise have been used by the plants, thus leaving the plants spindly, etiolated, and liable to lodging.

Control of weeds in soybean production can be done through cultural methods, biological control, and chemical control using herbicides. Herbicides are the key products in sustaining large-scale agricultural production but in order to minimize agro-environmental concerns regarding their use, continued assessment of their behaviour under different management practices is required. Information on the effect of applied herbicide on nodulation and overall performance of soybean is important to agricultural extension workers and farmers who grow soybean.

The objective of this work is to study the effect of pre- and post-emergence herbicide on nodulation, N-accumulation, crop characteristics and yield of soybean grown under field conditions.

Material and methods

The experiment was conducted in the experimental farm of the Faculty of Agriculture, Ebonyi State University, Abakaliki, Nigeria. Abakaliki is located between latitude 06° 04'N and longitude 08° 65'E in the derived Savanna zone of the southeast agro-ecological zone of Nigeria. The climate is typical of the humid tropical zone. High temperature and high precipitation characterize the area. Annual rainfall is between 1800 – 2000 mm concentrated between April and November. Mean relative humidity is 65-80 percent during the rainy months in the study site. The soil of the study site is classified as Dystric Leptosol (4).

A composite soil sample (Table 1) was taken at the depth of 0-20 cm at the beginning of the experiment and was analyzed for pH in 1:2.5 soil-water suspension (11).

Particle size distribution was analyzed by the hydrometer method (8). Total nitrogen was determined using the modified Kjeldahl Method (5). Available phosphorus was determined by Bray-2 method as outlined in Page *et al.* (16) while exchangeable calcium, magnesium and total acidity were determined by the procedure described by Tel and Rao (18). The rhizobial population per gram of soil was estimated with cowpea, using the most probable number method (3). Organic carbon was analyzed according to the procedure set out by Nelson and Sommers (14).

The experiment was laid out in a Randomized Complete Block Design (RCBD) with four replications and four treatments on a soil with no history of soybean cultivation. The treatments consisted of a control plot with no herbicide application, a pre-emergence herbicide – Gramaxone (Paraquat) applied immediately after planting at the rate of 1.5 kg active ingredi-

Table 1
Some physicochemical properties of the study soil

Sand (%)	48.2
Salt (%)	32.0
Clay (%)	17.8
pH (H ₂ O)	4.9
C (%)	0.87
N (%)	0.08
P (mg.kg ⁻¹)	3.10
Ca (cmol (+).kg ⁻¹)	1.51
Mg (cmol (+).kg ⁻¹)	0.06
K (cmol (+).kg ⁻¹)	0.20
CEC (cmol (+).kg ⁻¹)	6.34
Total acidity (cmol (+).kg ⁻¹)	3.13

ent (a.i.).ha⁻¹, a post-emergence herbicide (Fluazifop-butyl) at the rate of 1.5 kg (a.i.).ha⁻¹ applied 21 days after planting (DAP) and a mixture of the pre- and post-emergence herbicide at the rate of 1.5 kg (a.i.).ha⁻¹ applied at 21 DAP. Active ingredients were supplied to the plots with water acting as the carrier. Herbicides were applied manually using a Knapsack sprayer.

Experimental plots were 3 m x 3 m prepared into a sunken bed with raised ridges around each plot to minimize treatment contamination. Planting was done with early maturing soybean variety TGX 1485-E which is an erect variety with no lodging obtained from the International Institute for Tropical Agriculture (IITA), Ibadan. Soybean was inoculated with a mixture of exotic strains of *Rhizobium japonicum* (R25B + IRJ 2180a) prepared from peat and gum arabic solution as recommended by Vincent (19). Inoculated seeds were planted using an intra- and inter-row spacing of 15 cm x 25 cm. Two seeds were planted per hill and thinned down to one plant per hill at 7 DAP, thus given a plant population of 57,600 stands.ha⁻¹. Weeding was done manually at 42 and 63 DAP in all plots and weed density obtained by collecting all weeds from each plot and measuring fresh weed weight in the field at 42 and 63 DAP, respectively.

At 42 DAP and 63 DAP, 5 plants were sampled per plot. The plants were separated into shoot and root and the shoot was dried at 65 °C, weighed and the dried shoot ground to pass through a 0.4 mm sieve. Nitrogen content of the tissues was determined by the method outlined by Ferrari (7). Nodule number, taproot nodule and dry weight were also determined. Leaf area index was estimated at 42 and 63 DAP using the formula:

Number of plants per m² x number of leaves.plant⁻¹ x leaf area (m²) / Area of ground covered (m²) (20). At

Table 2
Effect of pre-and post-emergence herbicide application on crop growth characteristics

Treatment	Plant height (cm.plant ⁻¹)		Shoot dry weight		LA _a (cm ²)		Weed density (kg.ha ⁻¹)	
	Days after planting (DAP)							
	42	63	42	63	42	63	42	63
Control	42.58	98.08	18.30	28.94	2.90	3.07	112	311
Pre-Emergence	34.99	63.22	24.80	52.64	3.67	4.39	24	127
Post-Emergence	36.84	4.94	16.50	23.40	1.74	2.65	54	144
Pre and Post Emergence	34.66	48.79	25.60	4.20	2.85	3.96	35	107
F- LSD (0.05)	2.48	6.20	3.70	6.90	0.96	1.04	10.8	16.2

a- Leaf area index

DAP= Days after planting

F-LSD (0.05)

maturity, seed yield was measured in an area of 2.5 m x 2.5 m.

Results and discussion

Effect of pre- and post-emergence herbicide application on crop growth characteristics

The different treatments affected the plant height, shoot dry weight, leaf area index and weed density of the plots in varying degree (Table 2).

Plants were taller ($P= 0.05$) in control plots (no herbicide treatment) by about 13-18% at 42 DAP. However, no significant treatment difference ($P < 0.05$) in plant height was observed between the pre- and post-emergence herbicide treatments used singly or in combination. At 63 DAP, plant height increased significantly ($P < 0.05$) in the control plots relative to plots treated with pre-emergence, post-emergence and a combination of both herbicides by about 35, 43 and 50% respectively. Similarly, plots treated with pre-emergence herbicide had taller plants than plots treated with post-emergence herbicide by 13 and 23%, respectively. However, no significant treatment difference in plant height was observed between plots treated with post-emergence herbicide and combinations of both pre- and post-emergence herbicides at 63 DAP. Prominent weed species found in the plots were *Imperata cylindrica*, *Tridax procumbens*, *Cyperus rotundus*, *Solanum* sp., *Sida acuta*, and *Amaranthus spinosus*. Early weed competition may have induced plants to grow tall because of competition for light and space. This result was corroborated by the findings of Akobundu and Poku (2).

The results also indicate that shoot dry weight significantly increased ($P < 0.05$) in plots treated with pre-emergence herbicide relative to untreated plots at both 42 and 63 DAP by about 26 and 45%, respectively. In plots treated with a combination of pre- and post-emergence herbicides, shoot dry weight also increased significantly ($P < 0.05$) by between 28 and 34% at 42 and 63 DAP, respectively (Table 2). However, no significant treatment difference was observed between plots treated with post-emergence herbicide

and control plots. This indicates that the critical period of weed interference (the period in which if weed is not removed, it will cause the most damage) for shoot dry weight of soybean is within the early growth stages.

Higher leaf area index was also observed in plots treated with pre-emergence herbicide relative to other treatments at 63 DAP by about 30 and 39% for control and post-emergence herbicide treatments respectively. However, no significant treatment differences in leaf area index were observed between plots treated with pre-emergence herbicide and a combination of pre- and post-emergence herbicides. It was observed that plants in control plots despite early plant height increments were spindly and etiolated, probably as a result of competition with weeds for sunlight, space and nutrients. Akobundu and Poku (2) elucidated that while competition between soybean plants and weeds for light may be of little importance, the allelopathic effect and the large consumption of nutrients and water by weeds may be responsible for soybean production losses. The results suggest that proper vegetative growth in soybean plots can only be achieved if weeds are adequately controlled. This evidence is further supported by the fact that higher (about 78 and 59%) weed density (kg.ha⁻¹) was found in the control plots at both 42 and 63 DAP, respectively (Table 2). Lower weed densities were also observed in plots treated with a combination of pre- and post-emergence herbicides at both 42 and 63 DAP relative to the control plots. The higher weed density observed in the control plots suggest that weeds must have interfered with plant growth resulting in reduced plant vigour and suppression of developmental characteristics of the soybean when compared to the herbicide treated plots.

Effect of pre- and post-emergence herbicide on nodulation, N-accumulation and seed yield

The effect of the treatments on nodulation, N-accumulation and seed yield of soybean is presented in table 3.

Table 3
Effect of pre- and post-emergence herbicides on nodulation, N-accumulation and seed yield

Treatment	Taproot of nodules (number.plant ⁻¹)		Total number of nodules (number.plant ⁻¹)		Nodule- dry weight (mg.plant ⁻¹)		N-accumulation (mg.plant ⁻¹)		Seed yield (kg.ha ⁻¹)	
	Days after planting (DAP)									
	42	63	42	63	42	63	42	63		
Control	67	25	128	84	320	141	315	492	1939	
Pre-emergence	59	32	102	69	592	197	462	732	2154	
Post-emergence	10	6	31	15	74	35	162	201	1476	
Pre- and post-emergence	12	4	38	19	86	37	198	277	1606	
F-LSD (0.05)	8.2	3.2	15	9	58	22	124	151	284	

Higher total number of nodules was found in control plots at both 42 and 63 DAP. These were significantly higher ($P < 0.05$) than the number of nodules found in plots treated with pre-emergence herbicide by between 18-20% at 42 and 63 DAP, respectively. The total number of nodules in the control plots also exceeded that in plots treated with post-emergence herbicide by between 76-82% at both 42 and 63 DAP. Plots treated with a combination of pre- and post-emergence herbicide also had lower total number of nodules relative to control (about 70% at both 42 and 63 DAP). The results are indicative that the herbicide treatments may have negatively affected nodulation especially in plots treated with post-emergence and a combination of pre- and post-emergence treatments. Plants grown on these two plots may have been adversely affected because the treatments were applied later (at 21 DAP) in contrast to the pre-emergence herbicide treatments applied at planting time. These results probably suggest that the ecotoxicological effect of some applied agrochemical diminish with time in the soil. Lower number of taproot nodules was observed in plots treated with post-emergence and a combination of pre- and post-emergence herbicides. These were significantly lower ($P < 0.05$) than in plots treated with pre-emergence herbicide alone by about 79-87% at both 42 and 63 DAP. However, no significant treatment difference in number of taproot nodules was found between the control plots and those treated with pre-emergence herbicide. The lower number of taproot nodules in plots treated with post-emergence herbicide probably indicates that the *Rhizobium* strain used for inoculation may have been adversely affected. Presence of nodules on the taproots show that the inoculants brought about nodulation (17).

The nodule dry weight and nitrogen concentration per plant were also affected by the treatments (Table 3). However, there was no significant relationship between nodule dry weight.plant⁻¹ and number of nodules per plant in the different treatment applications. Higher nodule dry weight.plant⁻¹ was found in plots treated with pre-emergence herbicide. At 42 DAP, this was significantly higher ($P < 0.05$) than for the other treatments by 45, 88 and 85% for control,

combination of pre- and post-emergence herbicide and post-emergence herbicide treatments, respectively. Similar differences were recorded at 63 DAP. The results clearly indicate that plots with the highest number of nodules.plant⁻¹ did not coincide with the plots with the highest nodule dry weight.plant⁻¹. Similar observations were made by Okonkwo and Nnoke (15) where soybean plants with few nodules on their roots, were shown to grow much larger and have more weight than those with more nodules.

Higher N-accumulation (mg.plant⁻¹) was found in plants samples collected from plots treated with pre-emergence herbicide relative to other treatments. This was significantly higher ($P < 0.05$) than in control plots; plots treated with post-emergence herbicide and a combination of pre- and post-emergence herbicide by about 32, 65-73 and 57-62%, respectively at, both 42 and 63 DAP. However, despite the fact that a higher nodule dry weight.plant⁻¹ was found at 42 DAP, N-accumulation per plant was higher ($P < 0.05$) at 63 DAP for all plots. This result suggests that the concurrent crop use at least part of the nitrogen 'fixed' by the legume-*Rhizobium* association. This statement is supported by the fact that the plots with the highest nodule dry weight.plant⁻¹ coincided with the plots with the highest N-accumulation.

The highest seed yield of soybean (2.2 ton.ha⁻¹) was observed in the plots treated with pre-emergence herbicide although this was statistically comparable to the untreated plots (control). Seed yields from plots treated with post-emergence and a combination of pre- and post-emergence herbicides were slightly lower (about 31%) relative to plots treated with pre-emergence herbicide. The results indicate that seed yield has relationship with both N-accumulation and nodule dry weight. This indicates that the root nodules of soybean in plots with pre-emergence herbicide and untreated plots were effectively nodulated and 'fixed' nitrogen more than other plots. Although the application of both pre- and post-emergence herbicides either as a single treatment or in combination in this work controlled weeds, seed yield increased by at least 25% in plots treated with pre-emergence herbicide relative to other herbicide treatments. These results are

in contrast with the work of Akobundu (1), who found that herbicides control weeds effectively, reduce production cost and increase yields of soybean. However, the results corroborate the work of Eaton *et al.* (6) who found little or no reduction in yield of soybean if the crop is kept relatively weed-free for the first 28 days after planting. In this work, post-emergence and a combination of pre- and post-emergence herbicides were applied at 21 DAP hence the reduction in seed yield as a result of weed infestation and probably, interference with activities of *Rhizobium* bacteria. Martinez-Toledo *et al.* (10) studied the effect of Captan on microbial functions in four agricultural soils under aerobic conditions and found that total fungal population, nitrifying bacteria, aerobic N-fixing bacteria and nitrogenase activity were significantly decreased at dose rates of 2.0 to 10.0 kg.ha⁻¹.

The results of this study show that the timing of herbicide application is important for weed control, nodulation, N-accumulation, and overall performance of soybean. This is because the use of pre-emergence herbicide in this work controlled weeds effectively, affected the inoculants and their capability sparingly and contributed to the overall productivity of the soybean. The use of pre-emergence herbicide affected nodulation and N-accumulation sparingly probably because the nodules were not yet formed at the time of application and microbial detoxification may have reduced the herbicide concentration before the appearance of the root nodules.

Conclusion

Results from this study show that the use of pre- and post-emergence herbicides and their combination affect plant growth characteristics such as plant height, shoot dry weight, and leaf area index in varying degrees. Plants were taller at the early stages of

growth (42 DAP) in control plots relative to herbicide-treated plots probably because competition for light and space may have induced plants in control plots to be taller.

Results also show that shoot dry weight and leaf area index were higher by between 26-45% in plots treated with pre-emergence herbicide when compared to control plots. However, no significant treatment differences in shoot dry weight and leaf area index were found between plots treated with post-emergence herbicide and a combination of pre- and post-emergence herbicide. Higher weed density (59-78%) was found in the control plots when compared to herbicide-treated plots. However, lower ($P= 0.05$) weed densities were found in plots treated with pre-emergence herbicide.

Higher numbers of root nodules were found in control plots at both 42 and 63 DAP when compared to herbicide-treated plots. This result probably indicated that herbicide application affected nodulation negatively. However, higher N-accumulation (mg.plant⁻¹) was found in plots treated with pre-emergence herbicide relative to other treatments. The highest seed yield was found in plots treated with pre-emergence herbicide but it was statistically comparable to yield in the control plots.

Although, herbicides have been used to control weeds effectively, to reduce production costs and to increase yields, their effect on nodulation, N-accumulation and seed yield as observed in this work indicates that the type of herbicide and time of application is to be put into consideration. Food legumes when grown under field conditions are particularly vulnerable to weed interference and some studies suggest that losses in yields of soybeans can be predicted from weed densities. In all, the use of pre-emergence herbicides to control weeds should be adopted if increased soybean yield is to be achieved.

Literature

1. Akobundu I.O., 1980, Economics of weed control in African Tropics and Sub-tropics. Proceedings of the 1980 British Crop Protection Society Conference, pp. 911-919.
2. Akobundu I.O. & Poku J.A., 1987, Weed control in soybeans in the Tropics. *In: Soybean for the Tropics*. Ed. S.R. Singh, K.O. Rachie and K.E. Dashiell. 1987. John Wiley & Sons Ltd. pp. 69-77.
3. Alexander M., 1982, Most probable number method for microbial population. *In: Page et al.*, (ed.). *Methods of Soil Analysis Part 2*. 2nd Ed. Agronomy, 9, 815-820.
4. Anikwe M.A.N., Okonkwo C. I. & Anikwe N. L., 1999, Effect of land use on selected soil properties in the Abakaliki Agro-economical zone, south-eastern Nigeria. *Journal of Environment Education*, **18**(1), 79-84.
5. Bremner J.M., 1982, Total Nitrogen. *In: Page A.L., Miller R.H. and Keeney D.R.* (Ed.) *Methods of Soil Analysis 2. Chemical and Microbiological properties*. Agronomy Monograph No. 9 (2nd Ed). Madison. Wisconsin. U.S.A. American Society of Agronomy, 915-928.
6. Eaton B.J., Russ O.G. & Felner K.G., 1976, Competition of velvetleaf; prickly sida, and venice mallow in soybeans, *weed science*, **24**, 224-228.
7. Ferrari A., 1960, Nitrogen determination by a continuous digestion and analysis system. *New York Academy of Science*, **87**, 792-860.
8. Gee G.W. & Bauder J.W. 1986, Particle-size analysis. *In: Klute A.* (Ed) *methods of Soil Analysis. Part 1. Second Edition*. American Society of Agronomy, Inc, Madison.
9. Haygood E.S. Jr., Bauman T.T., Williams J.L. Jr. & Schreiber M.M., 1980, Growth analysis of soybeans (*Glycine max*) in competition with velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) *Weed Science*, **28**, 729-734.
10. Martinez-Toledo M.V.V., Salmeron B., Rhodes Pozo C. & Gonazalez J., 1998, Effect of the fungicide captan on some functional groups of soil micro flora. *Applied Soil Ecology*, **7**, 245-255.
11. Mclean E.O., 1982, Soil pH and lime requirement. *In: Page A.L.* (ed.). *Methods of soil analysis. Part 2. Second edition*. American society of Agronomy Inc, Madison.
12. McClellan W.D. & Hill J.E., 1981, Weed control in irrigated soybeans. *In: Judy W.H. & Jacobs J.A.* (Ed). *Irrigated soybean production in arid and semi-arid regions*. Proceedings of a conference held in Cairo, Egypt. 31st August – 6th September, 1979, INTSOY Series no. 20.
13. Nnagju D., 1980, Effect of amount density, spatial arrangement, and plant type on weed control in cowpea and soybean. *In: Akobundu I.O.* (Ed). *Weeds and their control in the Humid and Subhumid Tropics*, Ibadan Nigeria. IITA. Proceedings Series, **3**, 288-299.
14. Nelson D.W. & Sommers L.E., 1982, Total Carbon, Organic Carbon and Organic Matter. *In: Page A.L.* (Ed). *Methods of Soil analysis part 2. Second edition*. American society of Agronomy Inc. Madison.

15. Okonkwo C.I. & Nnoke F.N., 1993, Comparison of effects of various strains of locally isolated *Rhizobium spp.* and N-fertilizer on nodulation, nitrogen accumulation and seed yield of soybean (*Glycine max*). *Journal of Science and Technology*, 1, 75-79.
16. Page A.L., Miller R.H. & Keeney D.R., 1982, *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties.* ASA, Madison.
17. Singleton P.W. & Tavares J.W., 1986, Inoculation response of legumes in relation to the number and effectiveness of indigenous *Rhizobium japonicum*. *Applied Environmental Microbiology*, 51, 1013-1018.
18. Tel D. & Rao F., 1982, Automated and semi-automated methods for soil and plant analysis. IITA, Manual Series No. 7, 15-25.
19. Vincent J.M., 1970, *A Manual for the practical study of root-nodule bacteria.* IBB Handbook No. 15. Blackwell Scientific Publishers, Oxford.
20. Woodward F.I. & Sheehy, 1983, *Principles and measurements in environmental biology.* Butterworths & Co Publishers London, p. 50.

M.A.N. Anikwe, Nigerian, Ph.D., Lecturer/Researcher, Department of Agronomy & Ecological Mgt., Enugu State, University of Science and Technology, Enugu, Nigeria.

C.I. Okonkwo, Nigerian, M.Sc., Lecturer, Department of Soil Science, Ebonyi State University, Abakaliki, Nigeria.

C.N. Mbah, Nigerian, M.Sc., Lecturer, Department of Soil Science, Ebonyi State University, Abakaliki, Nigeria.

**AVIS DE CHANGEMENT D'ADRESSE
CHANGING OF ADDRESS
ADRESVERANDERING
CAMBIO DE DIRECCION**

Tropicultura vous intéresse! Dès lors signalez-nous, à temps, votre changement d'adresse faute de quoi votre numéro nous reviendra avec la mention «N'habite plus à l'adresse indiquée» et votre nom sera rayé de notre liste.

You are interested in Tropicultura! Make sure to inform us any change of your address in advance. Otherwise your issue will be sent back to us with the postal remarks "Adresse not traceable on this address" and then you risk that your name is struck-off from our mailing list.

U bent in Tropicultura geïnteresseerd! Stuur ons dan uw adresverandering tijdig door, anders riskeert U dat uw nummer ons teruggezonden wordt met de vermelding «Woont niet meer op dit adres» en uw naam wordt dan automatisch van de adressenlijst geschrapt.

Si Tropicultura se interesa, comuniquenos a tiempo cualquier cambio de dirección. De lo contrario la publicación que Ud. recibe nos será devuelta con la mención "No reside en la dirección indicada" y su nombre será suprimido de la lista de abonados.

Microbial Biomass Changes during Decomposition of Plant Residues in a Lixisol

S.K. Kachaka*, R. Merckx* & K. Vlassak*

Keywords: Lixisol- Alley cropping- Microbial biomass- Incubation- Ninhydrin

Summary

A lixisol was amended with four different alley cropping species: *Senna siamea*, *Leucaena leucocephala*, *Dactyladenia barteri* and *Flemingia macrophylla*. Soil samples were incubated for 140 days at 25 °C and the soil microbial biomass was determined by the ninhydrin extraction method along the incubation period. The soil microbial biomass values ranged between 80 and 600 mg.kg⁻¹ and followed, in all cases, the decreasing order: *Leucaena* > *Senna* > *Flemingia* > *Dactyladenia*.

Résumé

Variations de la biomasse microbienne au cours de la décomposition des résidus végétaux dans un lixisol

Un lixisol a été amendé avec les résidus de quatre plantes différentes utilisées en culture en couloirs: *Senna siamea*, *Leucaena leucocephala*, *Dactyladenia barteri* et *Flemingia macrophylla*. Les échantillons de sol ont été incubés à 25 °C pendant 140 jours et la biomasse microbienne du sol a été déterminée au cours de la période d'incubation selon la méthode d'extraction à la ninhydrine. Les valeurs de la biomasse microbienne du sol étaient comprises entre 80 et 600 mg.kg⁻¹ et, dans tous les cas, on a observé l'ordre décroissant: *Leucaena* > *Senna* > *Flemingia* > *Dactyladenia*.

Introduction

According to Brookes *et al.* (3), the soil microbial biomass is the living part of soil organic matter, comprising all organisms less than about 5 x 10³ µm³ other than the living plant material. Soil microorganisms constitute a transformation matrix for all the organic materials in the soil and act as a labile reservoir for plant available N, P, and S (4). Soil microbial biomass can be estimated by different methods and each method has its own limitations.

Among the various methods proposed for soil microbial biomass measurement, the chloroform fumigation-incubation procedure is the most widely used (5). Problems mainly refer with the proportions of cell C and N converted to CO₂ and NH₄⁺ respectively, the choice of suitable control soils, the denitrification or immobilization of N by the recolonizing soil population during incubation. Such problems may possibly be overcome by direct extraction of the released substances. Amato and Ladd (2) reported that about 16% of the total N released by the CHCl₃ fumigation after 24 hours and extracted by K₂SO₄ are ninhydrin-reactive compounds and can be used to estimate the amount of biomass C in soil from the relationship: Biomass-C = 21 * ninhydrin-N.

In our experiment, we used the ninhydrin-reactive N method (2) to estimate the dynamics of soil microbial biomass C in air-dried soil rewetted, amended with plant material and aerobically incubated at 25 °C. The aim was also to verify if the soil microbial biomass

contents can be considered as an effective index of sustainability in soils amended with plant residues when compared to control soils during the decomposition /mineralization process.

Material and methods

This study was carried out at the Laboratory of Soil Fertility and Soil Biology of the Catholic University of Leuven (Belgium) as a part of the collaborative project between the IITA (International Institute of Tropical Agriculture / Ibadan – Nigeria) and the KUL (Catholic University of Leuven / Belgium).

Soil

The soil was collected at the Main I.I.T.A. Station in Ibadan, southwestern Nigeria (Latitude 7° 26'N and Longitude 3° 4'E). As described by Moorman *et al.* (7), the soil is an Oxic Paleustalf (USDA) with cation exchange capacity values ranging from 6 to 13 meq per 100 g of clay and corresponds to a lixisol (FAO). The soil samples were taken from the top 10 cm, air-dried, sieved to pass 2 mm and stored at room temperature. The characteristics of the soil used were: pH 5.4, 0.67% C, 0.06% N, 6.5% clay, 84% sand and 8.5% silt.

Plant residues

Four alley cropping species, *Senna*, *Leucaena*, *Dactyladenia* and *Flemingia* were collected at the

*Laboratory of Soil Fertility and Soil Biology, Catholic University of Leuven, B- 3000 Leuven (Belgium).

Received on 28.09.01. and accepted for publication on 30.09.02.

same location. All residues were fractionated into readily soluble, cellulose, hemicellulose and lignin parts using methods fully described by Van Soest (10) and Van Soest and Wine (11). Total C was determined by the method described by Amato (1) whereas total N was determined by the Kjeldahl method.

Fumigation extraction method

The determination of soil microbial biomass was carried out in the fumigated or unfumigated soil samples incubated aerobically for 10 days at 25 °C according to the fumigation extraction method described by Amato and Ladd (2). Briefly, after extraction by shaking 40 g of fumigated or unfumigated soil samples for 1 hour with 120 ml 2N KCl, the extracts were filtered and the optical density (OD) was determined spectrophotometrically at 570 nm after reacting aliquots with ninhydrin.

Results and discussion

Characterization of plant residues

The general characteristics of plant residues are given in table 1.

Table 1
Selected properties of plant residues.
Results are expressed as mean of 6 replicates and standard deviations are given beside mean values

Plant material	% C	% N
<i>Senna</i>	42.7 ± 0.3	2.79 ± 0.02
<i>Leucaena</i>	42.4 ± 0.4	4.33 ± 0.01
<i>Dactyladenia</i>	39.5 ± 0.5	1.41 ± 0.02
<i>Flemingia</i>	40.1 ± 0.3	3.26 ± 0.02

The four plant residues showed quite distinct chemical properties. Carbon percentages were quite similar but N content ranged between 1.41 and 4.33% for *Dactyladenia* and *Leucaena* respectively. As expected, the nitrogen fixing trees showed the largest concentrations of N when compared to *Dactyladenia* which is not a N₂-fixing tree.

Table 2
Fractionation of plant residues according to Van Soest method. Results are expressed as mean of 6 replicates and standard deviations (SD) are given below the mean values

Fraction	% dry weight			
	<i>Senna</i>	<i>Leucaena</i>	<i>Dactyladenia</i>	<i>Flemingia</i>
Active	50.9	66.0	52.6	49.0
	2.1	2.3	2.1	2.4
Cellulose	14.7	5.6	16.3	24.6
	2.3	2.2	2.1	2.2
Hemicellulose	17.0	12.5	5.2	2.5
	1.8	2.4	0.6	0.5
Lignin	10.4	8.1	14.9	17.2
	1.3	1.2	2.0	1.1
Ash	6.9	7.7	10.9	6.6
	1.1	0.2	0.2	1.2

Fractionation of the plant materials into parts of varying decomposability showed that all the materials had a large active readily soluble fraction (Table 2).

This confirms that all materials consisted of fresh, growing leaves and were expected to contain significant amounts of metabolically active compounds, such as sugars, amino acids and proteins. Taking cellulose and hemicellulose together as the resistant fraction, the contents ranged between 18.1% for *Leucaena* and 31.7% for *Senna*. Taking lignin and ash on the other hand as the recalcitrant fraction, the contents increased from a low 15.8% for *Leucaena* to 25.8% for *Dactyladenia*.

Dynamics of soil microbial biomass

Rewetted soil

The microbial biomass C content of rewetted soils amended with the different residues is given in table 3.

Table 3
Microbial biomass C dynamics in rewetted soil amended with plant residues and incubated at 25 °C

Time (days)	Soil microbial biomass (mg.kg ⁻¹)				
	Control	<i>Senna</i>	<i>Leucaena</i>	<i>Dactyladenia</i>	<i>Flemingia</i>
2	131.3	212.5	595.4	162.5	237.5
7	137.5	250.0	475.0	221.9	242.8
14	100.0	505.4	164.0	125.0	237.5
28	93.8	375.0	325.0	175.0	212.5
56	125.0	287.5	300.0	112.5	200.0
84	87.5	175.0	125.0	100.0	100.0
112	112.5	225.0	150.0	112.5	125.0
140	75.0	112.5	100.0	100.0	137.5

In the control soil, the values remained fairly constant, at an average of 114 mg.kg⁻¹, but pronounced increases due to their active fractions were recorded for all four amended soils, particularly when *Leucaena* and *Senna* were added.

The sequence of mineral N release and CO₂ production rates for the four residues was confirmed by the microbial biomass values, the increases following the same order: *Leucaena* > *Senna* > *Flemingia* > *Dactyladenia* (6). For *Leucaena*, the microbial biomass content increased rapidly and reached the maximum value (594.4 mg.kg⁻¹) at the second day following plant residue application. Afterwards, it decreased considerably and reached the lowest value (164 mg.kg⁻¹) after 14 days of incubation and finally increased and remained almost constant along the incubation period. For *Senna*, the microbial biomass increased considerably but at a slower rate when compared to *Leucaena*, and the highest value (504.4 mg.kg⁻¹) of microbial biomass was observed after 2 weeks of aerobic incubation. Afterwards, it decreased slowly along the incubation period. For *Dactyladenia* and *Flemingia*, the maximum values of biomass C were observed after 7 days of incubation and were respectively 221.9 mg.kg⁻¹ and 242.8 mg.kg⁻¹.

Comparison between predicted and measured microbial biomass after application of plant residues in the rewetted soil.

According to Payne (9), in view of the high amounts of active components of plant materials analyzed, a rapid and considerable increase in biomass can be predicted on the assumption that the amount of C present in this fraction is readily available and is assimilated by the microbial biomass with an efficiency of 60%.

As shown in table 4, a reasonable agreement between theoretical and estimated efficiencies was observed with regard to soil microbial biomass dynamics after amendment of the rewetted soil with *Senna* (64%) and *Leucaena* (61%) as opposed to a lack of agreement for *Flemingia* (17%) and *Dactyladenia* (22%).

Table 4
Comparison between predicted and measured biomass C after application of plant residues in the rewetted soil

Plant material	Biomass (mg.kg ⁻¹)		Efficiency (%)	
	Predicted	Measured	Theoretical	Calculated
<i>Senna</i>	358	380	60	64
<i>Leucaena</i>	461	470	60	61
<i>Dactyladenia</i>	342	96	60	17
<i>Flemingia</i>	324	117	60	22

A first possibility is that *Senna* and *Leucaena* had low values of Lignin:N and (Lignin+Polyphenol):N ratios

compared to *Flemingia* and *Dactyladenia* (6, 8) and these factors could restrict assimilation of the active components in the percentages of efficiency noted above. A second possibility is that, within the active fraction itself, a range of unknown compounds whose nature and proportions could impair its immediate assimilation have to be investigated. A third possibility is that the CHCl₃ fumigation can facilitate the extraction of unknown cell components of plant materials which in turn can vary with the plant species.

Conclusion

The microbial biomass C content of rewetted soils followed the decreasing order: *Leucaena* > *Senna* > *Flemingia* > *Dactyladenia*, showing that the soil microbial biomass dynamics is more related to the plant residue characteristics.

We assumed that 60% of the amount of C present in the active fraction is readily available and is assimilated by the microbial biomass. Although, we are aware that such unsophisticated reasoning can be subject to some criticism, it is noteworthy that in the case of *Leucaena* and *Senna*, a reasonable agreement between predicted and observed values emerged, as opposed to the complete lack of agreement for *Flemingia* and *Dactyladenia*. In this respect, the high Lignin:N or (Lignin+Polyphenol):N ratios may be factors which restrict assimilation of the active components as quantified or estimated by efficiency percentages noted above.

Literature

- Amato M., 1983, Determination of ¹²C and ¹⁴C in plant and soil. Short communication. *Soil Biol. Biochem.* 15, pp. 611-612.
- Amato M. & Ladd J.N., 1988, An assay for microbial biomass based on ninhydrin-reactive nitrogen in extracts of fumigated soils. *Soil Biol. Biochem.* 20, pp. 107-114.
- Brookes P.C., Ocio J.A. & Wu J., 1990, The soil microbial biomass: its measurement, properties and role in soil nitrogen and C dynamics following substrate incorporation. *Soil Microorganisms*, 35, pp. 39-51.
- Jenkinson D.S. & Ladd J.N., 1981, Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul E.A. & Ladd J.N., eds., *Soil Biochemistry*, Marcel Dekker, New York, pp. 415-471.
- Jenkinson D.S. & Powlson D.S., 1976, The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* 8, pp. 209-213.
- Kachaka S.K., Vanlauwe B. & Merckx R., 1992, Decomposition and mineralization of prunings of different quality. *Proceedings*, John Wiley and Sons, Sayce Publishing, pp. 199-208.
- Moorman F.R., Lal R. & Juo A.S.R., 1975, The soils of IITA. A description of eight soils near Ibadan, Nigeria with special reference to their agricultural use. IITA Technical bulletin 3, 48 p.
- Palm C.A. & Sanchez P.A., 1991, Nitrogen release from the leaves of some tropical legumes as affected by their lignin and polyphenolic contents. *Soil Biol. Biochem.* 23, pp. 83-88.
- Payne W.J., 1970, Energy yields and growth of heterotrophs. *Annual Review of Microbiology*, 24, pp. 17-52.
- Van Soest P.J., 1963, Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of the AOAC*, 46, pp. 828-835.
- Van Soest P.J. & Wine R.H., 1967, Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *Journal of the AOAC*, 50, pp. 50-55.

S.K. Kachaka, Congolese (DRC), Doctor in Agricultural Sciences, Professor at the University of Kinshasa, D.R.C. Corresponding author.

R. Merckx, Belgian, Doctor in Agricultural Sciences, Professor at the Catholic University of Leuven, Belgium.

K. Vlassak, Belgian, Doctor in Agricultural Sciences, Professor at the Catholic University of Leuven, Belgium.

Performances zootechniques comparées de Rotifères d'eau douce *Brachionus calyciflorus* et de nauplii d'*Artemia* chez les larves de la perche fluviatile *Perca fluviatilis*

E.D. Fiogbé^{1*}, P. Kestemont² & J.-C. Micha²

Keywords: River perch- *Perca fluviatilis*- Rotifères- *Brachionus calyciflorus*- Nauplii *Artemia*

Résumé

Pour assurer une meilleure survie des larves de la perche fluviatile *Perca fluviatilis* L. qui sont en général très minuscules, elles ont été soumises à l'éclosion à deux aliments vivants différents: Rotifères d'eau douce *Brachionus calyciflorus* et nauplii d'*Artemia salina*. Pour éviter les mortalités dues aux manipulations des larves, la mise en place a été effectuée à partir d'œufs oeillés prêts à éclore. La mortalité a été significative dans les deux groupes à partir du 7^{ème} jour. Toutefois, les larves qui ont reçu des Rotifères dans leur aliment de démarrage ont présenté une population plus homogène comparées à celles qui ont reçu exclusivement de nauplii d'*Artemia*. Le meilleur taux de survie et le meilleur taux de conversion alimentaire sont également obtenus dans le premier groupe. Cette étude a prouvé que toutes les larves de la perche fluviatile ne sont pas capables d'ingérer de nauplii d'*Artemia* à l'éclosion.

Summary

Zootechnic Performences Compared between Freshwater Rotifer *Brachionus calyciflorus* and Nauplii *Artemia salina* in River Perch *Perca fluviatilis* L.

In able to improve survival rate and growth in perch *Perca fluviatilis* larvae which are very small at hatching stage, larvae are submitted two days after hatching to different live food: fresh water Rotifer *Brachionus calyciflorus* and nauplii of *Artemia salina*. Thus, to avoid the big mortality which occurs because of manipulation of larvae, eggs in eye stage were shared in two duplicated groups and feeding of larvae started two days after hatching. Mortality was significant in the two groups from the day 7. However, at the end of the experiment, the group fed Rotifer at the beginning of feeding, exhibited the best homogeneity, the best survival and the best food conversion ratio. So, this experiment has shown clearly that at hatching time, all perch larvae are not able to ingest nauplii *Artemia*. It is necessary to mix their starter food with Rotifer.

Introduction

L'objectif de cette expérience est de déterminer l'efficacité de deux aliments vivants sur la survie et la croissance des larves de la perche *Perca fluviatilis* L. Des études réalisées précédemment sur l'appétence de certains aliments vivants (2) ont prouvé que les organismes de petites tailles (Rotifères: 100-300 µm, nauplii d'*Artemia*: 400-500 µm) sont plus accessibles aux larves à l'éclosion en attendant que leur bouche ait une ouverture nécessaire pour capter les proies de grande taille (méta-nauplii d'*Artemia*: 800-1500 µm ou copépodes: 1000-2000 µm). Des essais ont donc été effectués à partir d'un apport régulier de deux proies vivantes: les Rotifères d'eau douce (*Brachionus calyciflorus*) et les nauplii d'*Artemia*.

Matériel et méthodes

Installations expérimentales

L'expérience a été réalisée dans 4 bacs rectangulaires (2,54 x 0,45 x 0,23 m) de volume utile 170 litres, superposés dans deux circuits parallèles, semi-ouverts, équipés chacun d'un bac de filtration et d'une lampe U.V. Les circuits sont périodiquement approvi-

sionnés en eau de ville, préalablement stockée et aérée dans une cuve de 2000 litres. Le renouvellement de l'eau dans les 4 bacs d'élevage se fait de façon continue, en circuit fermé, à l'aide d'une pompe de refoulement qui draine l'eau décantée et biologiquement filtrée au travers d'un réseau de tuyaux flexibles en amont duquel se trouve une lampe de désinfection à lumière ultraviolette. Le bac de décantation et de filtration est composé d'un mélange de billes d'argex et de graviers calcaires sur lesquels se développent des bactéries nitrifiantes. Il est relié à un système d'ultrafiltration mécanique constitué par du charbon actif et une toile moustiquaire à fines mailles qui retiennent les microparticules.

L'alimentation des larves est assurée par une pompe péristaltique raccordée en amont à 4 bouteilles plastiques dans lesquelles sont versées les solutions de Rotifères ou de nauplii d'*Artemia* et en aval aux bacs d'élevage. La pompe fonctionne sur minuterie. Son débit et sa fréquence de distribution sont programmés en fonction de la ration, de la taille et de la biomasse des larves à nourrir. Les rations de proies vivantes (poids sec) mises en bouteilles était de 30% de bio-

¹ Unité de Recherche sur les Zones Humides, Département de Zoologie et Génétique, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 01BP 526 Cotonou, Bénin.

² Unité de Recherche en Biologie des Organismes, Facultés Universitaires Notre Dame de la Paix, 61 Rue de Bruxelles, 5000 Namur, Belgique.

Reçu le 22.05.01. et accepté pour publication le 01.10.02.

masse de larves par bac. Le taux d'oxygène a oscillé entre 8 et 6 mg.l⁻¹ dans les bacs d'élevage pendant l'expérience.

Production en masse de Rotifères

Le système de culture en bache (1) est essentiellement utilisé dans la production en masse des Rotifères d'eau douce *Brachionus calyciflorus* utilisé dans cette expérience. Le principe de cette technique est de cultiver en grand volume des algues microscopiques unicellulaires quasi-stériles et d'inoculer avec une souche pure de femelles amictiques de Rotifère, préalablement acclimatées à cette source de milieu algal. L'algue utilisée dans le cadre de cette étude était le *Dictyosphaerium chlorelloïdes* de souche pure cultivée avec le milieu de Schlösser (13) dont la composition est présentée sur le tableau 1. La pureté de la souche a été assurée par des cultures renouvelées (une semaine de fréquence) en petits volumes de 0,5 l à 10 l dans des ballons ou bouteilles à 100% stériles (autoclavés). Lorsque ces cultures d'algues stériles

atteignaient la densité de 30-40 millions de cellules par ml, elles étaient utilisées pour inoculer des milieux de culture identiques réalisés en grands volumes (25 l) dans des sacs en polyéthylène, à la densité de 1,2-1,6 millions de cellules par ml de milieu de culture. Avant la mise en culture des algues dans les sacs, ceux-ci étaient d'abord désinfectés avec l'eau de javel (1 ml/10 l) qu'on laissait agir pendant au moins une heure avant de la neutraliser avec du thiosulfate de sodium concentré (250 g.l⁻¹) à la même concentration. Quand le développement des algues en grands volumes avoisinait la concentration de 14 millions de cellules par ml, on les inoculait avec les Rotifères, à des densités variables (2 à 10 ind.ml⁻¹) en fonction du temps prévu pour l'éclosion des œufs de perche. Le mélange continu des différentes cultures était assuré par un renouvellement constant d'air dans les récipients, évitant ainsi la sédimentation des algues et la prolifération des bactéries et des ciliés qu'elle pourrait favoriser. Dans de bonnes conditions physico-chimiques (lumière= 2000 lux, température= 25 ± 1 °C,

Tableau 1
Composition du milieu de Schlösser (13)

Macroéléments	Solution stock (g/l)	ml solution stock/l de milieu	Concentration dans le milieu de Schlösser
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	2	20	0,04
K ₂ HPO ₄	1	10	0,01
MgSO ₄ 7H ₂ O	1	25	0,025
Na ₂ CO ₃	1	20	0,02
Na-Fe-EDTA	12,6	1	0,01
Acide citrique**	1	10	0,01
Microéléments		10	

Mettre au trait et ajouter 10 ml de solution de vitamines

** à conserver au réfrigérateur pendant une semaine

Solution de microéléments: 1 litre

Solution 1

Microéléments	Solution stock (g/100 ml)	ml de solution stock/ 900 ml de solution 1
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,1	1
MnSO ₄ 4H ₂ O	0,1	2
H ₃ BO ₃	0,2	5
Co(NO ₃) ₂ 6H ₂ O	0,02	5
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,02	5
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,0005	1

Solution 2

FeSO₄ 7H₂O 0.7 g /100 ml
EDTA (tririplex II) 0.4 g /100 ml

Les solutions 1 et 2 sont mélangées et conservées au réfrigérateur

Solution de vitamines

Vitamines	Solution stock (mg/l)	ml de solution stock/l de solution	Concentration /l de solution de vitamines
Vitamine B1	200	10	2,00 mg
Vitamine B8 ou H	8	10	0,08 mg
Vitamine B12	16	10	0,16 mg
NaNO ₃			5,6 g
Na glycérophosphate			0,8 g

oxygène dissous > 10 mg.l⁻¹ et respect rigoureux de la formule minérale du milieu de Schlösser), les cultures d'algues atteignaient leurs densités optimales au bout de 4 à 7 jours et les concentrations des Rotifères en cultures étaient multipliées par 5 tous les jours jusqu'à insuffisance des densités algales. La récolte des Rotifères se faisait sur un tamis fin de 63 µm.

Production de nauplii d'*Artemia*

Les nauplii d'*Artemia* ont été obtenus à partir de l'incubation de cystes secs procurés dans le centre "INVE Aquaculture Belgium". Le matériel d'incubation était composé de 4 cuves coniques en polyéthylène de volume utile 40 l équipés d'une vanne de sortie et d'un tuyau d'amené d'air raccordé à un aérateur. L'incubation se faisait dans de l'eau salée par du chlorure de sodium à la concentration de 25 g.l⁻¹, maintenue à température constante de 25 °C, fortement oxygénée et illuminée. La masse de cystes incubés par jour était estimée au tiers du besoin quantitatif en nauplii pour les larves de poisson le jour suivant. L'éclosion avait lieu au bout de 24 heures et les nauplii étaient récoltés sur un tamis de 100 µm. Quinze minutes environ avant la récolte, les cystes non éclos déposés au fond de la cuve étaient évacués par un jeu rapide d'ouverture et de fermeture de la vanne de sortie, on arrêta ensuite l'aération et on déplaçait la lampe vers le bas, en vue d'attirer les nauplii phototactiles vers le fond de la cuve pour les récolter.

Origine des larves

Les larves étaient issues d'oeufs pondus en captivité par des géniteurs pêchés dans le milieu naturel quelques jours avant la saison de reproduction et alimentés avec des ablettes. Les oeufs ont été d'abord incubés dans une eau de même température (10 °C) que celle de stockage des géniteurs, où ils ont évolué jusqu'au stade yeux (1 à 2 jours avant éclosion). A ce stade, les oeufs ont été répartis au hasard, par pesée et comptage dans les bacs d'élevage à la densité de 10 000 oeufs par bac (soit 60 oeufs.l⁻¹). Cette procédure nous a permis d'éviter les fortes mortalités qu'engendre la manipulation des larves de la perche fluviatile après éclosion.

Protocole expérimental

Les larves ont été soumises à deux régimes alimentaires différents: 50% de Rotifères + 50% nauplii d'*Artemia* pendant 5 jours suivi de 100% nauplii d'*Artemia* pendant 9 jours d'une part, et 100% nauplii d'*Artemia* exclusivement pendant 14 jours d'autre part. Les traitements alimentaires étaient dupliqués avec une ration identique fixée en excès à 30% de la biomasse totale de manière à éviter toute interférence entre la qualité et la quantité d'aliments servis. Un contrôle de croissance des larves était effectué tous les deux jours par prélèvement au hasard et pesée de 10 larves par bac. En fin d'élevage (15^{ème} jour), un comptage systématique de toutes les larves a été effectué en vue d'évaluer l'effet des traitements sur la survie des larves. Les poids vifs initiaux et finaux ont été estimés à partir de 20 larves prélevées au hasard par bac, soit 40 larves par régime, conformément à Fiogbé *et al.* (5). Les larves ont été pesées individuel-

lement en les faisant passer rapidement sur du papier torchon pour éliminer le poids d'eau corporelle. Les différents paramètres de croissance ont été calculés de la façon suivante:

- SGR= $100 (\ln P_2 - \ln P_1) \cdot \Delta t^{-1}$

SGR= taux de croissance spécifique (%.j⁻¹)

$\ln P_1$ = logarithme népérien du poids initial

$\ln P_2$ = logarithme népérien du poids final

P_1 et P_2 = poids moyens initial et final des poissons (mg)

- TC: $PA (Bm_2 - Bm_1)^{-1}$

TC= taux de conversion alimentaire

Bm_1 et Bm_2 = biomasses initiale et finale de poissons par bassin (mg)

PA= poids sec d'aliment distribué par bassin (mg).

Résultats

Une observation visuelle du tube digestif transparent des larves a montré qu'environ 30% des larves élevées avec le régime à 100% *Artemia* se sont alimentées le premier jour (2 jours après éclosion) contre plus de 50% dans les groupes soumis au régime Rotifères + *Artemia*. Au sixième jour d'alimentation, toutes les larves étaient déjà sous régime 100% *Artemia* et l'observation a montré que les larves des lots qui ont reçu préalablement un mélange de Rotifères et de nauplii d'*Artemia* sont plus homogènes (3-6 mg) et ont toutes le tube digestif rempli, alors que plus de 5% des groupes sous 100% *Artemia* ne se sont pas encore alimentées et sont immobiles au fond des bacs. Ces larves immobiles qui ont certainement atteint leur point de non retour ont disparu par la suite. A cette même période (Figure 1), une hétérogénéité de tailles se faisait sentir dans ce dernier lot (0,8-6,6 mg). Ces observations préliminaires ont été confirmées au terme des 14 jours d'alimentation des larves des 2 différents groupes. Ainsi, le tableau 2 montre un taux de survie et une biomasse significativement éle-

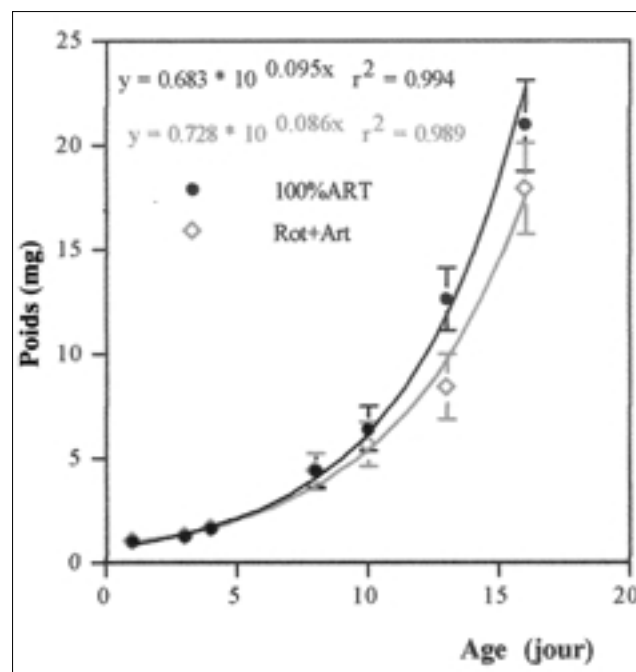


Figure 1: Croissances comparées des larves de perche fluviatile élevées avec 100% *Artemia* et Rotifères + *Artemia*.

vés ($p < 0,01$) pour les larves nourries avec Rotifères + *Artemia*. Nous n'avons toutefois pas pu montrer qu'il existe une différence significative pour le poids vif et le taux de croissance spécifique moyens entre les deux régimes testés ($p > 0,05$). Cependant, la comparaison des variations de poids des larves des deux populations, par le test de χ^2 a montré une différence hautement significative ($p < 0,001$). Les deux régimes présentent de faibles taux de conversion alimentaire (0,43 pour 100% *Artemia* et 0,36 pour Rotifères + *Artemia*), indiquant qu'ils ont été bien utilisés par les larves. Des relations de type exponentiel ont été utilisées pour modéliser la croissance des larves de perche sous ces deux régimes d'aliments vivants (Figure 1) avec des coefficients de corrélations de 0,997 pour le régime 100% *Artemia* et 0,994 pour le régime Rotifères + nauplii d'*Artemia*.

Discussion et conclusions

La forte densité de mise en charge des larves (60 ind.l⁻¹) lors de la présente étude et leur remarquable sensibilité aux manipulations observée précédemment ne nous ont pas permis de dénombrer rigoureusement chaque jour la mortalité. Nous avons toutefois constaté une plus forte mortalité dans tous les groupes en général à partir du septième jour après éclosion jusqu'à la fin de l'expérience (seizième jour après éclosion). Une observation similaire a été faite récemment par Wang et Eckmann (17) qui ont su localiser cette forte mortalité entre le septième et le neuvième jour à 20 °C chez la même espèce. Ces auteurs ont qualifié cette période de critique, pendant laquelle, la survie et même la croissance des larves de perche fluviale sont affectées. Les courbes représentées à la figure 1 correspondantes aux effets des différents régimes sur la croissance sont en parfaite adéquation avec cette hypothèse. Remarquons que jusqu'au septième jour, la croissance est restée faible et indépendante du régime. L'effet du régime ne devient apparent qu'au-delà de neuf jours après éclosion. Wang et Eckmann (17) ont attribué cette mortalité au jeûne car, jusqu'à cette date, ils ont observé qu'il y avait 20 à 30% de

larves qui ne s'alimentaient pas encore malgré l'abondance des Rotifères. Dans la présente étude, toutes les larves du régime (Rotifères + *Artemia*) ingéraient l'aliment et c'est à peine 5% des larves soumises au régime 100% *Artemia* qui ne s'alimentaient pas encore à cette période, mais pourtant la période critique est restée identique à celle rapportée par Wang et Eckmann (17). Des études réalisées dans le milieu naturel ont tendance à démontrer que cette période critique de forte mortalité des larves de la perche fluviale correspond à une pénurie de proies vivantes (4, 9) ou à une fluctuation de la température (8). Cette hypothèse est à exclure de la présente étude, car la température de l'eau d'élevage a été fixée à 23 °C, optimum recommandée pour la perche. Aussi, les aliments vivants (Rotifères et nauplii d'*Artemia*) à haute valeur nutritive pour les larves de poissons étaient apportés en abondance. Ribí (12) a observé dans des expériences similaires que ce sont les larves de perche qui n'ont pas leur vessie natatoire remplie d'air qui font l'objet de cette mortalité. Son hypothèse est aussi à exclure ici, puisque le nombre de larves immobiles dans les bacs d'élevage semblait bien négligeable comparé à la mortalité journalière observée pendant notre expérience. Par ailleurs, les larves immobiles étaient toutes très maigres (homogènes) et certaines survivaient encore au début des fortes mortalités. Ces constatations font penser que la période critique des larves de perche correspondrait à leur étape de métamorphose et serait sous la dépendance de certains facteurs endogènes. Cette forte mortalité peut probablement être l'effet direct ou indirect de carences nutritionnelles. En effet, la période de métamorphose exige des besoins élevés en nutriments, notamment en nutriments constructeurs et énergétiques tels que les acides aminés et les acides gras essentiels. Il est par exemple bien établi que des carences alimentaires en lysine (9, 16) ou en acide gras linoléique (14, 15, 18) se manifestent par une mortalité massive dans les populations de poissons. Aussi, la carence en acides gras essentiels se traduit par la baisse du pouvoir immunitaire des larves de

Tableau 2
Performances de croissance des larves de perche fluviale nourries avec 100% *Artemia* et Rotifères + *Artemia*

Paramètres de croissance	100% <i>Artemia</i>		Rotifères + <i>Artemia</i>	
	Bac1	Bac2	Bac3	Bac4
Nombre initial	10000	10000	10000	10000
Nombre final	4376	2480	3800	6238
Survie	43.76	24.8	38	62.38
Poids initial (mg)	1.17	1.12	1.17	1.12
Poids final (mg)	17.8	24	18.3	17.4
Biomasse initiale (mg)	11700	11200	11700	11200
Biomasse finale (mg)	77892.8	59520	69540	108541.2
Aliment distribué (mg)	26477.12	22227.2	26028	27255.54
Taux de conversion	0.4	0.46	0.45	0.28
SGR (% jour ⁻¹)	19.44	21.89	19.64	19.59

Poids sec d'un Rotifère= 0,00021 mg, poids sec *Artemia* estimé à 1/16 poids frais.

poisson et les expose aux maladies diverses, surtout celles d'origine bactérienne (11). On pourrait aussi imaginer, qu'en raison de leurs besoins élevés en nutriments pendant la période de métamorphose, à cause d'une vitesse de synthèse des tissus plus élevée (6), les larves ont consommé plus de proies; et cette surconsommation instantanée a nécessité brusquement une demande en oxygène, supérieure à la concentration disponible dans l'eau d'élevage, entraînant de ce fait, une mortalité élevée. Lorsqu'on observe les résultats de Wang et Eckmann (17), il apparaît clairement de fortes mortalités (83,8 et 100%) et de faible croissance (0 et 6,8 mm) à 15 et 20 °C pour la plus forte densité de Rotifères (12 000 Rotifères.l⁻¹) comparées à celles obtenues à 6000 Rotifères.l⁻¹ (89,2 et 58,3% pour les mortalités, 0 et 7,8 mm pour les croissances) pour les mêmes températures. La quantité de Rotifères seule apportée par jour au cours de cette expérience était de 6 000 000 pour 2 x 160 litres d'eau (soit 18 750 Rotifères.l⁻¹), ce qui apparaît déjà (les *Artemia* non comprises) supérieure à la ration maximale critique de Wang et Eckmann (17).

Cependant, les taux de conversion alimentaire (TC) obtenus dans notre étude (0,36-0,43) montrent que les aliments ont été très bien utilisés, suggérant ainsi que les causes de la forte mortalité temporaire seraient probablement d'origine exogène (parasites ou facteurs physiques et chimiques). Ces valeurs de TC calculées ici sont nettement meilleures comparées à celles rapportées (0,80) par Awaïss *et al.* (2) sous un régime de 7 000 Rotifères.l⁻¹ d'eau par jour pendant 10 jours à 25 °C à des larves de perche fluviatile. Le cannibalisme très poussé chez cette espèce (7)

pourrait expliquer également les taux de conversion alimentaire significativement bas obtenus dans la présente étude.

Le taux de croissance spécifique (19,3%.j⁻¹) obtenu par ces auteurs est très similaire à ceux obtenus dans la présente étude (19,6-20,7%.j⁻¹), mais la survie de leurs larves (83,5%) est nettement meilleure à celles observées dans la présente étude (34,3-50,2%). Le taux de survie particulièrement élevé observé par Awaïss *et al.* (2) serait dû au fait que leur expérience soit arrêtée au début de la période critique des larves, ou probablement parce que la densité des proies était au niveau optimum requis. En effet, la meilleure densité de proies recommandée par Wang et Eckmann (17) est de 6 000 Rotifères par litre à 20 °C.

En conclusion, cette expérience a montré que l'apport de Rotifères améliore considérablement la survie et réduit de façon significative l'hétérogénéité des classes de tailles communément observées dans les populations de perche fluviatile. Beaucoup d'efforts restent cependant à faire pour clarifier les causes de la forte mortalité qui survient chez cette espèce au début de la deuxième semaine de vie.

Remerciements

Nous remercions le Ministère de la Région Wallonne pour le financement du projet de pisciculture des Percidés dans lequel la présente étude a été réalisée, ainsi que l'Administration Générale de la Coopération au Développement (AGCD) qui avait accordé une bourse de doctorat à E.D. Fiogbé.

Références bibliographiques

1. Awaïss A., 1991, Eco-physiologie, production en masse et potentialités en larviculture du rotifère d'eau douce *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Tropicultura* 9, 4 pp.173.
2. Awaïss A., Kestemont K. & Micha J.-C., 1992, Nutritional suitability of the Rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas for rearing freshwater fish larvae. *J. Appl. Ichthyol.*, 8, 263-270.
3. Awaïss A., Kestemont P. & Micha J.-C. 1992, An investigation into the mass production of the freshwater Rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. An eco-physiological approach to nutrition. *Aquaculture* 105, 325-336.
4. Craig J.F., 1987, The biology of the perch and related fish. Ed. Timber Press: 333 p.
5. Fiogbé E., Kestemont K., Micha J.-C. & Mélard C., 1995, Comparative growth of *Perca fluviatilis* larvae fed with enriched and standard *Artemia metanauplii* and dry food. In: LARVI'95, Fish & Shellfish Larviculture Symposium. P. Lavens, E. Jasper and I. Roelants (Eds), European Aquaculture Society, Special Publication N° 24 Gent, Belgium, pp. 166-169.
6. Houlihan D.F., 1991, Protein turnover in ectotherms and its relationships to energetics. *Advances in comparative and environmental physiology* vol. 7. R. Gilles (ed.) pp; 1-43.
7. Kestemont K., Mélard C., Fiogbé E., Vlavonou R. & Masson G., 1996, Nutritional and animal husbandry aspects of rearing early life stages of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *J. Appl. Ichthyol.* 12, 3-4, 157-166.
8. Klipling C., 1976, Year-class strengths of perch and pike in Windermere. *Rep. Freshwat. Biol. Assoc.* 44: 68-75.
9. Mazid M.A., Tanaka Y., Katayama T., Simpson K.L. & Chichester C.O., 1978, Metabolism of amino acids in aquatic animals. III. Indispensable amino acids for *Tilapia zilli*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 44, 739-742.
10. Menshutkin V.V., Zhakov L.A. & Umnov A.A., 1968, A model method examination of causes of death among young perch. *Prob. Ichthyol. Am. Fish. Soc.* 8, 704-712.
11. Peck M.D., 1994, Interactions of lipids with function II: Experimental and clinical studies of lipids and immunity. *J. Nutr. Biochem.*, Vol. 5, november 1994, pp. 514-520.
12. Ribi G., 1992, Perch larvae (*Perca fluviatilis* L.) survive better in dilute sea water. *Aquat. Sci.* 54, 85-90.
13. Schloesser U.G., 1982, Sammlung von Algen Kulturen. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 95, 181-276.
14. Takeuchi T., Arai S., Watanabe T. & Shimma Y., 1990, Requirement of juvenile red seabream (*Pagrus major*) for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 1263-1269.
15. Takeuchi T., Arai S., Watanabe T. & Shimma Y., 1991, Essential fatty acids of grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 467-473.
16. Walton M.J., Cowey C.B. & Adron J.W., 1984, The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Brit. J. Nutr.* 52, 115-122.
17. Wang N. & Eckmann R., 1994, Effects of temperature and food density on egg development, larval survival and growth of perch (*Perca fluviatilis* L.). *Aquaculture*, 122, pp. 323-333.
18. Watanabe T., Takeuchi T., Matsui M., Ogino C. & Kawabata T., 1989, Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficiency in juvenile striped jack *Pseudocaranx dentex*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55, 1977-1982.

E.D. Fiogbé, Béninois, Docteur en Sciences, Maître-Assistant à l'Université Nationale du Bénin.

P. Kestemont, Belge, Professeur, Facultés Universitaires Notre Dame de la Paix Namur, Belgique.

J.-C. Micha, Belge, Professeur, Facultés Universitaires Notre Dame de la Paix Namur, Belgique.

Quantitative Effects of Early and Late Blights on Tomato Yields in Cameroon

D.A. Fontem*

Keywords: *Alternaria solani*- Disease control- *Phytophthora infestans*

Summary

Early blight caused by *Alternaria solani* and late blight caused by *Phytophthora infestans* are the major diseases of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in Cameroon. The effect of both diseases on fruit yield was evaluated during the 1995 growing season in Dschang, Cameroon. Ten varieties were planted in the first trial (March-July) and nine in the second (July-November). In both trials, plots were sprayed weekly with Ridomil Plus (2.0 kg/ha) before flowering and with maneb (1.6 kg/ha) after flowering. Early blight was more severe in the early part of the first trial, while late blight caused most damage during the second. Marketable yields varied according to variety. High yields in sprayed plots were obtained in Dona F1 (61.63 t/ha) and Heinz 1370 (68.24 t/ha) during the first trial, and in Fline (58.35 t/ha), Mecline (64.25 t/ha), and Moboline (55.16 t/ha) during the second trial. Percent fruit infection in sprayed plots caused by both diseases varied according to variety from 12 to 65% in the first season and from 14 to 52% in the second, while losses in marketable yields for both blights were as high as 100% in unsprayed plots.

Résumé

Effets quantitatifs de l'alternariose et du mildiou sur le rendement de la tomate au Cameroun

L'alternariose causée par *Alternaria solani* et le mildiou causé par *Phytophthora infestans* constituent les maladies les plus importantes de la tomate (*Lycopersicon esculentum*) au Cameroun. L'effet des deux maladies sur le rendement en fruit a été évalué pendant la saison culturale de 1995 à Dschang, Cameroun. Dix variétés de tomate ont été semées dans la première saison (mars-juillet) et neuf dans la deuxième (juillet-novembre). Pendant les deux saisons, les parcelles ont été traitées chaque semaine au Ridomil Plus (2,0 kg/ha) avant la floraison et au manèbe (1,6 kg/ha) après la floraison. L'alternariose a été plus sévère dans la première saison, alors que le mildiou a causé les pertes les plus élevées dans la deuxième saison. Les rendements commercialisables ont varié selon la variété. Les rendements ont été élevés pour la variété Dona F1 (61,63 t/ha) et Heinz 1370 (68,24 t/ha) en première saison, et de Fline (58,35 t/ha), Mecline (64,25 t/ha), et Moboline (55,16 t/ha) dans la deuxième saison. Le pourcentage de fruits infectés par les deux maladies dans les parcelles traitées a varié de 12 à 65% dans la première saison et de 14 à 52% dans la deuxième, tandis que les pertes en rendement commercial causées par les deux maladies ont atteint 100% dans les parcelles non traitées.

Introduction

Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) is the most widely cultivated vegetable in Cameroon (19). Although, it is grown as a subsistence crop in all agro-ecological regions of the country, commercial fields are mostly found in the highlands of the West Province, where climatic conditions are conducive to tomato growing. Most tomatoes produced are consumed locally while about 1% is exported to neighbouring countries (19).

Annual tomato production in Cameroon is estimated at 76 000 tonnes (19) and the average yield is evaluated at 4 t/ha (4). This yield figure is very low compared to the African (19 t/ha) or world (28 t/ha) yields (4). The low yield may be attributed to the susceptibility of the crop to diseases (5, 10-12). Foliage and fruit infections by early blight (caused by *Alternaria solani* (Eil. & Martin) Sor.) and late blight (caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) contribute to

these yield losses (5, 10-13). Tomato varieties usually perform very poorly in the field under humid tropical conditions (1, 10-12, 15). Although several varieties have been screened for resistance to late blight, resistant ones have not reported at the farmers' level in Cameroon (11). Consequently, tomatoes are produced under an intensive fungicidal spray regime and early and late blight management forms an integral component of cultural techniques in tomato production in Cameroon (10). However, pesticides in general are costly to resource-poor farmers. Moreover, chemical control measures using conventional fungicides may leave toxic residues that may present potential dangers to the environment and consumers. The identification of high yielding varieties is necessary to select those that could be included in breeding and extension programmes.

* Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Dschang, P.O. Box 208, Dschang, Cameroon; Email: dfontem@yahoo.com
Received on 09.02.01. and accepted for publication on 07.10.02.

Studies conducted on potato in Cameroon have revealed a close relationship between both early and late blight infections and tuber yields (6-9). The objective of this work was to evaluate the yield potential of tomato varieties as affected by early and late blight infections in the highland agro-ecology of Cameroon.

Materials and methods

Experimental site and design

Two trials were conducted during 1995 in Dschang (5°35'N, 10°05'E, 1400 m), to assess the effect of early and late blight infections on tomato yields. Mean daily temperature, relative humidity and rainfall were recorded during the entire research period.

The field used had not be grown with any solanaceous crop during the past three years. The soil type for both trials is typic paleustult (dystric nitrosol) (pH- H₂O 5.0; CEC 33 meq/ 100 g soil, 13:35:52 sand/loam/clay). In both trials, a split block design was used with three replicates. In the first trial, each block, measuring 10.6 x 24.0 m, was sub-divided into 20 plots, while in the second, each block, measuring 10.6 x 21.6 m, was sub-divided into 18 plots. Half of the plots received fungicidal protection, while the other half was not sprayed. In both trials, varieties were randomly assigned to plots. Each plot contained three raised beds of twelve plants each (4.8 x 2.4 m). Blocks were separated by an uncultivated land 2 m wide.

Cultural techniques

Ten fresh market tomato varieties purchased in local shops in Dschang were used in the first trial (March-July) while nine were used during the second trial (July-November) (Table 1).

Two locally cultivated varieties, Roma VF and Rio Grande, were included in both trials. In either trial, the nursery bed was fertilised with 50 kg/ha chicken droppings. The nursery was set up on 9 March in the first trial and 8 July in the second. Seeds were drilled 5 cm apart in rows spaced 10 cm. After sowing, beds were shaded with grass mulch until germination was completed. After germination, plants were sprayed twice before transplanting with Ridomil Plus (72 WP) at 2 kg/ha. Ridomil Plus is a co-formulation of 12% systemic fungicide metalaxyl and 60% contact cuprous oxide.

Seedlings were transplanted when plants had developed 4-5 true leaves (8 April and 14 August). They were planted in rows spaced 0.80 m apart with 0.40 m between plants within the row. Plots were base-fertilised with 36:18:60 kg/ha N-P-K and 1200 kg/ha chicken dropping (3:2:4 N-P-K) before transplanting. Three sprays of a foliar fertiliser, Fertigofof 313 (4 l/ha) were applied on leaves every two weeks starting from fruit formation. All plants were staked and the field was hand weeded as needed. In the first trial, an insecticide thiodan (Thiodan 35 EC, 0.38 l a.i./ha) was applied on the foliage to control aphids and the treatments were followed by four bi-weekly applications of 0.07 l/ha of deltamethrin (Decis 25 EC) to control the melon fruit fly (*Dacus* sp.).

Fungicidal protection was initiated in both trials when plants were 10-15 cm in height (12 April and 18 August). Ridomil Plus (2 kg/ha) was applied weekly before flowering. This was followed by ten weekly applications of a contact fungicide, maneb (Manessian 80 WP), at 1.6 kg/ha. Control plots were not sprayed. All pesticides were applied with a Hardi knapsack

Table 1
Characteristics of tomato varieties used in both trials in Dschang, Cameroon

Trial	Variety	Origin	Growth pattern ^x	Fruit characteristics	
				Colour ^y	Size (g)
Trial 1	Dona F1	Vilmorin	SDet.	GB	145
	Heinz 1370	Technisem	Det.	UG	177
	Heinz 1439	Doights Verts	Det.	UG	130
	Marglobe	Doights Verts	Det.	GB	195
	Marmande	Pioneer	Det.	GB	85
	Market Wonder	Doights Verts	Det.	GB	120
	Rio Grande	Technisem	Det.	UG	60
	Roma VF	Pioneer	Det.	UG	55
	St Peter	Doights Verts	Det.	GB	130
	Xina	Technisem	Det.	UG	34
Trial 2	Caline	INRA ^z	Det.	UG	50
	Fline	INRA	Det.	GB	100
	Mecline	INRA	Det.	UG	33
	Moboline	INRA	SDet.	UG	73
	Pieline	INRA	Det.	UG	30
	Pieraline	INRA	SDet.	GB	113
	Piline	INRA	Det.	UG	30
	Rio Grande	Technisem	Det.	UG	60
	Roma VF	Pioneer	Det.	UG	55

^x Growth pattern: determinate (Det.) or semi determinate (Sdet.).

^y Mature fruit colour: uniform green (UG) or green back (GB).

^z INRA= Institut National de la Recherche Agronomique, Avignon, France.

sprayer, using a spray volume of 700 l/ha at a maximum pressure of 7 kg/cm². A spreader-sticker, Tenac Plus (Shell Chemicals, Abidjan, Ivory Coast) was incorporated into the spray solution at 0.1% (v/v).

Disease and yield evaluations

Ten weekly severity ratings of early or late blight were scored on five randomly selected plants in the middle row of each plot using a modified Horsfall-Barratt rating scale of 1 to 12 (1= 0%, 12= 100% disease severity) (2). Assessments were initiated 14 days after transplanting (DAT) and 33 DAT in the first and second trials, respectively. Standardised area under disease-progress curve (SAUDPC), expressed in proportions, was calculated from disease severity data according to the formula proposed by Campbell and Madden (3). Mature fruits were hand-harvested twice per week from the central 10 plants in each plot. After eliminating diseased fruits, marketable fruits were counted and weighed, and marketable fresh yields were expressed in metric ton fresh wt/ha. Fruits were observed for incidence of early and late blight rots. Percent fruit rot incidence caused by early or late blight infection was assessed for each plot. Loss in marketable yield was computed for each variety according to the formula:

$$\% \text{ Loss} = 100 * (Y_s - Y_u) / Y_s$$

where Y_s and Y_u are yields in sprayed and unsprayed plots, respectively. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) using an MSTAT-C statistical package. Least significant differences (LSD, 0.05) were used to compare means between sprayed and unsprayed plots.

Results

Weather conditions

Monthly rainfall varied between 73 and 270 mm during March to July and between 47 to 325 mm during July to November 1995. Mean monthly relative humidity varied between 86 and 97%. Mean temperatures were generally higher (21.4-22.7 °C) during the first trial than the second (20.4-21.2 °C) (Figure 1).

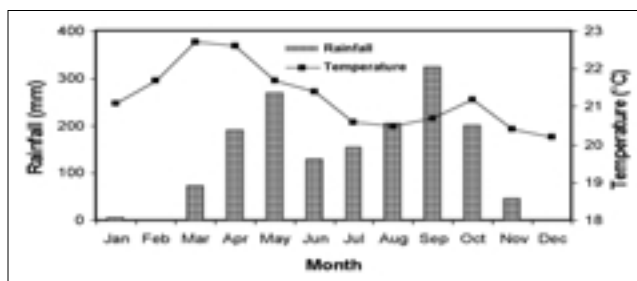


Figure 1: Monthly rainfall and daily temperature during 1995 in Dschang, Cameroon.

Effect of early blight infections on tomato yields

In the first trial, early blight appeared earlier and was more severe on plants than late blight. The former disease was first noticed in the seedbed and, despite fungicidal protection, infections were carried over to field crops. In unsprayed plots, symptoms of early blight

developed from lower leaves to the upper ones and stem lesions were very common. Varieties Marglobe, Rio Grande and Roma VF were less susceptible to early blight compared to the rest of the ten varieties grown. For each variety, blight severity was low in sprayed plots compared to unsprayed plots. Blight severity values were lowest in Roma VF, followed by Rio Grande and Marglobe (Figure 2).

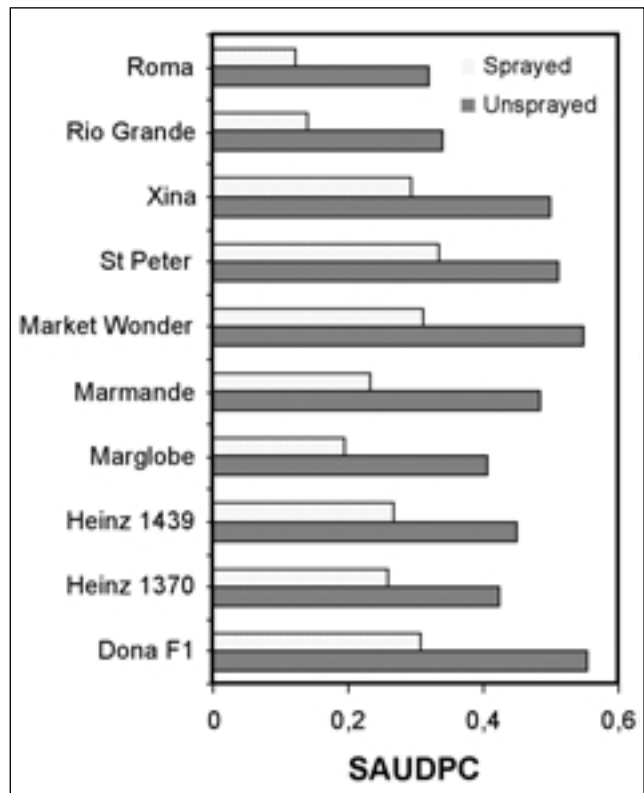


Figure 2: Standardised area under disease-progress curve (SAUDPC) for early blight infection in sprayed and unsprayed tomato varieties in Dschang, Cameroon.

Early blight infected fruits mostly from the stem end and caused premature fruit abscission. Late blight symptoms appeared later during the first trial. They were first detected on Rio Grande and Roma VF on 3 June. Symptoms were limited to the leaves that were not yet infected with early blight. On the whole, late blight caused less than 10% fruit infection while early blight was responsible for most of the fruit rots.

An analysis of variance for marketable yields revealed that the effects of variety x fungicide interactions were not significant. The highest yielding varieties in unsprayed plots were Heinz 1370, Heinz 1439 and Marglobe. Fungicidal treatments significantly reduced the percentage of diseased fruits. Percent fruit infection ranged 63 to 100% in unsprayed plots and 12 to 65% in plots exposed to fungicidal protection (Table 2).

Table 2
Marketable yield, percent fruit infection and percent loss in tomato attributable to early blight in Dschang, Cameroon

Variety	Marketable yield (t/ha)		% Fruit infection		% Loss in yield ^y
	Unsprayed	Sprayed	Unsprayed	Sprayed	
Dona F1	17.26 ± 3.34 b ^z	61.63 ± 3.31 a	68	32	73
Heinz 1370	32.05 ± 2.57 a	68.24 ± 4.44 a	63	15	59
Heinz 1439	31.35 ± 2.87 a	52.84 ± 2.20 b	84	21	41
Marglobe	29.48 ± 4.44 a	51.42 ± 1.87 bc	73	31	43
Marmande	0.0 ± 0 d	33.65 ± 5.53 cd	100	37	100
Market Wonder	0.0 ± 0 d	19.44 ± 3.51 f	100	65	100
St Peter	6.74 ± 1.44 c	48.16 ± 2.16 c	96	17	86
Xina	11.88 ± 2.69 bc	22.95 ± 3.53 ef	86	29	48
Rio Grande	0.0 ± 0 d	30.24 ± 1.71 de	100	26	100
Roma VF	7.18 ± 2.34 c	50.32 ± 2.52 c	81	12	85
LSD(0.05)	6.87	8.44	–	–	–
CV (%)	18.37	13.28	–	–	–

^y Loss was computed for each variety according to the formula: % Loss= 100*(Y_s – Y_u)/Y_s, where Y_u and Y_s are the marketable yields in unsprayed and sprayed plots, respectively.

^z Means within a column followed by different letters are significantly different according to Fisher's LSD (P= 0.05).

Some plots that were not protected against disease infection did not yield any marketable fruits. Losses in marketable yield by unprotected plots when compared to protected plots were 41- 100%. Total (100%) losses were recorded in Marmande, Market Wonder, and Rio Grande plots, while the lowest losses were obtained in Heinz 1439 and Marglobe plots (Table 2).

Effect of late blight infections on tomato yields

In the second trial, late blight was more common on all plants, while early blight infections were negligible. All varieties were susceptible to late blight although Perialine, Moboline and Mecline were less blight susceptible compared to the others. All the sprayed plots recorded a significant reduction in disease severity compared to the unsprayed plots, where high blight infections were noticed during the whole season (Figure 3).

As for the first trial, yields varied according to variety. Varieties Fline, Mecline, Moboline, and Perialine out-yielded the local varieties, Roma VF and Rio Grande (Table 3). The highest yields in sprayed plots were recorded on Mecline (64.25 t/ha), followed by Fline (58.35 t/ha), Moboline (55.16 t/ha), and Perialine (52.35 t/ha), while the lowest were obtained on Rio Grande (17.26 t/ha) and Roma VF (28.00 t/ha) (Table 3).

Fruit infections were mostly caused by late blight. Percent fruit infection in sprayed plots was low in Perialine (14%), followed by Mecline (16%) and high in Roma VF (52%) and Rio Grande (36%). Except for Mecline, Moboline and Perialine, all fruits in unsprayed plots were infected with late blight and were not marketable. Consequently, marketable yields were not recorded. As for early blight infection, yield losses of up to 100% were recorded in unsprayed plots (Table 3).

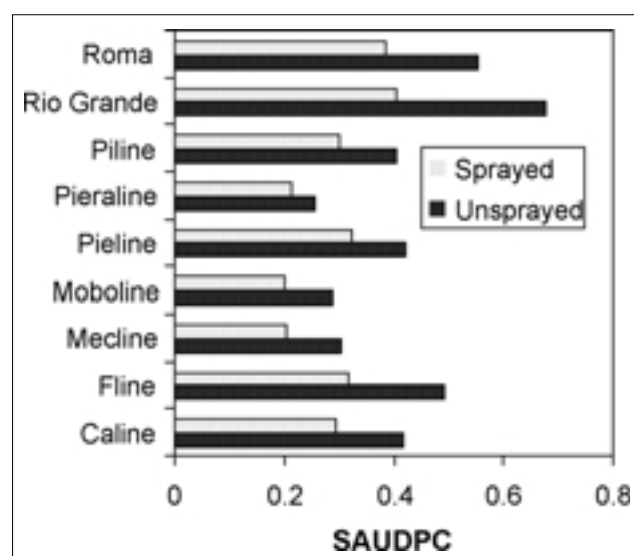


Figure 3: Standardised area under disease progress curve (SAUDPC) for late blight infection in sprayed and unsprayed tomato varieties in Dschang, Cameroon.

Discussion

Although early and late blights require a high humidity (90-100%) for optimal development, late blight usually requires lower temperatures for conidial growth and development than early blight (14). The optimum temperature for sporangial formation in *P. infestans* is 18 to 22 °C while *A. solani* requires an optimum temperature of 28 to 30 °C for conidial germination (14). Accordingly, high temperatures during the first trial are conducive to the development of early blight, while low temperatures during the second trial favour late blight development. Consequently, early blight was more severe in the early part of the wet season, while late blight caused most damage in the late wet season. Furthermore, fruit rots were mostly caused by early

Table 3
Marketable yield (t/ha), percent fruit rot and percent loss in tomato attributable to late blight in Dschang, Cameroon

Variety	Marketable yield (t/ha)		% Diseased fruit		% Loss in yield ^y
	Unsprayed	Sprayed	Unsprayed	Sprayed	
Caline	0 ± 0 c ^z	30.25 ± 5.34 c	100	25	100
Fline	0 ± 0 c	58.35 ± 3.16 a	100	30	100
Mecline	17.64 ± 3.56 a	64.25 ± 4.54 a	63	16	73
Moboline	7.50 ± 2.41 b	55.16 ± 6.89 a	74	23	82
Pieline	0 ± 0 c	30.00 ± 4.88 c	100	28	100
Pieraline	5.88 ± 2.87 bc	52.35 ± 3.36 ab	73	14	89
Piline	0 ± 0 c	40.00 ± 5.52 bc	100	33	100
Rio Grande	0 ± 0 c	17.26 ± 2.68 d	100	36	100
Roma VF	0 ± 0 c	28.00 ± 2.25 cd	100	52	100
LSD(0.05)	7.32	12.51	–	–	–
CV %	21.85	17.34	–	–	–

^y Loss was computed for each variety according to the formula: % Loss= 100*(Y_s-Y_u)/Y_s, where Y_u and Y_s are the marketable yields in unsprayed and sprayed plots, respectively.

^z Means within a column followed by different letters are significantly different according to Fisher's LSD (P= 0.05).

blight infections in the first trial and by late blight infections in the second trial.

Both blights are a threat to the tomato and potato industries in Cameroon (6-12), where disease resistant varieties are not always available to farmers. Fruit rot incidence recorded in sprayed plots due to both diseases varied according to variety from 12-65% in the first trial and 14-52% in the second. Total fruit losses (100% loss) were recorded in unsprayed plots of Marmande, Market Wonder and Rio Grande in the first trial and Caline, Fline, Pieline, Piline, Rio Grande and Roma in the second trial. This suggests a need for an appropriate blight management in tomato farming.

Despite the weekly fungicidal spray schedule used in either trial, percent fruit infection recorded in sprayed plots was still high, indicating that the weekly spray schedule was not enough to control either blight. In Taiwan, Hartman and Huang (13) also obtained effective control of tomato late blight with weekly applications of metalaxyl, although late blight caused 54% fruit infection and about 59% yield losses. In our previous studies (12), weekly sprays of maneb, mancozèbe or Ridomil MZ did not adequately limit late blight losses in tomatoes. In Indonesia, spray intervals of four days were reported to be more effective against late blight although disease incidence was also reported to be high (17, 18). In Uganda, two sprays of mancozeb per week are recommended for an integrated disease management system for tomato late blight (1, 15). Many tomato growers in Cameroon feel that 2-3 fungicidal sprays per week are necessary on tomatoes during the wet season (10).

This study reveals that the weekly spray schedule is inadequate to completely limit late blight losses in tomato fruits. Consequently, it is necessary to investigate on alternative, less polluting methods of blight control. Shtienberg *et al.* (16) suggested the incorporation of host resistance in a reduced spray strategy to control both blights in potato. According to this strategy, sprays are initiated when late blight is predicted by a forecast or when the severity of early blight is predicted to become important (6-7 wk after planting).

Conclusions

Results of this study show that early and late blights are severe diseases in tomato fields in Cameroon. The mean yield loss attributable to late blight damage was as high as 100%. Varieties Dona F1 and Heinz 1370 in the first trial and Fline, Mecline and Moboline in the second trial out-yielded Roma VF or Rio Grande, that are the most widely grown varieties in Cameroon (10). However, production of these varieties would require sound disease management practices, such as fungicide protection and field sanitation (6). Results suggest that appropriate blight management programmes are necessary to limit fruit losses due to early and late blights in the wet season in Cameroon.

Acknowledgements

This study was funded by a grant from the International Foundation for Science. We thank Mr Jean-François Dongmo for his valuable assistance in the field.

Literature

1. Akemo M.C., Ssekyewa C., Kyamanywa S., Adipala E., Wilson H. & Erbaugh M., 2002, Developing IPM systems for tomato: a case study from Uganda. *African Crop Science Journal* (In Press).
2. Berger R.D., 1980, Measuring disease intensity. Pp 28-31. *In: Proc. E.C. Stakman Commemorative Symposium on Crop Loss Assessment. Univ. of Minnesota Misc. Publ. 7.*
3. Campbell C.L. & Madden L.V., 1990, Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley & Sons, New York, 532 p.
4. FAO, 1999, Quarterly Bulletin of Statistics. **Vol. 12** 3/4, FAO, Rome.
5. Fontem D.A., 1993, Survey of tomato diseases in Cameroon, *Tropicultura*, **11**(3), 87-90.
6. Fontem D.A., 1995, Yield of potato as influenced by crop sanitation and reduced fungicidal treatments. *Tropicultura*, **13**(3), 99-102.
7. Fontem D.A. & Aighewi B., 1992, Efficacy of fungicides on the progress of early blight and yield of potato in Cameroon, *Tropicultura*, **10**(1), 15-19.
8. Fontem D.A. & Aighewi B., 1993, Effect of fungicides on late blight control and yield loss of potato in the western highlands of Cameroon, *Int. J. Pest Manage.*, **39**, 152-155.
9. Fontem D.A. & Gumedzoe M.Y.D., 1999, Analyse temporelle des épidémies du mildiou de la pomme de terre au Cameroun. *J. Rech. Sci. Univ. Bénin*, **3**, 84-90.
10. Fontem D.A., Gumedzoe M.Y.D. & Nono-Womdim R., 1998-1999, Biological constraints in tomato production in the western highlands of Cameroon, *Tropicultura*, **16-17**(3), 89-92.
11. Fontem D.A., Nono-Womdim R., Opena R.T. & Gumedzoe M.Y.D., 1996, Impact of early and late blight infections on tomato yield. *Trop. Vegetable Infor. Ser.* **1**, 7-8.
12. Fontem D.A. & Sofa J., 2001, Impact of chemical fungicides and cowdung filtrates on late blight severity and tomato yields. *African Crop Science Conference Proc.* **5**, 473-477.
13. Hartman G.L. & Huang Y.H., 1995, Characteristics of *Phytophthora infestans* on tomato in Taiwan. *Plant Disease*, **79**, 849-852.
14. Jones J.B., Jones J.P., Stall R.E. & Zitter T.A. (eds), 1981, Compendium of tomato diseases. *Am. Phytopathological Soc. Press, St Paul.* 73 p.
15. Kasenge V., Akemo M.C., Taylor D.B., Kyamanywa S., Adipala E. & Mugonola B., 2002, Economics of fresh market tomato production in peri urban farmers in Wakiso district. *African Crop Science Journal* (In Press).
16. Shtienberg D., Raposo R., Bergeron S.N., Legard D.E., Dyer A.T. & Fry W.E., 1994, Incorporation of cultivar resistance in a reduced-sprays strategy to suppress early and late blights on potato. *Plant Disease*, **78**, 23-26.
17. Suhari, 1976, Fungicides screening against *Phytophthora infestans* on tomato. *Bull. Penelitian Hortikultura*, **4**, 13-22.
18. Suhari, Masdiar B., Bismo, Vermeulen H. & Widjorini S., 1976, The chemical control of *Phytophthora infestans* on tomatoes in Indonesia. *Bull. Penelitian Hortikultura*, **4**, 45-54.
19. Temple L., 2001, Quantification des productions et des échanges de fruits et légumes au Cameroun. *Cahiers Agricultures*, **10**, 87-94.

D.A. Fontem: Cameroonian, Ph.D. (Plant pathology), Associate Professor, University of Dschang, Cameroon.

The opinions expressed, and the form adapted are the sole responsibility of the author(s) concerned
 Les opinions émises et la forme utilisée sont sous la seule responsabilité de leurs auteurs
 De geformuleerde stellingen en de gebruikte vorm zijn op de verantwoordelijkheid van de betrokken auteur(s)
 Las opiniones emitidas y la forma utilizada conciernen unicamente la responsabilidad de los autores

Evaluation of Dual-purpose Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Varieties for Grain and Fodder Production at Shika, Nigeria

A.T. Omokanye*, O.S. Onifade, J.T. Amodu, R.O. Balogun & M.S. Kallah

Key words: Forage and seed yields- Crude protein- Cowpea- Nigeria

Summary

A three-year field study of eight new and one check dual-purpose cowpea varieties was carried out to evaluate their grain and fodder production potential. Germination and seedling establishment were both high and greater than 80%. Mean dry fodder and seed yields varied from 1,262 to 3,598 kg/ha and 528 to 1,149 kg/ha respectively, with varieties IAR 4/48/15-1, IAR 72 and TVU 12349 retaining larger amounts (> 50%) of fresh green leaves at pod harvest during the dry season. Crude protein (CP) content of fodder averaged between 15.2 and 21.6%. There were more pods/plant for varieties IAR 4/48/15-1, IAR 7/180-4-5 and TVU 12349. 100-seed weight was highest with IT89KD-288 and Kananado (check). Fodder yield, pods/plant and leaf content were moderately correlated with seed yield. Results showed that varieties TVU 12349, IT89KD-288, IAR 2/180/4-12 and IAR 4/48/15-1 appeared suitable for both fodder and grain production. The use of appropriate cowpea varieties to enhance farmer income in an integrated production system is suggested.

Résumé

Evaluation de la performance des variétés de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) à produire à la fois des graines et du fourrage à Shika au Nigeria

Huit variétés de niébé améliorées et une locale (témoin) ont été testées en champ pendant trois ans en vue d'évaluer leur performance à produire à la fois des graines et du fourrage. Les résultats obtenus montrent que les taux de germination et de croissance étaient élevés (80%) pour toutes les variétés étudiées. Les moyennes de rendement étaient respectivement de 1262 à 3598 kg/ha pour la production de fourrage sec et de 528 à 1149 kg/ha pour la production de graines. Les variétés IAR 4/48/15-1, IAR 72 et TVU 12349 ont produit la plus grande quantité de feuilles vertes (> 50%) au stade de la récolte de graines durant la saison sèche tandis que les variétés IAR 4/48/15-1, IAR 7/180-4-5 et TVU 12349 ont produit le plus grand nombre de gousses par plant. Le poids de 100 graines le plus élevé a été produit par la variété IT89KD-288 et la variété témoin (Kananado). Le pourcentage moyen de la matière protéique variait de 15,2 à 21,6%. Une faible corrélation a été observée entre les rendements en graines, les rendements en fourrage et le rapport gousses/plant. Pour l'augmentation du revenu des fermiers, les variétés TVU 12349, IT89KD-288, IAR 7/180-4-12 et IAR 4/48/15-1 s'avèrent les plus performantes pour ces paramètres étudiés et sont à recommander dans un système de production intégré.

Introduction

In the subhumid zone of Nigeria as described by Ker (1), poor ruminant performance, particularly of cattle, is largely attributed to the inadequate supply of quality feed resources on natural rangelands during the 5-7 months dry season. Quality in this regard refers to crude protein and digestible crude protein contents of the feed as these vary sharply throughout the year. Inevitably, animals depending on these resources go through cycles of weight gains during the wet season and weight losses during the dry season. The problem is being compounded by rising human and livestock populations which put pressure on land for food. Among the effects of the increasing pressure on land are the spread of cropping to marginal areas such as

those previously used for grazing, thus forcing closer integration of crop and livestock activities, with a greater dependence on crop residues as fodder resources (2). Herd owners are therefore highly dependent on crop residues to supplement grazing during the dry season. For most of these, supplementation grain legume residues are most important. Cowpea is one of the grain legumes (plant protein food sources) in Nigeria where much attention has been devoted to growing it for seed. Over 80% of this crop is grown in the savanna zone, in the northern half of the country. It is usually sown during the wet season either as sole crop or as an intercrop (mostly with maize). A large number of small to medium - scale

National Animal Production Research Institute, Ahmadu Bello University, P.M.B. 1096, Shika - Zaria, Nigeria

*Correspondence and Present address: Centre for farming Systems Research, University of Western Sydney, Locked Bag #1, Richmond, NSW 2753, Australia.

Received on 05.12.00. and accepted for publication on 16.12.02.

farmers in the northern part of the country preserve the forage obtained after grain harvest for use as live-stock feed during the dry season. Cowpea forage is high in nutritive value, palatable and has high market value (3, 4). Cowpeas are also important in the nutrient economy of low-input cropping systems since they can fix N₂ through symbiotic association with bacteria, thereby improving soil fertility and reducing the need for N fertilizer. Eaglesham *et al.* (5) reported that inter-cropping cowpea with maize improved N nutrition of maize. Presently, one of the most commonly grown dual-purpose cowpea varieties among agropastoral farmers in northern Nigeria is Kananado, an unimproved local variety. Even though this variety is drought tolerant and pest resistant both in the field and in storage, it has low seed and forage yields. The low forage yield thereby reduces its value as livestock feed. Attention is therefore being paid to find and introduce varieties which have the ability to produce good grain for human consumption and quality fodder for livestock at no extra cost.

The study present compared the forage dry matter and seed yields of 8 dual-purpose (late maturing) cowpea varieties. The study is part of a series of all Nigeria Cowpea Varietal Trials, which evaluates

Materials and methods

Site characteristics

The experimental site was at National Animal Production Research Institute (NAPRI), Shika (11° 15'N, 7° 32'E, 610 m) in the subhumid zone of Nigeria. The zone has one (unimodal) wet season which begins in April/May and finishes by mid-October. Mean maximum temperature varies between 27-35 °C, depending on the season. Kowal (6) described the physical properties of the soil as well-drained sandy loam soil with a clay fraction consisting mainly of kaolinite and small quantities of illite deficient in N and P. Based on World Reference Base for Soil Resources (WRB) and the FAO/UNESCO Soil Map of the World (7), Shika soil could be classified as Arenosol. Soil characteristics (0–15 cm) of the experimental site before the commencement of the experiment are given in table 1.

Experimental design and procedures

Seven new and one traditional (Kananado, as check) varieties of dual purpose cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) were examined for various production parameters in a randomized block design. Plot sizes were

Table 1
Soil characteristics (0-15 cm) of the experimental site before planting of cowpea in 1995

pH	total N (%)	total P (ppm)	Ca ²⁺ ————— meq/100 g	K ⁺ —————	Mg ²⁺ —————	Clay —————	Silt ————— (%)	Sand —————
5.6	0.041	35.1	2.02	0.098	0.108	8.10	10.71	81.19

The values are mean values taken by the author.

These are means of randomly taken soil samples from the site. Total rainfall average (1985-1994) and rainfall records during the trial seasons are shown in table 2.

Table 2
Rainfall received during the trial years (1995, 1996 & 1997) and long-term (1985-1994) means for Shika

	Long-term (1985-1994)	1995	1996	1997
Months:		(mm)		
April	35.06 (6) ¹	102.8 (5)	11.0 (6)	56.1 (10)
May	120.44 (9)	56.3 (7)	131.1 (12)	76.1 (14)
June	175.14 (12)	125.5 (14)	126.3 (14)	177.3 (12)
July	250.28 (12)	161.1 (11)	210.0 (15)	248.0 (14)
August	278.92 (24)	313.9 (19)	207.6 (20)	273.7 (20)
September	172.36 (13)	167.6 (15)	179.4 (17)	202.5 (17)
October	42.00 (4)	45.7 (4)	65.6 (6)	56.9 (12)
Total	1074.22 (77)	927.4 (75)	930.9 (90)	1090.7 (99)
Total received by Cowpea	N.A.	432.3 (32)	379.4 (35)	429.7 (38)

¹ Values in parenthesis indicate numbers of rainy days.

N.A. – Not applicable.

The values are mean values taken by the author.

recently developed varieties from Institute of Agricultural Research of Ahmadu Bello University, Zaria in northern and International Institute for Tropical Agriculture, Ibadan in western Nigeria.

3 m x 6 m and these consisted of 5 rows which were 6 m long. Plots were replicated four times. Generally, two seeds per planting hole were sown at a spacing of 50 cm within rows, in rows 75 cm apart. Seeds were

dressed with Super-homai^(R), a fungicide before planting. Sowings were done on 10, 15 and 20 August in 1995, 1996 and 1997 respectively. All plots were weeded twice using a traditional hoe and kept insect-free by application of Dimethoate + Cypermethrin at a rate of 100 ml/20 l of water twice at flower bud initiation and mid-podding (50% of plants with pods). In the second year (1996), a third spraying at the same rate was necessitated by heavy infestation of aphids (*Aphids* spp.) during pod formation.

Stand count at establishment was taken 28 days post planting (DPP) using 1 m x 1 m quadrats. Three counts were taken and averaged per plot. Percent ground cover was estimated using 1 m x 1 m quadrats marked with stripes 20 cm apart. Notes of days to first flower appearance and maturity were also taken. At pod maturation, dried pods were harvested from 3-centred rows of 4 m length. Dry pods were picked twice for most varieties. After pods had been harvested all plants within 3-centred rows of 4 m length were cut at ground level, weighed, and sun-dried (for about 7 days) to hay stage (cowpea haulm) and reweighed using a 10 kg balance for dry weight estimation. Thereafter, subsamples of the haulm were taken, milled and analysed for N. Nitrogen content (on DM basis) was determined only in the second season using standard Kjeldhal methods (8), and expressed as crude protein content (CP= % N x 6.25). Leaf content defined as percentage of leaf component yield from whole plant cowpea haulm. The remainder of the plots were observed for the ability of varieties to remain green further into the dry season after pod harvest.

Data analysis

The experimental design was a randomised block design with four replications. Data analysis for significant overall treatment effect was conducted by Analysis of Variance (ANOVA) using the SAS software and GLM procedure (9). Year and replicate were treated as random variables, while cultivar effects were considered fixed. Simple correlation coefficients between agronomic traits were calculated.

Results and discussion

Establishment and growth

Table 3 shows averages of stand count at establishment (SCE), days to first flower appearance (DFFA) and maturity (DPM).

Average stand count taken 28 days post planting (DPP) when pooled across years, varied between 9.7 plants/m² for IT89KD-288 and 11.5 plants/m² for TVU 12349. The results show that SCE (> 80% of the expected SCE) was high. Varieties IT89KD-288, IAR 72, TVU 12349 and control (Kananado) on the average took longer than 60 days to DFFA, while IAR 2/180/4-12 flowered much earlier (at about 44 DPP) than other varieties. Days to maturity differed significantly ($P < 0.05$) between varieties. The growing period was longest in TVU 12349, followed by IAR 72 and Kananado, and shortest in IAR 2/180/4-12 and IAR 7/180-4-5. Apart from IAR 72 and Kananado which recorded death of 1 stand each at mid flowering in

Table 3
Mean stand count at establishment (SCE), days to first flower (DFF) and days to pod maturity (DPM) of multipurpose cowpea varieties

Cowpea varieties	SCE (Plants/m ²)	days	
		DFF	DPM
IT89 KD-288	2.7	66.0	92.6
IAR 2/180/4-9	3.0	55.6	95.6
IAR 2/180/4-12	3.2	44.1	86.7
IAR 7/180-4-5	3.1	50.1	86.5
IAR 4/48/15-1	3.2	50.8	93.9
IAR 72	2.9	60.9	108.1
TVU 12349	3.5	73.8	114.1
Kananado (check)	3.2	64.8	107.1
Mean	3.1	58.3	98.1
LSD ($P < 0.05$)	0.9	8.3	6.8

1995, further observations showed that plant mortality was nil for other varieties. Ground cover was higher for TVU 12349 and Kananado (with about 100 and 90% ground covered respectively) than other varieties at early flowering stage.

Fodder yield and CP content

Mean fodder dry matter (FDM) yields varied significantly ($P < 0.008$) between years. FDM yields were 2229, 3106 and 2387 kg/ha for 1995, 1996 and 1997, respectively. FDM yields varied widely (C.V. of 33%) and highly significantly ($P < 0.0001$) between varieties (Table 4).

Table 4
Mean crude protein content and residual fodder yield and yield components

Cowpea varieties	Fodder yield (kg/ha)	Leaf content %	
		CP	Leaf content
IT89 KD-288	2150	19.9	42
IAR 2/180/4-9	2488	19.5	27
IAR 2/180/4-12	3025	17.8	41
IAR 7/180-4-5	2813	15.2	45
IAR 4/48/15-1	2113	15.8	57
IAR 72	3475	21.6	56
TVU 12349	4238	19.8	57
Kananado (Check)	1638	18.2	15
Mean	2743	18.5	43
LSD ($P < 0.05$)	487	3.1	5.4

FDM was best for TVU 12349 (3598 kg/ha), followed by IAR 72 (3203 kg/ha) and IAR 2/180/4-12 (3010 kg/ha). Other varieties yielded < 3000 kg/ha. The yields obtained in the present study compare favourably to earlier reports on some dual purpose cowpea varieties for parts of Northern Nigeria such as in Shika (10, 11), and Samaru and Kano (12). Except for IAR 2/180/4-9 and Kananado, all varieties had > 40% leaf content at pod maturity (Table 4).

Apart from Kananado, most varieties maintained some degree of green leaves till about 3 weeks post pod harvest. Low fodder yields in varieties IT89KD-288, IAR 4/48/15-1 and Kananado when compared

with other varieties could be attributed to less leaf retention at pod maturity. CP was highest (21.56%) for variety IAR 72 and lowest (11.90%) for Kananado. Based on the National Research Council report giving the critical level of 10.88% (1.74% N) for ruminants (14), all cowpea varieties examined met the requirements for cattle production in the dry season of sub-humid Nigeria where CP contents of available grasses are lower than 7%.

Seed yield and yield components

Results from ANOVA indicate that variety ($P < 0.0001$) had significant effects on number of pods/plant and seeds/pod, while differences between years ($P > 0.081$) and year*variety interaction ($P > 0.103$) were insignificant. Mean number of pods/plant ranged from 32.2 pods/plant for IAR 4/48/15-1 to 14.4 pods/plant, while mean number of seeds/pod was highest (14.0) for TVU 12349 and lowest (9.8) for Kananado (Table 5).

Table 5
Seed yield and yield components

Cowpea varieties	Pod number (plant ⁻¹)	Seed number (pod ⁻¹)	100 seed wt (g)	Seed yield (kg/ha)
IT89 KD-288	26.8	11.50	21.69	963
IAR 2/180/479	20.0	12.44	12.15	738
IAR 2/180/4-12	28.3	11.36	14.15	850
IAR 7/180-4-5	31.6	12.16	13.78	686
IAR 4/48/15-1	32.2	11.33	13.29	1000
IAR 72	23.2	12.50	19.04	763
TVU 12349	30.3	13.88	9.43	888
Kananado (Check)	11.3	9.80	19.39	563
Mean	25.5	11.87	15.36	806
LSD ($P < 0.05$)	3.6	2.40	4.39	238

The order of mean seed weight for years was: 1995> 1996> 1997. Generally, mean 100-seed weight was significantly affected between varieties ($P < 0.0001$) and varied from 10.27 g/100 seeds for TVU 12349 to 21.69 g/100 seeds for IT89KD-288.

Generally, seed yields of all the new varieties were better when compared to check. When pooled across years, mean seed yields were significantly higher ($P < 0.002$) for IAR 4/48/15-1 (1099 kg/ha) and TVU 12349 (1027 kg/ha) and lowest for the check (Kananado) which only yielded 563 kg/ha (Table 5). Incidentally, observations showed that the pods of varieties IAR 4/48/15-1 and TVU 12349 shattered and lost most of their seeds when pods were dry. This indicates the need for successive pod picking if seed yield losses

are to be avoided. Seed yields from the present study were within the ranges reported by Shoyinka (12) under good experimental conditions in northern Nigeria.

Relationship among varieties

Percent leaf content ($r = 0.544$, $P < 0.001$), fodder yield ($r = 0.511$, $P < 0.001$) and pod/plant ($r = 0.496$, $P < 0.005$) were to some extent correlated with seed yield, thus suggesting the importance of initial plant size in predicting reproductive yield if growing conditions remain favorable (11). The relationship between seeds/pod and seed yield was fairly weak ($r = 0.379$; $P < 0.025$). The lack of significant relationship between DFFA and 100-seed weight with seed yield, could infer that these characters might not be so important in breeding and selection for yields in cowpeas (11). A reverse association was recorded between seed yield and days to maturity ($r = -0.080$, $P < 0.021$), an indication that with delayed maturity, seed yield could probably be affected by environmental conditions particularly day and night temperatures and low moisture levels which according to Smartt (15) could affect normal pod development. Associations between pods/plant and seeds/plant ($r = 0.593$), leaf content and pods/plant ($r = 0.577$), leaf content and fodder yield ($r = 0.544$) were also significant ($P < 0.05$).

Conclusions

Data from this study indicate that variety TVU 12349 appeared most suitable for combined use. Other varieties that showed promise are IT89KD-288, IAR 2/180/4-12 and IAR 4/48/15-1. This therefore suggests that crop-livestock farmers would be able to harvest grains for food and substantial amounts of cowpea haulm for feed after pod harvest for their livestock at no extra cost for forage production. Our data indicate that the local variety (Kananado) in particular, seemed unsuitable for crop-livestock farmers, as it recorded the lowest fodder yield and seed yields, though it is the most popular variety among farmers, because of its disease and pest resistance.

Acknowledgements

The authors wish to thank the Directors, Institute for Agricultural Research (IAR) and National Animal Production Research Institute (NAPRI) of Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria for permission to publish this article. This project was part of the Nationally Coordinated Research Project on Cowpea of IAR in collaboration with the International Institute for Tropical Agriculture (IITA), Ibadan, Nigeria.

Literature

1. Ker A., 1995, Farming systems of the African Savanna: A Continent in Crisis. International Development Research Centre (IDRC), Ottawa, Canada, 167 pp.
2. Naazie A. & Smith J.W., 1977, Modelling feeding resources budgets in the moist savannas of West Africa. Proceedings of XVIII Grassland Congress.
3. Alhassan W.S., Kallah M.S. & Bello S.A., 1987, Influence of duration of stay on the field on the chemical composition and nutritive value of crop residues. Tropical Agriculture (Trinidad), 64, 61-64.
4. Tarawali S.A., Singh B.B., Peters M. & Blade S.F., 1997, Cowpea haulms as fodder. In: Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K.E. & Jackai L.E.N. (eds), Advances in Cowpea Research. IITA (International Institute of

- Tropical Agriculture), Ibadan, Nigeria, and JIRCAS (Japan International Research Centre for Agricultural Sciences), Tsukuba, Japan. Pp. 313-325.
5. Eaglesham A.R.J., Ayanaba A., Ranga Rao V., & Eskew D.I., 1981, Improving the nitrogen nutrition of maize inter-cropping with cowpea. *Soil Biology and Biochemistry*, 13, 169-171.
 6. Kowal J. 1968, Some physical properties of soils at Samaru, Zaria, Nigeria: Storage of water and its use by crops. 1. Physical status of soil. *Nigerian Agricultural Journal*, 5, 13-20.
 7. Food and Agricultural Organisation, FAO, 1998, *World Soil Resources Reports 84*, Rome.
 8. AOAC (Association of Official Analytical Chemist), 1976, *Official methods of analysis of the AOAC*. 12th edition. Washington, DC.
 9. SAS (Statistical Analysis Systems), 1988, *SAS/STAT User's Guide*, Release 6.03. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA. 1028 pp.
 10. Haggard R.J., 1969, Cropping scheme meeting, IAR, Samaru - Zaria, Nigeria, 69.
 11. Akinola J.O. & Davies J.H., 1978, Effects of sowing date on forage and seed production of 14 varieties of Cowpea (*Vigna unguiculata*). *Expl. Agric.* 14, 197-203.
 12. Shoyinka S.A., 1985, Highlights of IITA cowpea research in Northern Guinea and Sudan Savannah Ecologies in 1985. Cropping Scheme meeting, IAR, Samaru, Nigeria, 41-43.
 13. IITA (International Institute of Tropical Agriculture), 1996, *IITA Annual Report 1995*. IITA, Ibadan, Nigeria.
 14. NRC (National Research Council), 1976, *Nutrient requirements of sheep*. National Academy of Science, Washington, D.C., USA.
 15. Smart J., 1974, *Tropical pulses*, Tropical Agriculture series, Longman.
-

Omokanye A.T., Nigerian, holds a M.Sc. Degree. Research Fellow II with FCRRP, NAPRI based in northern Nigeria. He is currently undertaking a Ph.D. degree in Systems Agriculture at the University of Western Sydney, Australia. Centre for farming Systems Research, University of Western Sydney, Locked Bag #1, Richmond, NSW 2753, Australia.

Onifade O.S., Nigerian, Ph.D., Associate Professor, Pasture Agronomy, University of Agriculture, Abeokuta, Nigeria.

Amodu J.T., Nigerian, M.Sc., Research Fellow II and Acting Programme Leader, FCRRP, NAPRI.

Balogun R.O., Nigerian, M.Sc. Animal Nutrition, currently undertaking a Ph.D. degree in Animal Nutrition at the University of New England, Australia.

Kallah M.S., Nigerian, Ph.D., Senior Research Fellow, FCRRP, NAPRI .

DANS LES UNIVERSITÉS...

UIT DE UNIVERSITEITEN...

IN THE UNIVERSITIES...

EN LAS UNIVERSIDADES...

Cette rubrique présente les thèses de doctorat concernant le développement rural défendues en Belgique au cours des derniers mois.

This heading presents PhD thesis defended recently in Belgium concerning topics linked to sustainable rural development.

Deze rubriek stelt de doctoraatsthesisen voor die betrekking hebben tot plattelandsontwikkeling en die in de loop van de laatste maanden in België verdedigd werden.

Este título presenta las tesis de doctorado defendidas en Bélgica durante los meses pasados referentes a asuntos ligados al desarrollo rural sostenible.

Use of the Wild Australian Species *Gossypium sturtianum* J. H. Willis and *G. australe* F. Muell to Improve *G. hirsutum* L.

L. Ahoton

Keywords: Cotton- Interspecific hybridization- *Gossypium hirsutum*- *G. australe*

Summary

In order to assess the possibility to use the wild Australian species *G. sturtianum* and *G. australe* to improve the main cotton cultivated species, several experiments were carried out in Benin and in Belgium. Pentaploids and monosomic addition lines were produced from the hexaploids $2(G. hirsutum \times G. sturtianum)$ et $2(G. hirsutum \times G. australe)$ to quantify genetic material exchanges occurring in these hybrid structures. This quantification was obtained through morphological and cytogenetic observations and through the use of chromosome *in situ* hybridization. The pollen fertility of the plant materials produced was also evaluated systematically.

For the first time, the 13 monosomic addition lines of *G. australe* on *G. hirsutum* were isolated. These lines constitute valuable genetic stocks to carry out fundamental and applied investigations. The observation of the progeny of the various hybrids allowed to quantify the frequency of alien genetic material exchanges. *In situ* hybridization appeared to be a very efficient tool to characterise the chromosomes of different genomic origins in cotton interspecific hybrids. The plants developed in this work constitutes potential parents to introgress interesting agronomic traits in cotton from *G. australe*, notably, the gossypol biosynthesis inhibition in the seed kernel, the production of narrow bracts, hanging bolls and extra white lint.

Language: French
Date: 1st February 2002
Bibliographic references: 247
Number of pages: 175
Number of figures: 43
Number of tables: 26
Number of annexes: 3

ISBN: None
Copyright registration: yes, according to the Belgian law of 22 March 1886.

Composition of the Thesis Committee

Dr. G. Mergeai and Professor J.-P. Baudoin, Promoters, FUSAGx, Gembloux, Belgique
Professor A. Théwis, President, FUSAGx, Gembloux, Belgique
Professors P. du Jardin, A. Falisse, A. Toussaint, FUSAGx, Gembloux, Belgique
Dr J.M. Lacape, CIRAD, France
Dr J.M. Jacquemin, CRAGx, Gembloux, Belgique.

Results: Ph.D. in Agronomy with honours.

Sustainable Development of Integrated Rice-fish Polyculture Systems in the Mekong Delta of Vietnam

Duong Nhut Long

Keywords: Ricefish culture- Fish polyculture- Fish production- Cost ratio profit

Summary

Fish polyculture in the rice fields has been experimented in 6 rice fields with 3 replications for each treatment, in two polyculture systems (6 and 3 species), at 4 stocking densities (1, 2, 3 and 4 fish/m²) with the same stocking structures. The ricefish polyculture with 6 species includes: silver barb (40%), tilapia (20%), common carp (15%), silver carp (10%), snake skin gouramy (10%) and kissing gouramy (5%), and polyculture system with 3 species: silver barb (50%), tilapia (30%) and common carp (20%). Agricultural by-products and pellets at two protein levels (18 – 25%) were used to supply fish at the feeding rate of 3%/total body weight of fish/day.

The eco-technological comparison between ricefish polyculture systems with 6 and 3 species shows that the higher number of fish species (6 species) leads to an increase in the interspecific competition process between silver carp, tilapia, snake skin gouramy and kissing gouramy, which decreases the natural foods. The mean final body weight of silver barb and common carp in a polyculture system with 6 species is higher at 1 fish/m² (177.5 and 443.7 g/fish) and at 2 fish/m² (155.8 and 425.8 g/fish) than in a polyculture system with 3 species at 1 fish/m² (126.2 and 335.5 g/fish) and at 2 fish/m² (122.8 and 321.5 g/fish). But the survival rate is lower. The fish yield in a ricefish polyculture system with 3 species at 2 fish/m² is slightly higher (823.4 kg/ha) than in a ricefish polyculture system with 6 species (807.7 kg/ha).

For the ricefish polyculture system with 3 species, the compared results at 4 stocking densities (1, 2, 3 and 4 fish/m²) show that the dissolved oxygen concentration is a little low with highest concentration at 1 fish/m² (5.2 ppm) and lowest at 4 fish/m² (3.8 ppm). The mean final body weight of silver barb, tilapia and common carp is significantly higher ($p < 0.05$) at the lowest fish stocking densities. The survival rate of silver barb, tilapia and common carp is also significantly higher ($p < 0.05$) at the lowest fish stocking densities. Through compared results, the highest fish yield (823.4 kg/ha), the highest farm net income (10,935,000 VND/ha), the best cost ratio benefit (2.08) and the best cost ratio profit (1.08) are reached with the stocking density of 2 fish/m² in the rice fields polyculture system with 3 species.

Regarding the ricefish polyculture system with pellet feeding at 18 – 25% protein levels, the results show that the water quality was improved which in turn leads to improved survival rate and fish production. The total fish yield with pellets at the 25% protein level (1,080 kg/ha) is significantly higher ($p < 0.05$) than at the 18% protein level (927 kg/ha). Pellet feeding give also higher fish yield than feeding fish with fresh farm by-products (823.4 kg/ha). Therefore, the home-made pellet feeding will be promoted in the large areas of the Mekong delta to increase the income of farmers and to improve their standard of living.

Language: English

Date: 19 September 2002

Bibliographic references: 131

Number of pages: 297

Number of figures: 19

Number of tables: 72

Number of annexes: 117

ISBN: 2-87037-382-1

Copyright registration: D/2002/1881/26

Composition of the Thesis Committee

Professor J.-C. Micha, Promoter, FUNDP, Namur, Belgique/Belgium

Dr. Nguyen thanh Phuong, Co-promoter, Can Tho University, Can Tho City, South of Vietnam

Professor P. Kestemont, FUNDP, Namur, Belgique/Belgium

Professor M. Rémon, FUNDP, Namur, Belgique/Belgium

Professor F. Pekar, HAKI- Hungary

Results/Résultats: Ph.D. in Sciences.

ORGANISATION

Nature de l'entité responsable de la publication et objet de la revue TROPICULTURA

Agri-Overseas asbl est une association créée dans le but d'établir des relations professionnelles d'intérêts communs entre tous ceux qui œuvrent pour le développement rural outre-mer. Elle publie la revue scientifique et d'information «Tropicultura» consacrée aux problèmes ruraux dans les pays en développement. Cette revue est éditée trimestriellement avec le soutien de la Direction Générale de la Coopération au Développement (DGCD), Service public Fédéral Affaires étrangères, Commerce extérieur et Coopération au Développement et celui de la région Bruxelles-Capitale.

Agri-Overseas asbl se compose de membres individuels et des institutions belges suivantes: les quatre Facultés en Sciences agronomiques de Belgique, (Gembloux, Gent, Leuven et Louvain-La-Neuve), les deux Facultés en Médecine vétérinaire (Gent et Liège), le Département de Santé animale de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (Antwerpen), la Section Interfacultaire d'Agronomie de l'Université Libre de Bruxelles, les Facultés Universitaires de Notre Dame de la Paix (Namur), la Fondation Universitaire Luxembourgeoise (Arlon), la Direction Générale de la Coopération au Développement.

Conseil d'administration

Le conseil d'administration d'Agri-Overseas asbl est composé du Professeur Dr. J. Verduyck, Président; du Dr. Ir. G. Mergeai, Administrateur Délégué; du Dr. E. Thys, Secrétaire; du Professeur Honoraire Dr. Ir. J. Hardouin, Trésorier a. i.; du Professeur Dr. B. Losson, membre.

Comité de rédaction

Le comité de rédaction de TROPICULTURA est constitué du Dr. Ir. G. Mergeai, Rédacteur en Chef, et des Rédacteurs délégués suivants: le Professeur Dr. J. Deckers pour "l'Ecologie, la Fertilité des sols et les Systèmes d'exploitation", le Professeur Dr. J.-C. Micha pour "les Pêches et la Pisciculture", le Dr. E. Thys pour "la Production animale et le Gibier", le Professeur Dr. Ir. P. van Damme pour "l'Agronomie et la Forêt", le Professeur J. Verduyck pour "la Santé Animale". Le secrétariat traite directement les autres sujets relevant de la compétence de la revue (économie, sociologie, etc...).

Secrétariat de rédaction

1A, Square du Bastion, B- 1050 Bruxelles – Belgique
Téléphones: ++32.02.550 19 61/ 62; Fax.: ++32.02.514 72 77
Email: ghare.tropicultura@belacom.net / mjdesmet.tropicultura@belacom.net

Distribution

La distribution des TROPICULTURA est gratuite et peut être obtenue sur simple demande écrite adressée au Secrétariat de rédaction.

PORTEE DE LA REVUE

TROPICULTURA publie des articles originaux, des notes de recherche et de synthèse, des résumés de livres et de thèses ainsi que des comptes rendus de films et de supports audiovisuels concernant tous les domaines liés au développement rural: productions végétales et animales, sciences vétérinaires, sciences forestières, sciences du sol et de la terre, génie rural, sciences de l'environnement, bioindustries, agroalimentaire, sociologie et économie.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

Les manuscrits seront inédits et n'auront pas été soumis pour publication antérieurement ou simultanément. Ils peuvent être rédigés en une des quatre langues suivantes: anglais, espagnol, français et néerlandais. Les manuscrits sont à adresser au Rédacteur en chef par la poste, en trois exemplaires, sous forme de document papier, ou, directement à l'adresse électronique du Secrétariat de rédaction, sous forme de fichiers attachés. Ils seront rédigés en simple face, en double interligne (27 lignes de 60 caractères par page de format DIN A4), avec une marge de 3,5 cm minimum autour de la plage imprimée. Ils comporteront au maximum dix pages de texte (page de couverture, résumés et références bibliographiques non compris).

La page de couverture portera: le titre, le titre abrégé (maximum 55 caractères), les noms et prénoms complets des auteurs, l'adresse professionnelle complète de chacun, les remerciements éventuels. Le nom de l'auteur - correspondant sera marqué d'un «*» et son adresse complétée de ses numéros de téléphone et télécopie, et de son adresse électronique.

Les pages suivant la page de couverture présenteront: (i) les résumés (max. 200 mots) dans la langue du manuscrit et en anglais, précédés du titre traduit et suivis de maximum six mots-clés dans chacune des deux langues; (ii) le corps du texte; (iii) la bibliographie; (iv) les tableaux numérotés au moyen de chiffres arabes, (v) les illustrations identifiées sans ambiguïté par un numéro au verso, (vi) les légendes des tableaux et des illustrations. Toutes les pages seront numérotées en continu. Les figures seront dessinées de façon professionnelle. Les photographies seront fournies non montées, bien contrastées sur papier brillant.

La première soumission d'un article à la rédaction pourra se faire sous forme imprimée ou sous forme électronique. Dans la mesure du possible, après acceptation de l'article pour publication, l'auteur fournira sa dernière version, revue et corrigée, sur disquette (ou sous forme de fichier attaché). Le logiciel Word est recommandé mais une version ASCII ou RTF des fichiers est acceptée.

Le texte sera généralement divisé en introduction, matériel et méthodes, résultats, discussions, conclusions. La subdivision du texte ne dépassera pas deux niveaux. Les sous-titres, très concis, seront composés en minuscules et ne seront jamais soulignés.

Les références seront citées dans le texte au moyen de numéros placés entre parenthèses. En cas de citation de plusieurs références, leurs numéros se succéderont par ordre croissant.

Les références bibliographiques seront données par ordre alphabétique des noms d'auteurs et par ordre chronologique pour un auteur donné. Elles seront numérotées en continu en commençant par le chiffre 1.

Pour les articles de revues, les références comprendront: les noms des auteurs suivis des initiales des prénoms, l'année de publication, le titre complet de l'article dans la langue d'origine, le nom de la revue, le numéro du volume souligné, les numéros de la première et de la dernière page séparés par un tiret.

Exemple: Poste G., 1972, Mechanisms of virus induced cell fusion. Int. Rev. Cytol. 33, 157-222.

Pour les monographies, les éléments suivants sont essentiels: les noms des auteurs suivis des initiales des prénoms, l'année de publication, le titre complet de l'ouvrage, le nom de l'éditeur, le lieu d'édition, la première et la dernière page du chapitre cité, le nombre total de pages de l'ouvrage. Les comptes rendus de conférences sont traités comme des monographies; de plus, ils mentionneront si possible le lieu, la date de la réunion et le(s) éditeur(s) scientifique(s).

Exemple: Korbach M.M. & Ziger R.S., 1972, Heterozygotes detection in Tay-Sachs disease a prototype community screening program for the prevention of recessive genetic disorders pp 613-632, in: B.W. Volks & S.M. Aronson (Editors), Sphingolipids and allied disorders, Plenum, New York, 205 p.

Une communication personnelle sera mentionnée dans le texte par les initiales du prénom, suivies du nom, communication personnelle et l'année. Exemple: (W.R. Allan, communication personnelle, 1988). Cette référence ne sera pas reprise dans les références bibliographiques.

Les références anonymes seront mentionnées numériquement dans le texte et dans les références bibliographiques. Anonyme (année). Titre. Source (où les données peuvent être retrouvées).

Le comité de rédaction se réserve le droit de refuser tout article non conforme aux prescriptions ci-dessus.

Les articles sont soumis à un ou plusieurs lecteurs choisis par la rédaction et ces lecteurs restent anonymes pour les auteurs.

En cas d'acceptation de l'article, la rédaction exigera un engagement des différents auteurs à céder leurs droits de publication à TROPICULTURA.

TROPICULTURA

2003 Vol. 21 N° 1

Four issues a year (January- February- March)

CONTENTS

EDITORIAL

- Is it Utopia to Take into Account Animal Well-being in Low Income Southern Countries? (*in French*)
Promotion CIPSAT 2002-2003 1

ORIGINAL ARTICLES

- Lactic Acid Bacteria Involved in the Processing of Poto-Poto, a Fermented Maize Dough Congolese (*in French*)
D. Louembé, S. Keléké, S.C. Kobawila & J.P. Nzouzi 3
- Contribution to the Knowledge of the Ecology and Biology of Homopterous Pests of Fruit Trees and other Plants:
II. - The Influence of the Host Plant and its Phenology on the Evolution of Infestation of *Aleurodicus dispersus*
Russell (Hom.: Aleyrodidae) in Republic of the Congo (*in French*)
A. Kiyindou 10
- Exploitation of Somaclonal Variability for Research of Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) Tolerant to
Salinity (*in French*)
F. Haouala, C. Hannachi & E. Zid 16
- Nodulation Effectivity, N-Accumulation and Yield of Soybean (*Glycine max*) in a Clayloam Soil Treated with Pre-
and Post-Emergence Herbicides (*in English*)
M.A.N. Anikwe, C.I. Okonkwo & C.N. Mbah 22
- Microbial Biomass Changes during Decomposition of Plant Residues in a Lixisol (*in English*)
S.K. Kachaka, R. Merckx & K. Vlassak 28
- Zootechnic Performences Compared between Freshwater Rotifer (*Brachionus calyciflorus*) and
Nauplii *Artemia salina* in River Perch *Perca fluviatilis* L. (*in French*)
E.D. Fiogbé, P. Kestemont & J.-C. Micha 31
- Quantitative Effects of Early and Late Blights on Tomato Yields in Cameroon (*in English*)
D.A. Fontem 36
- Evaluation of Dual-purpose Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Varieties for Grain and Fodder
Production at Shika, Nigeria
A.T. Omokanye, O.S. Onifade, J.T. Amodu, R.O. Balogun & M.S. Kallah 42
- IN THE UNIVERSITIES...
- Use of the Wild Australian Species *Gossypium sturtianum* J.H. Willis and *G. australe* F. Muell to Improve
G. hirsutum L. (*in English*)
L. Ahoton 47
- Sustainable Development of Integrated Rice-fish Polyculture Systems in the Mekong Delta of Vietnam (*in English*)
Duong Nhut Long 48

TROPICULTURA IS A PEER-REVIEWED JOURNAL INDEXED BY AGRIS, CABI AND SESAME

DGDC

DGCD