



HAL
open science

Evaluation de la valeur alicament de ressources végétales d'intérêt pour les systèmes de production agricole

Marie-Laure Lastel

► To cite this version:

Marie-Laure Lastel. Evaluation de la valeur alicament de ressources végétales d'intérêt pour les systèmes de production agricole. Sciences du Vivant [q-bio]. 2010. hal-02961840

HAL Id: hal-02961840

<https://hal.inrae.fr/hal-02961840>

Submitted on 8 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MASTER EN SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Mention : BIODIVERSITÉ TROPICALE

Spécialité : Écosystèmes naturels et exploités

**Évaluation de la valeur alimentaire de ressources végétales
d'intérêt pour les systèmes de production agricole**

LASTEL Marie-Laure



Directrice de stage (INRA) : Carine Marie-Magdeleine
Tutrice de stage (UAG) : Gladys Loranger-Merciris

Unité de Recherche Zootechnique de l'INRA
Domaine de Duclos Petit-Bourg
Mémoire soutenu le : 28 juin 2010

UNIVERSITÉ DES ANTILLES ET DE LA GUYANE

FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET NATURELLES

Résumé :

Face à l'apparition mondiale de résistances vis-à-vis des anthelminthiques de synthèse, la phytothérapie constitue une des alternatives thérapeutiques dans la lutte contre le parasitisme gastro-intestinal des ruminants d'élevage.

L'objectif de ce stage est d'évaluer le potentiel alicament des feuilles des trois arbres tropicaux *Artocarpus altilis* var *non seminifera*, *Artocarpus altilis* var *seminifera* et *Terminalia catappa*, utilisables en agroforesterie. Dans cette optique, une étude phytochimique, des tests *in vitro* sur le parasite *Haemonchus contortus* et une cinétique de dégradabilité *in sacco* ont été menés.

Le screening des feuilles a mis en évidence la présence de composés phénoliques majeurs dans les trois arbres. *Terminalia catappa* ne présente qu'un intérêt santé et doit être complété pour son effet antinutritionnel, tandis que les deux *Artocarpus* peuvent être des alicaments. Les feuilles sèches, plus facilement valorisables en agroforesterie présentent une valeur nutritionnelle moindre mais non négligeable.

Cette étude préliminaire doit être complétée par des essais *in vivo* afin d'évaluer l'effet-dose et les réactions animales. L'implication des polyphénols dans l'activité anthelminthique doit également être étudiée.

Mots clés : *Artocarpus altilis*, *Haemonchus contortus*, *Terminalia catappa*, test anthelminthique, valeur nutritionnelle, valeur santé, dégradabilité, alicament

Abstract :

The worldwide emergence of drug resistance in gastrointestinal parasitism of ruminants has motivated for phytotherapy as a therapeutic alternative for livestock.

The aim of this course is to assess the nutraceutical potential of the leaves of three tropical trees: *Artocarpus altilis* var *not seminifera*, *Artocarpus altilis* var *seminifera* and *Terminalia catappa*, used in agroforestry. A phytochemical study, *in vitro* tests on the parasite *Haemonchus contortus* and *in sacco* degradation kinetics were conducted.

The screening of the leaves revealed the presence of major phenolic compounds in the three tree leaf. *Terminalia catappa* is only of health and must be complemented for its antinutritional effect, while the two *Artocarpus* may be nutraceuticals. The dry leaves easily recoverable in agroforestry have lower but not negligible nutritional value.

This preliminary study must be complemented by *in vivo* tests to evaluate the dose-effect and the animal reactions. The involvement of polyphenols in anthelmintic activity must also be studied.

Keywords : *Artocarpus altilis*, *Haemonchus contortus*, *Terminalia catappa*, anthelmintic assay, nutritive value, health value, digestibility, nutraceutical

Remerciements

Je remercie mon père : un homme merveilleux qui croit en moi. Jour après tu me soutiens et tu me pousses à aller plus loin. Je ne sais pas de quoi demain est fait mais merci pour aujourd'hui. Merci papi....

Je remercie ma mère qui a porté un intérêt à mon travail et qui a fait les démarches nécessaires pour que les choses se passent au mieux.

Je remercie ma sœur et mon frère : votre entrain à passer me voir, vos encouragements permanents, le soutien auquel j'ai eu droit me faire affirmer que la famille c'est sacré.

Je remercie ma tutrice de stage à l'UAG : Madame Gladys Loranger-Merciris qui a accepté de m'accompagner durant cette période et sur cette thématique enrichissante mais quelque peu éloigné de mon cursus scolaire initial.

Je remercie ma directrice de stage à l'INRA : Madame Carine Marie-Magdeleine sans qui cette expérience n'aurait pas eu le même goût à savoir acidulé de travail mais sucré d'expériences enrichissantes et de bons moments. Merci pour ce contact et cette disponibilité : la tâche était rude mais l'ambiance plaisante et je suis sincèrement ravie d'avoir effectué ce stage... Stage que j'ai tant voulu et qui c'est très bien passé.

Je remercie le personnel de l'unité de recherche zootechnique qui m'a accueillie chaleureusement et qui m'a épaulée pendant ces 6 mois de travaux. A Suzite Calif, Tatianna Etienne et Lucien Philibert. Cette énergie dont j'ai eu besoin, ces conseils qui m'ont tant servis, ces feuilles à découper et ces résultats à discuter,... Merci pour tout. Ah !!! Cette énergie...

Je remercie particulièrement le personnel de la PTEA : Fred Periacarpin, Frédéric Pommier et Pierre-Justin Dumoulin. Vous avez fait preuve d'une grande patience et d'une grande pédagogie à mon égard. Vous connaître à été un plaisir certain et comme une certaine personne disait : « Ca ira, tout se passera bien ! » : il avait raison. Je ne vous oublierai pas : Petit cœur deviendra grand...

Remerciements spéciaux pour toi, Tigrou : Que dire si ce n'est Travail, Travail, Détermination, Travail, Encouragements, Travail et... sushis Merci Tigrou

Mes trois têtes de mouton me manqueront....

Liste des abréviations

Abréviations	Définitions
ADF	Acide detergent fiber
ADL	Acide detergent lignine
Am	Amandier-pays
Ap	Arbre à pain
Ch	Châtaignier-pays
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EHA	Egg-hatch assay
Ext. aq. ou aq.	Extrait aqueux
Ext. dichlo.	Extrait dichlorométhanolique
Ext. mét. Ou mét	Extrait méthanolique
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
INRA	Institut national de la recherche agronomique
LDA	Larval development test
Lév	Lévamisole
Lyo	Lyophilisé
MAT	Matière azotée totale
Mat. In S.	Matière In sacco
MO	Matière organique
MS	Matière sèche
NDF	Neutral detergent fiber
PBS	Phosphate buffered saline
S	Sec
V	Vert

Sommaire

Liste des abréviations	4
I) Introduction.....	7
Synthèse bibliographique	9
1) Faune étudiée.....	9
a) Descriptif de l'espèce parasite : <i>Haemonchus contortus</i>	9
b) Descriptif de l'espèce hôte : Le Mouton Martinik, Black Belly	11
2) Flore étudiée.....	12
a) Les plantes tropicales, une solution alicament possible	12
b) Description taxonomique de l'Amandier-pays	12
c) Description taxonomique du Châtaigner-pays	15
d) Description taxonomique de l'Arbre à pain	16
II) Matériels et méthodes.....	18
A) Matériel végétal utilisé	18
B) Etude de la valeur santé.....	19
1) Les extractions.....	19
2) Etude phytochimique	20
a) Le screening phytochimique.....	20
b) Les chromatographies sur couches minces	20
c) Composition phytochimique des extraits	21
3) Les tests anthelminthiques <i>in vitro</i>	21
a) Test d'éclosion des œufs d' <i>Haemonchus contortus</i> (Egg Hatch Assay, EHA)	22
b) Test de développement larvaire de <i>Haemonchus contortus</i> (Larval Development Assay, LDA).....	22
c) Test de motilité des vers adultes de <i>Haemonchus contortus</i>	23
C) Etude de la valeur nutritionnelle.....	24
1) Composition chimique des matières premières.....	24
2) Etude de la dégradabilité des aliments <i>in sacco</i>	25
D) Traitement des données.....	26
III) Résultats-Discussion	27

A) Etude de la valeur santé.....	27
1) Etude phytochimique	27
a) Le screening phytochimique.....	27
b) Les chromatographies sur couches minces	28
c) Composition phytochimique des extraits	29
2) Les tests anthelminthiques <i>in vitro</i>	30
a) Test d'éclosion des œufs de <i>Haemonchus contortus</i> (Egg Hatch Assay, EHA).....	30
b) Test de développement larvaire de <i>Haemonchus contortus</i> (Larval Development Assay, LDA).....	31
c) Test de motilité des vers adultes de <i>Haemonchus contortus</i>	32
B) Etude de la valeur nutritionnelle.....	32
1) Composition chimique des matières premières.....	32
2) Etude de la dégradabilité des aliments <i>in sacco</i>	33
V) Conclusion.....	37
VI) Lexique.....	38
VII) Bibliographie	40
Annexes	45
1) Cycle détaillé de <i>Haemonchus contortus</i>	45
2) Caractéristiques du mouton « Martinik ».....	46
3) Les tannins	47
4) Les extractions.....	48
5) Screening phytochimique.....	49
6) Chromatographie sur couche mince.....	56
7) Tests anthelminthiques.....	57
8) Evaluation de la valeur alicament de ressources végétales tropicales pour l'élevage.	58

I) Introduction

Le principal moyen de lutte contre les strongyloses gastro-intestinales (SGI) est le traitement chimique, mais son utilisation intensive et non raisonnée a conduit à l'apparition de résistance des parasites et ce, à l'échelle mondiale (Wolstenholme et al. 2004, Jabbar et al. 2006). Dans la zone Caraïbe, pour le genre *Haemonchus*, qui a une prévalence* de 100%, on observe par exemple en Martinique à l'issue d'une enquête, une résistance aux benzimidazoles dans 60% des élevages contrôlés (Gruner et al. 1980), et en Guadeloupe dans 75% des élevages contrôlés (Aumont et al. 1997). En Martinique et en Guadeloupe: une résistance à l'ivermectine a également été notée (Aumont et al. 1997).

Face à ce manque de durabilité à moyen terme, des recherches de solutions alternatives s'imposent. Dans le cadre de son projet d'Unité, l'Unité de Recherche Zootechnique de l'INRA (Institut National de Recherche Agronomique) travaille à la construction d'une lutte intégrée contre les SGI. Le principe étant de combiner différents moyens de maîtrise du parasitisme en ciblant des étapes du cycle du parasite et/ou la réponse de l'animal face à l'agression parasitaire.

La phytothérapie* est l'une des alternatives à l'utilisation des produits de synthèse utilisés sur les exploitations agricoles. Elle peut jouer un rôle important en stimulant la résistance et/ou la résilience* de l'animal par l'apport de protéines (certaines ressources anthelminthiques sont riches en protéines); et/ou en permettant d'éliminer les parasites par une action directe dans l'animal ou sur le pâturage (après ingestion de la plante par l'animal).

L'action conjointe alimentaire plus médicamenteuse constitue un alicament. L'utilisation des plantes locales en élevage est l'occasion de valoriser des ressources végétales disponibles sur l'exploitation agricole, pour une production raisonnée* dans le cadre d'une agriculture durable*. Certaines ressources végétales issues de l'exploitation, en particulier les arbres, peuvent ainsi être utilisées à la fois pour l'humain (alimentation) et l'animal (soin, alimentation), c'est le principe de l'agroforesterie.

Afin de mieux intégrer les ressources végétales dans les systèmes d'élevage, l'URZ travaille à leur évaluation selon trois critères importants pour l'éleveur: la santé, l'alimentation et l'environnement.

Dans le cadre du stage, les critères santé (anthelminthique) et alimentation seront étudiés pour les trois ressources végétales : *Terminalia catappa* L. (Amandier-pays), *Artocarpus altilis* var. *seminifera* (Châtaignier-pays) et *Artocarpus altilis* var. *non seminifera* (Arbre à pain). L'étude de la valeur anthelminthique portera sur le parasite *Haemonchus contortus in vitro*. L'étude de la valeur nutritionnelle sera abordée par une cinétique de dégradabilité dans le rumen du mouton créole de race Black Belly.

Synthèse bibliographique

1) Faune étudiée

a) Descriptif de l'espèce parasite : *Haemonchus contortus*

Haemonchus contortus est un ver parasite rond ou nématode*. Qualifié de strongle digestif, il compte parmi les vers gastro-intestinaux spécifique de la caillette* chez les ovins et les caprins. De l'Embranchement des *Nematoda*, *H. contortus* appartient à l'Ordre des *Strongylida*, la Famille des *Trichostrongylide* et au Genre *Haemonchus*.

Ce ver hématophage proposé sur la photo 1 est un mésoparasite temporaire monoxène. C'est-à-dire, qu'il évolue dans le tube digestif (et annexe) d'un unique hôte et qu'il effectue une partie de son cycle sous forme libre et l'autre partie sous forme parasitaire.

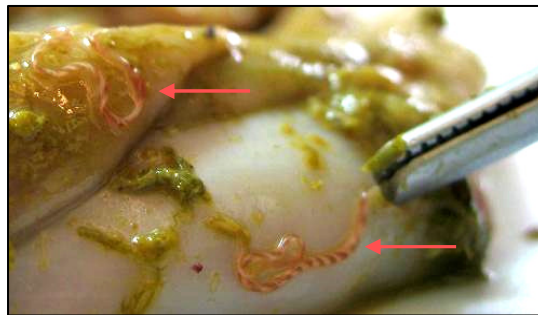


Photo 1 : Vers adultes de *Haemonchus contortus*

❖ Cycle biologique et contamination

Le cycle de *H. contortus* comprend 5 stades avant le stade adulte proprement dit, comme illustré sur le schéma 1. Un descriptif complet du cycle figure en Annexe 1.

Suite à l'ingestion de brins d'herbe souillés de larves infestantes (stade L3), les caprins et les ovins sont infectés par *Haemonchus contortus*. Ces larves transitent par les trois estomacs des ruminants pour finalement atteindre la caillette*. Elles se fixent à la muqueuse stomacale et poursuivent leur développement jusqu'au stade adulte en se nourrissant de sang. Une fois à maturité, les vers se multiplient par reproduction sexuée. La femelle pond 5 000 à 10 000 œufs par jours. Ces œufs retournent ensuite dans le milieu extérieur via les fèces des animaux et le cycle recommence.

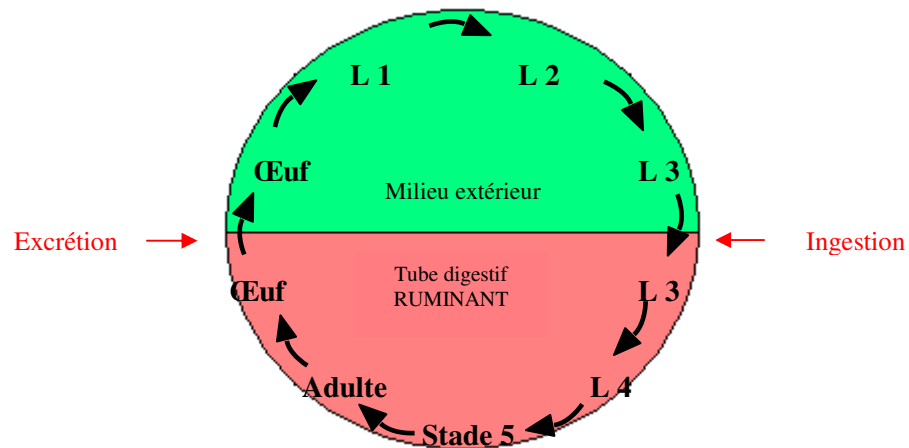


Schéma 1 : Cycle biologique de *Haemonchus contortus*

❖ Pathologie

Les ruminants infectés présentent une baisse des performances zootechniques et un affaiblissement de leur état général. Le parasite a un effet plus dommageable sur les juvéniles et les animaux faibles car la mort survient rapidement mais les symptômes listés ci après sont les mêmes chez tous les animaux : amaigrissement, anémie, épisodes diarrhéiques, retards de croissance, enflures molles sous la mâchoire et l'abdomen (syndrome de la goulotte signifié sur la photo 2), mouvements non coordonnés, performances reproductives amoindries et la mort (Anon.1994, Anon.2002, Anon.2008b, Sykes 1994).



Photo 2 : Syndrome de la goulotte ou Bottle jaw chez une chèvre

b) Descriptif de l'espèce hôte : Le Mouton Martinik, Black Belly

L'animal hôte étudié dans ce rapport est un mouton de race tropicale : le « mouton Martinik ».

Représenté sur la photo 5, cet ovin appartient à une race de mouton à poils constituée en 1992. Issu du regroupement des moutons à poils rencontrés dans tout le bassin caribéen, « Barbados Black-Belly », « Virgin Island White », « Saint Martin », et « Créole » dont les deux premiers sont représentés photos 3 et 4, il est bien adapté aux conditions d'élevage en milieu tropical (Anon.) et sa viande représente un produit local festif très apprécié des consommateurs.



Photos 3 et 4 : Béliers « Virgin Island White » à gauche et « Barbados Black-Belly » à droite



Photo 5 : Béliers Martinik Black Belly

Bien qu'étant considérée comme une race améliorée, la race Martinik est officiellement reconnue par le Ministère en charge de l'Agriculture et la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Une liste non exhaustive des caractéristiques particulières de ces animaux est fournie en Annexe 2.

Le mouton « Martinik » possède un créneau de commercialisation bien identifié et constitue un élément clef du développement de la filière ovine en Martinique (URZ 2008).

2) Flore étudiée

a) Les plantes tropicales, une solution alicament possible

Un grand nombre d'arbres présents sous nos latitudes possèdent des feuilles qui sont ingérées par les ovins et les caprins. En plus d'un effet nutritionnel, la présence d'un pouvoir antiparasitaire effectif, permettrait aux exploitants de disposer directement sur l'exploitation, de ressources végétales pour soigner (présence de métabolites secondaires actifs dans les feuilles) et nourrir les animaux (présence de protéines dans les feuilles), mais aussi pour nourrir l'homme (fruits). L'exemple des tannins est donné en Annexe 3

Dans cette optique d'agroforesterie, trois arbres tropicaux ont été choisis afin d'évaluer leurs potentiels santé et nutritionnel pour l'animal : le Châtaignier-pays (*Artocarpus altilis* variété *seminifera*), l'Arbre à pain (*Artocarpus altilis* variété *non seminifera*) et l'Amandier-pays (*Terminalia catappa*). La présence de composés phénoliques (métabolites secondaires à propriétés anthelminthiques) dans les trois ressources végétales (Longuefosse 2007) a également orienté le choix.

b) Description taxonomique de l'Amandier-pays

Nom scientifique : *Terminalia catappa* Linné. Synonyme : *Buceras catappa* Hitch

Liste non exhaustive des noms vernaculaires : Amandier-pays, amandier des Indes, badamier, zanmann, seaside almond, almendro, west indian almond, tropical almond (Longuefosse 2007, Fournet 1990a, LREY 2007 2005).

Selon la classification APG II*, la classification phylogénétique de l'Amandier-pays est la suivante : Règne des *Plantae*, Division des *Magnoliophyta*, Ordre des *Myrtales*, Famille des *Combretaceae* et Genre *Terminalia*.

❖ Origine et distribution

Originaire de la Malaise, l'Amandier-pays est un arbre plus ou moins naturalisé dans tout le monde tropical et subtropical : Floride, Mexique, Antilles, Amérique centrale et Nord de l'Amérique du Sud (Godfroid 2004, Longuefosse 2007, Fournet 1990a).

Selon Fournet (2002), il est très commun en Guadeloupe et en Martinique et aurait été introduit aux Antilles au XIX^{ème} siècle d'après Longuefosse (2007),

Bien qu'il soit naturalisé dans les zones côtières (arrière plage sableuse) (Fournet 2002) comme observable sur la photo 6, il est planté aux abords des parkings pour l'ombre qu'il fournit. Par ailleurs, il se rencontre à l'état spontané dans la nature car la germination de ses graines est aisée et la multiplication via des boutures qui émettent des racines est possible (Longuefosse 2007, Sastre et al. 2007), photo 7.



Photos 6 et 7 : Amandier-pays se développant sur une plage et aux abords d'une rivière.

❖ Usages divers :

Toutes les parties de l'Amandier-pays sont utilisées à travers le monde tropical. Les usages varient de l'ornementation à la construction en passant par la médecine traditionnelle, l'usage alimentaire et l'industrie textile. Ces usages sont listés de manière non exhaustive ci-contre :

- dans la Caraïbe, les enfants s'amuse à casser les noyaux afin de manger l'amande comestible (Longuefosse 2007),
- le feuillage est utilisé comme aliment pour les vers à soie et autres animaux de la ferme (Anon., Orwa et al. 2009)(Orwa et al. 2009, Anon.2009a)(Anon.),
- une huile extraite de l'amande comestible et mélangée avec du sirop de l'herbe charpentier (*Justicia pectoralis*) est recommandé contre les toux rebelles (Sastre et al. 2007),
- le tronc est une source de colorant jaune et noir utilisé dans la préparation du cuir et comme base pour les encres,

- le bois est utilisé dans la construction de nombreux objets tels que des bâtiments, des bateaux, des charrettes,... (Orwa et al. 2009),

- en aquariophilie, les feuilles sont utilisées pour assainir l'eau, prévenir diverses pathologies et stimuler la reproduction des poissons (Godfroid 2004).

❖ Composition

Seule la composition des feuilles est présentée. Elles contiennent :

- des di et tri terpènes, phytol, squalène (Longuefosse 2007, Ko et al. 2002, Mau et al. 2003)
- des flavonoïdes, quercétol, leucocyanidine, kaempférol (Godfroid 2004, Longuefosse 2007),
- des composés phénoliques (Longuefosse 2007),
- des tannins catéchiques (Godfroid 2004, Longuefosse 2007),
- des tannins, punicalagine, punicaline, acide chébulagique, corilagine (Longuefosse 2007, Chen P.-S. et al. 2006, Kinoshita et al. 2007),
- des esters, acétate d'éthyle (Mau et al. 2003),
- des cétones, 6,10,14-triméthyl-2-pentadécane,
- des radicaux libres, 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl,
- des anions, superoxyde (O_2^-) (Kinoshita et al. 2007),
- des polyphénols, acide ellagique (Masuda et al. 1999),
- des pigments, violaxanthine, violéoxanthine, lutéine, époxide, lutéine, β -cryptoxanthin (López-Hernández et al. 2001),
- des acides, cyanhydrique, gras, oxalique, palmitique, stéarique
- et divers composés, calcium, eau, fer, fibres, glucose, hydrates de carbone, phosphore, potassium, protéine, sodium, vitamine B1, B2 et B3 (Gotfredsen 2009)

❖ Propriétés médicinales

En relation avec la valeur "santé" qui est étudiée, les propriétés médicinales prêtées aux feuilles de l'Amandier-pays sont décrites succinctement dans le tableau 1.

Tableau 1 : Propriétés et effets positifs attribués aux feuilles d'Amandier-pays

Lutte contre	Propriétés
L'asthme, les affections de la peau, la colique, la cystite, la diarrhée, la dysenterie, les hémorroïdes, l'hypertension artérielle, la lèpre (feuilles cuites et huile extraite de l'amande), les maux de tête, le stress, les troubles hépatiques,	Anticonvulsif, anti-inflammatoire, anti mutagène, antioxydant, antiparasitaire, antirhumatismale, astringente, bactéricide, carminatif*, fébrifuge, hépato protectrice, laxatif, réduit le pH de l'eau et le maintien légèrement acide en eau douce, revitalisant, sédatif, stimule la reproduction et les couleurs (poissons)

(Anon., Godfroid 2004, Longuefosse 2007, Orwa et al. 2009, Gotfredsen 2009, Anon.2007, Couture 2009)

c) Description taxonomique du Châtaigner-pays

Noms scientifiques : *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosb. variété *seminifera* (Duss),

Synonymes : *A. communis* J.R. & G.Foster *A. incisa* (Thunb) L.f. var. *seminifera* Duss

De l'Ordre des *Rosales*, Division des *Magnoliophyta*, le Châtaigner-pays appartient à la Famille des *Moraceae* au Genre *Artocarpus* et à la Variété *seminifera*. Il est connu sous les noms de Châtaigner-pays, Arbol de pan, Chatenn, Breadnut, Palo de pan, Palo de pepita.

❖ Origine, distribution :

Le Châtaigner-pays, dont une partie du feuillage figure sur la photo 8 est un arbre originaire des Philippines et de la Nouvelle Guinée (Fournet 2002, LREY 2007 2009).

Il est assez commun en Guadeloupe, à Marie-Galante et en Martinique.

Sa répartition aux petites Antilles reste à préciser mais elle est probablement très large car l'arbre se développe entre 0 à 700m d'altitude (Fournet 2002). Un agrandissement de la photo 8 est proposé sur la photo 9.



Photo 8 et 9 : Châtaignier-pays et ses feuilles.

❖ Usages divers :

Seule la consommation des châtaignes est relevée dans la bibliographie.

❖ Composition

Peu de données spécifiques de la variété ont été trouvées. Les informations récoltées ne concernent souvent que « *Artocarpus altilis* » sans précision de la variété. Toutes les données retenues sont consignées dans la Composition de l'Arbre à pain page 16.

d) Description taxonomique de l'Arbre à pain

Noms scientifiques : *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosb. variété *non seminifera*. (Duss)

Synonyme *Artocarpus altilis* var. *altilis* A. communis J.R. & G.Foster A. *incisa* (Thund) L.f. var. *non seminifera* Duss

L'Arbre à pain de la même famille que le Châtaignier-pays appartient au Genre *Artocarpus* et à la Variété *non seminifera* selon la classification APG II*. Il est appelé Arbre à pain, Arbol de pan, Breadfruit, Pana foresta, Mazapan, Mapén, Véritable.

❖ Origine, distribution :

L'Arbre à pain est originaire de l'Océanie (Fournet 2002, Sastre et al. 2007) et est naturalisé dans toute la Caraïbe (Longuefosse 2007).

Il a été introduit à la Jamaïque à la fin du XVIIIème siècle* (Longuefosse 2007) et plus particulièrement en Martinique avant 1790 selon Fournet (2002). Cultivé dans tous les pays tropicaux humides pour ses fruits comestibles, il est très commun dans les îles de la Guadeloupe et en Martinique. Il pousse entre 0 et 700m d'altitude.

Les photos 10 et 11 représentent respectivement un jeune individu et une vue d'ensemble d'une fleur mâle, d'un fruit et des feuilles.



Photos 10 et 11 : Arbre, feuilles fruit et fleur mâle de l'Arbre à pain

❖ Usages divers :

L'usage alimentaire de l'arbre bien que sur le déclin, s'est maintenu jusqu'à nous.

La décoction des feuilles jaunies ou des fleurs mâles (popottes en Guadeloupe, totottes en Martinique) est réputée contre l'hypertension dans toute la Caraïbe et largement conseillées dans les affections hépatiques. La décoction des jeunes feuilles est indiquée pour lutter contre la diarrhée, la blesse, le diabète, les gaz et la grippe (Longuefosse 2007).

❖ Composition

Les feuilles sont riches en phénol, dont la quercétine et le camphorol (Longuefosse 2007).

II) Matériels et méthodes

Le but de cette étude est de déterminer la valeur nutritionnelle et le potentiel anthelminthique de *Terminalia catappa* L. (Amandier-pays) et des deux *Artocarpus altilis* étudiés (Châtaignier-pays et Arbre à pain). Dans cette optique, des analyses chimiques, des tests *in vitro* et des manipulations *in vivo* sont réalisés.

A) Matériel végétal utilisé

Seules les feuilles des trois arbres sont étudiées. Elles sont récupérées sur le site de l'INRA dans le cas de l'Amandier-pays, chez des particuliers pour l'Arbre à pain et sur les deux sites pour le Châtaignier-pays.

Les feuilles sont étudiées aux stades vert et sénescent (feuille sèche) car dans le cadre d'une éventuelle utilisation nutritionnelle ou thérapeutique, les feuilles sèches au sol seraient plus accessibles pour l'animal que les vertes.

Les organes foliaires verts sont directement arrachés des arbres tandis que les organes secs sont récupérés au sol. Les feuilles sèches sont choisies molles et non craquelantes. La présence d'un pétiole non totalement desséché permet de faire la distinction. Des exemples des feuilles choisies sont proposés sur les photos 12 à 14. Les feuilles vertes sont à gauche et les feuilles sèches sont à droite.



Photos 12 : Feuilles de Châtaignier-pays.



Photos 13 : Feuilles d'Arbre à pain.



Photos 14 : Feuilles d'Amandier-pays.

Une fois prélevées, les feuilles subissent différentes transformations afin d'être analysées.

B) Etude de la valeur santé

1) Les extractions

Une extraction a pour but de séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange. Pour se faire, des solvants de polarités différentes sont choisis. Un solvant polaire attire les composés hydrophiles, un solvant apolaire attire les composés hydrophobes.

Trois types d'extractions ont été réalisés sur les feuilles vertes et les feuilles sèches : une extraction aqueuse à chaud, une lixiviation au méthanol et une autre au dichlorométhane.

❖ Extraction aqueuse

L'extraction aqueuse (à chaud) a pour but d'extraire les molécules les plus polaires.

La décoction est la méthode retenue parmi toutes celles existantes car elle permet d'extraire, entre autres, les tanins condensés qui sont les molécules d'intérêts de cette étude. Elle est réalisée selon le schéma 1, Annexe 4.

❖ Extraction par lixiviation au méthanol et au dichlorométhane

Deux lixiviations ayant respectivement comme solvant le méthanol et le dichlorométhane ont été réalisées afin de récupérer les composés moyennement polaires et apolaires présents dans les feuilles.

L'extraction se déroule en deux étapes. La première consiste à libérer les principes chimiques présents dans les feuilles et à faciliter l'extraction ultérieure, en humectant l'organe testé (découpé en petits morceaux) avec le solvant d'extraction tandis que la deuxième étape permet de recueillir le filtrat contenant tous les composés recherchés (phase inférieure), après que le solvant ait été progressivement ajouté à la partie supérieure du lixiviateur.

Le déroulement d'une lixiviation est proposé sur le schéma 2, Annexe 4.

Les extraits obtenus sont secondairement analysés par chromatographie sur couche mince et dosages spectrophotométriques afin de caractériser les classes chimiques qui y sont présentes.

2) Etude phytochimique

a) Le screening phytochimique

Le screening ou criblage phytochimique regroupe un ensemble de tests qui mettent en évidence la présence de différents groupes chimiques au sein d'un organe végétal.

Ces tests sont issus des méthodes classiques de (Dohou et al. 2003). Des réactifs spécifiques sont mis en contact avec des broyats ou des filtrats des feuilles, et les réactions colorimétriques ou physiques (formation de précipité) qui en résultent permettent de caractériser les éléments présents.

Les composés chimiques tels que les alcaloïdes, les anthocyanes, les coumarines, les dérivés anthracéniques, les flavanes, les phénols, les proanthocyanidols, les quinones, les saponosides, les stérols et triterpènes et les tannins sont recherchés. Le détail du protocole figure en Annexe 5.

A l'issue de ce screening, les composés majoritaires font l'objet d'études plus poussées.

b) Les chromatographies sur couches minces

Le principe de cette méthode est de séparer les différents composés présents dans un mélange et de les caractériser. Un système comportant une phase stationnaire (une plaque de silice) et une phase mobile (éluant) est mis en place. Les extraits sont déposés sur la plaque et le solvant de migration, constituant l'éluant, sépare les composés par capillarité. Chaque composé est caractérisé par un rapport frontal (Rf), qui est spécifique au composé dans le solvant de migration utilisé. Le Rf correspond au rapport de la distance parcourue par le composé sur la distance parcourue par le solvant.

Deux chromatographies basées sur les travaux de (Wagner et al. 1996) et visant respectivement à déterminer la présence de tannins et de triterpènes dans les feuilles sont réalisées. Pour chacun des organes foliaires verts et secs, les extraits aqueux, méthanolique, dichlorométhanoïque, aqueux + acétone et méthanolique + acétone sont testés. L'acétone ayant pour but de mettre en évidence l'éventuelle présence de tanins condensés.

Le solvant de migration des tannins condensés est composé d'acétate d'éthyle, d'acide acétique glacial et d'eau dans les proportions (100:20:30) (v:v:v). Les résultats sont observés dans le visible après pulvérisation d'un mélange d'acide phosphorique et de vanilline.

Le solvant de migration des triterpènes résulte du mélange d'acétate d'éthyle, d'acide acétique glacial, d'acide formique et d'eau dans les proportions (100:11:11:26) (v:v:v:v). La réaction est directement observable sous ultra violet à 254nm.

L'explication détaillée d'une chromatographie sur couche mince figure en Annexe 6.

c) Composition phytochimique des extraits

Les extraits aqueux et méthanoliques des trois arbres sont dosés afin de déterminer les quantités de polyphénols totaux, de tannins condensés et de flavonoïdes qu'ils contiennent. Le dosage des espèces chimiques précédemment citées est réalisé selon les méthodes de Singleton et al. (1965), Nakamura et al. (2003) et Zhishen et al. (1999).

La concentration en composés des extraits est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage (gamme de dosage) des standards de références que sont l'acide gallique, pour le dosage des polyphénols totaux, le quebracho pour le dosage des tanins condensés et l'épicatéchine pour le dosage des flavonoïdes.

L'équation de la courbe est de la forme $y = ax + b$ et la concentration (x) des extraits est calculée comme suit : $x = (y-b) \div a$. Les valeurs sont exprimées en mg.ml^{-1} puis en g.100g^{-1} d'extrait sec, afin de mieux percevoir la répartition des différents composés dans les extraits. Cette dernière valeur est obtenue par le calcul suivant : $(100 \times \text{Concentration}) \div \text{Prise d'essai}$.

3) Les tests anthelminthiques *in vitro*

Les effets antiparasitaires des extraits aqueux et méthanoliques de l'Amandier-pays, et des extraits méthanoliques de l'Arbre à pain et du Châtaignier-pays sont testés *in vitro* sur les différents stades de développement de *Haemonchus contortus*. Seules les feuilles sèches sont testées car considérées plus concentrées au terme du screening phytochimique.

Afin de déterminer si la concentration influence l'action anthelminthique des extraits, quatre doses sont testées : 5, 2.5, 1.25 et 0.625 mg.ml^{-1} .

a) Test d'éclosion des œufs d'*Haemonchus contortus* (Egg Hatch Assay, EHA)

L'objectif de ce premier test *in vitro* est d'évaluer l'effet des extraits sur l'éclosion des œufs du parasite. Le test (dit « E.H.A » : Egg.Hatch.Assay) est réalisé selon la méthode de (Assis et al. 2003).

Les œufs sont récupérés dans les fèces d'un mouton infesté par *H. contortus* selon la méthode de (Hubert et al. 1984).

Le détail de cette récupération est fourni en Annexe 7 a). La suspension d'œufs obtenue, est distribuée dans des boîtes de culture de 24 puits à raison de 0,5ml par puits, soit 200 œufs par puits. Les extraits à testés sont préparés aux concentrations de 0.625, 1.25 et 2.5 mg.ml⁻¹ dans du PBS puis sont répartis dans les mêmes proportions que la suspension d'œufs.

Une boîte de culture est allouée à chaque extrait et chaque concentration est testée cinq fois. Un témoin positif aux concentrations de 0,125%, 0.25%, 0,5% et 1% et un témoin négatif sont distribués dans les boîtes aux mêmes proportions que les extraits. Le témoin négatif est un soluté physiologique, le Phosphate Buffered Saline (PBS) et le témoin positif, l'Albendazole® est un anthelminthique ovicide de la famille des benzimidazolés.

Les œufs sont incubés à une température ambiante de 25°C durant 48heures. A l'issue de cette période, une solution de Lugol's iodine est ajoutée aux boîtes afin de stopper l'éclosion. Le comptage des larves écloses dans chaque puits est réalisé sous microscope inversé. Le pourcentage d'œufs éclos est déterminé par le rapport du nombre de larves L1 formées sur le nombre d'œufs déposé par puits. Le schéma d'une boîte de culture figure en Annexe 7 b).

b) Test de développement larvaire de *Haemonchus contortus* (Larval Development Assay, LDA)

Le test L.D.A. (Larval. Development. Assay) est un test de développement portant sur le passage des stades larvaires L1-L2 au stade infestant L3. Il est réalisé selon la méthode de (Coles et al. 1992) et permet de déterminer l'effet des extraits sur le développement larvaire d'*Haemonchus contortus*

Les larves L1-L2 sont obtenues à partir des œufs d'un mouton infesté par *Haemonchus contortus*. La récupération des ovocytes est identique à celle réalisée dans le test précédent, Annexe 7 a). Les œufs récupérés sont distribués dans les boîtes culture à raison de 200 entités par puits et laissés en incubation 48 heures à température ambiante. .

Après éclosion, un milieu nutritif est rajouté dans les puits. Les extraits à tester, le PBS et l'Albendazole® sont préparés et distribués à l'identique du test EHA dans chaque boîte de culture. Une boîte est réalisée pour chaque type d'extrait (méthanol, dichlorométhane, aqueux) et chaque concentration est testée cinq fois. Le schéma de plaque du test LDA est identique au schéma de plaque du test EHA, Annexe 7 b)

Une incubation de huit jours à température ambiante est nécessaire au développement des larves L1 en larves L3. A terme, le développement larvaire est stoppé par l'ajout d'une solution de Lugol's iodine.

Le comptage des larves est effectué sous microscope inversé en dénombrant séparément les larves au stade L3 des larves aux stades L1 et L2. Le pourcentage des larves L3 est le rapport du nombre de larves L3 sur le nombre total de larves observé dans chaque puits.

c) Test de motilité des vers adultes de *Haemonchus contortus*

Cette dernière manipulation réalisée selon la méthode de (Houzangbe-Adote et al. 2005), a pour but de tester l'effet des extraits sur la motilité des vers adultes de *Haemonchus contortus*.

Les vers adultes sont récupérés dans la caillette d'un mouton abattu quatre semaines après avoir été infesté expérimentalement (par voie orale) par des larves d'*Haemonchus contortus*.

La caillette est incisée et placée dans du sérum physiologique à 37°C afin de récupérer les individus adultes. Trois vers sont déposés dans les puits des boîtes de culture, puits qui ont préalablement été remplis de 2ml de sérum physiologique à 37°C. Après une heure d'incubation dans une étuve à 5% de CO₂ et à 37°C, le sérum physiologique est retiré des boîtes et remplacé par les différentes solutions à tester.

L'effet anthelminthique est observé pour des concentrations d'extraits de 5, 2.5, 1.25 et 0.625mg.ml⁻¹ et pour des concentrations de 0.125, 0.25, 0,5 et 1% pour le témoin positif. Toutes les solutions sont diluées dans un mélange de PBS-pénicilline-streptomycine avant d'être distribuées. Le témoin négatif est le PBS et le témoin positif est un dérivé de la classe synthétique des imidazothiazoles agissant sur les vers adultes : le Lévamisolé.

Une boîte de culture est réalisée pour chaque type d'extrait, chaque boîte contenant trois répétitions par concentration d'extrait, Annexe 7 c). Le milieu de culture est renouvelé au bout de 24h. La motilité des vers adultes est observée sous une loupe binoculaire après 6, 21, 27 et 48heures.

La motilité des vers adultes est calculée comme étant le rapport entre le nombre de vers mobiles et le nombre total de vers dans le puits.

C) Etude de la valeur nutritionnelle

1) Composition chimique des matières premières

Le pourcentage de matière sèche (MS) des matières premières est déterminé par séchage à l'étuve (80°C, 72h), jusqu'à poids constant. La matière minérale (MM) est mesurée après crémation (550°C, 4h) au four à moufles (AOAC, 1997).

La matière azotée totale (MAT) est dosée par chromatographie selon la méthode de combustion de Dumas. Les méthodes de Van Soest et al. (1991) ont été utilisées pour la détermination des compositions en NDF (neutral detergent fiber), ADF (acide detergent fiber) et ADL (acide detergent Lignin) en utilisant l'incubateur Ankom²⁰⁰⁰ Fiber Analyser. Le dosage des polyphénols totaux (PT), des tanins condensés (TC) et des flavonoïdes, sont respectivement réalisés selon les méthodes de Singleton et al. (1965), Nakamura et al. (2003) et Zhishen et al. (1999).

La réalisation des analyses, nécessite que tous les échantillons soient préalablement broyés.

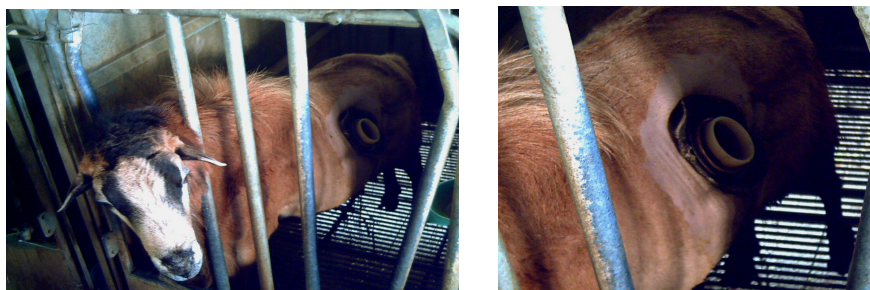
Afin de normaliser les expériences, les résultats obtenus sont exprimés en fonction du pourcentage de matière sèche (MS) des végétaux étudiés. Les concentrations sont exprimées en g.100g⁻¹ de feuilles rapportées à la matière sèche, afin de mieux percevoir la répartition des

différents composés dans les matières premières. La concentration en composés chimique est calculée come suit : $\text{masse de l'échantillon} \times \text{pourcentage (en MS)} \div 100$.

2) Etude de la dégradabilité des aliments *in sacco*

Cette méthode, basée sur les travaux initiaux de Quin et al. (1938), a pour but d'estimer la dégradabilité des aliments dans le rumen des animaux.

Trois béliers fistulés (photos 15 et 16) pesant en moyenne $54.21 \pm 5.29\text{kg}$ et âgés de 5 et 8ans sont utilisés pour cette étude qui s'échelonne sur 98 jours (14jours d'adaptation et 84jours d'expérience semaine de repos incluses).



Photos 15 et 16 : Bélier fistulé au niveau du rumen et agrandissement du dispositif

Le protocole expérimental est le suivant : 3g (en matière sèche) de végétal sont introduits dans le rumen des animaux via des sachets de nylon. Ces sachets sont retirés à intervalle de temps croissant (0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 et 96heures) afin de réaliser une cinétique de dégradabilité.

Deux aspects sont appréhendés : l'aspect nutritionnel avec la dégradabilité proprement dite des feuilles et l'aspect antinutritionnel avec l'influence potentielle des tannins sur la dégradabilité. L'aspect nutritionnel est étudié sur 42jours totaux durant lesquels les feuilles vertes et sèches d'un arbre (Arbre à pain, Amandier-pays ou Châtaignier-pays) sont testées toutes les deux semaines avec un intervalle d'une semaine de repos.

L'aspect antinutritionnel est étudié sur les 42jours suivants durant lesquels le protocole d'étude est similaire à celui de la première période à ceci près que qu'il est complémenté par l'addition de Polyéthylène Glycol (PEG4000) dans le rumen des animaux. Cet additif est un composé chimique inerte qui forme des complexes stables avec les tannins condensés, les empêchant ainsi de se lier aux protéines.

Durant toute l'expérimentation, la ration alimentaire des animaux se compose de fourrage vert et de luzerne. Ils consomment en moyenne 321.12g de luzerne sur 400g proposés et 103g de matière sèche de fourrage sur 198g proposés. La méthode d'évaluation de la valeur alicament de ressources végétales est proposée en Annexe 8.

« L'aliment étant introduit directement dans le rumen, il ne se subit pas la mastication, la rumination et le turn-over que subit un aliment naturellement ingéré. La dégradabilité des nutriments n'est donc calculée qu'à partir d'une cinétique et analysée en tenant compte de la durée de séjour des aliments dans le rumen (Naquin 2002). »

Le pourcentage de dégradabilité *in sacco* est calculé de la façon suivante :

$$[(\text{masse initiale} - \text{masse résiduelle}) \div \text{masse initiale}] \times 100.$$

D) Traitement des données

Les données des tests *in vitro* et de dégradabilité *in sacco* sont traitées statistiquement avec le logiciel Minitab® Release 14 Software. Un test de comparaison des moyennes est réalisé (test de Bonferroni). La Pr value du test statistique permettant de comparer les moyennes (traitement et témoin) a été fixé à 95% pour conclure à l'équivalence des moyennes. Quand la Pr value est inférieur à 5%, nous concluons à une différence significative entre les moyennes du traitement et du témoin. Les effets doses des tests anthelminthiques sont mis en évidence par une régression sur le logiciel Minitab®.

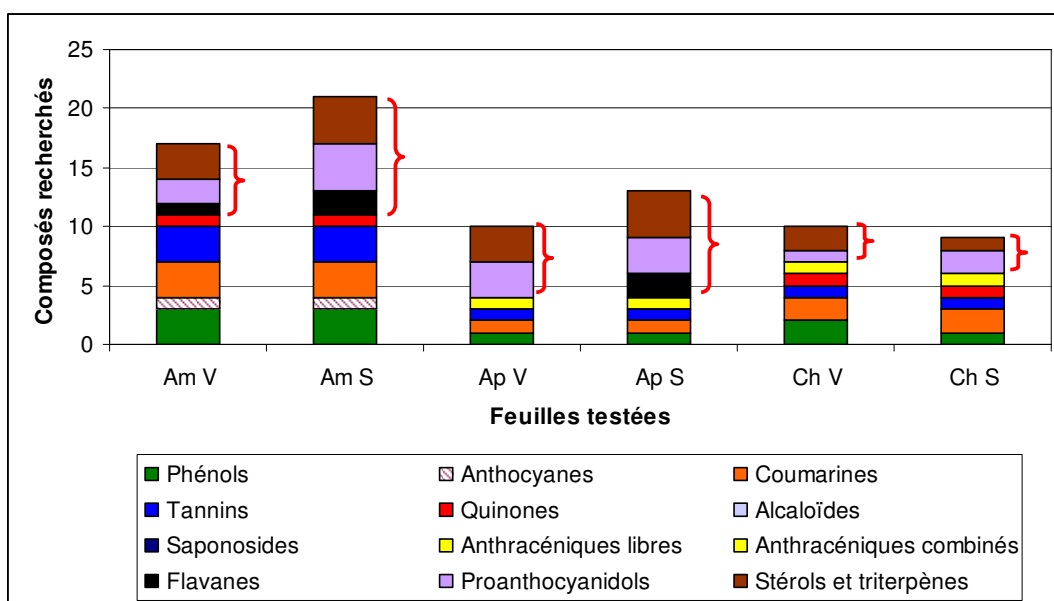
III) Résultats-Discussion

A) Etude de la valeur santé

1) Etude phytochimique

a) Le screening phytochimique

Les résultats obtenus pour les trois arbres sont explicités sur le graphique 1 ci-dessous.



Légende : Am : Amandier-pays, Ap : Arbre à pain, Ch : Châtaignier-pays, V : vert, S : sec, « } » : Composés déterminant la variabilité chimique entre les différentes matières premières

Graphique 1 : Composition phytochimique qualitative des feuilles vertes et sèches de l'Amandier-pays, de l'Arbre à pain et du Châtaignier-pays.

Concernant l'Amandier-pays : La feuille verte et la feuille sèche possèdent les mêmes métabolites secondaires. Les proanthocyanidols, les flavanes et les stérols et triterpènes semblent être présents en quantité supérieure dans les feuilles sèches.

Concernant l'Arbre à pain : Les métabolites testés sont répartis dans les mêmes proportions dans la feuille verte et la feuille sèche de l'Arbre à pain, à l'exception des stérols et triterpènes qui sont en quantité plus importante dans l'échantillon sec et des flavanes présents dans ce même échantillon sec et absent dans l'échantillon vert.

Concernant le Châtaignier-pays : Les feuilles vertes et sèches possèdent les mêmes composés, dans les mêmes proportions, exception faite des phénols et des stérols et triterpènes, plus nombreux dans les feuilles vertes et des proanthocyanidols plus nombreux dans les feuilles sèches.

Remarque : Les proanthocyanidols, les stérols et triterpènes et les flavanes -quand ils sont présents- représentent la très faible variabilité différenciant les feuilles vertes des feuilles sèches (cf. graphique 1 symbole « } »).

b) Les chromatographies sur couches minces

❖ Les tannins

Plusieurs spots ont été révélés pour chaque dépôt (photo 17). Les rapports frontaux ont été calculés et certaines espèces chimiques ont été identifiées.

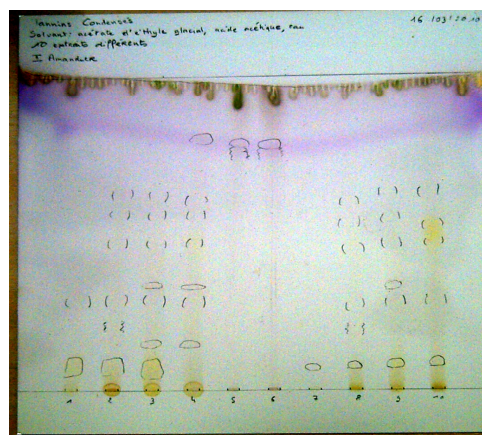


Photo 17 : CCM de l'Amandier-pays

La principale espèce chimique retrouvée au sein des trois arbres est la procyanidine également connue sous le nom de proanthocyanidol ou tannin condensé. La procyanidine est retrouvée dans la majorité des extraits d'Amandier-pays et dans les extraits aqueux et méthanoliques vert et sec de l'Arbre à pain et du Châtaignier-pays.

❖ Les triterpènes

Les triterpènes n'ont été retrouvés que dans les extraits aqueux du Châtaignier et de l'Amandier-pays.

Au vue des résultats obtenus, les extraits au sein desquels le plus de composés sont révélés sont les extraits aqueux et méthanolique vert et sec. Ces deux types d'extraits sont donc choisis pour la suite des tests.

c) Composition phytochimique des extraits

Les équations des gammes de dosage sont les suivantes :

Polyphénols totaux : $y = 3.1725x + 0.0351$ $R^2 = 0.9976$

Flavonoïdes : $y = 1.964x + 0.0496$ $R^2 = 0.9484$

Tannins condensés : $y = 0.3974x + 0.025$ $R^2 = 0.975$

Les résultats des dosages, exprimés en $g.100g^{-1}$ d'extrait sec, sont exposés dans le tableau 2:

Tableau 2 : Concentrations en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés, dans les extraits aqueux et méthanoliques

Dosage	Polyphénols totaux		Flavonoïdes		Tannins condensés	
Extrait Feuilles	Aq	Mét	Aq	Mét	Aq	Mét
Am V	3.71	4.59	2.18	3.65	0.84	0.99
Am S	4.66	4.92	2.98	5.35	2.78	2.65
Ap V	1.49	0.40	1.16	0.57	0.91	0.00
Ap S	1.64	0.76	1.96	0.95	1.59	0.00
Ch V	2.04	1.29	2.70	1.64	0.74	1.22
Ch S	2.23	1.37	4.27	1.29	0.74	3.96

Globalement, le dosage des extraits met en évidence des valeurs de concentrations plus élevées dans les feuilles sèches que dans les feuilles vertes à l'exception :

- de l'extrait méthanolique du Châtaignier-pays où l'extrait vert est 1.27 fois plus concentré en flavonoïdes que l'extrait sec.
- des extraits aqueux du Châtaignier-pays et méthanolique de l'Arbre à pain pour lesquels les concentrations en tannins des deux feuilles sont égales.

Bilan global : La comparaison des trois arbres -feuilles vertes et sèches regroupées- montre que l'Amandier-pays contient les composés recherchés en proportions plus importantes que l'Arbre à pain et le Châtaignier-pays, exception faite des anthracéniques dont il est dépourvu. Ces résultats confirment ceux de la littérature pour la présence de tannins et de triterpènes chez l'Amandier-pays (Godfroid 2004, Longuefosse 2007, Ko et al. 2002, Mau et al. 2003, Chen P.-S. et al. 2006, Kinoshita et al. 2007) et de phénols pour l'Arbre à pain et le Châtaignier-pays (Longuefosse 2007).

Par ailleurs, deux types de tannins sont mis en évidence : des tannins galliques et catéchiques chez l'Amandier-pays, composés dont la présence est confirmée par la littérature (Godfroid 2004, Longuefosse 2007, Chen P.-S. et al. 2006, Kinoshita et al. 2007), et des tannins catéchiques chez les deux autres arbres.

L'Arbre à pain et le Châtaignier-pays sont qualitativement proches en composition phytochimique. Cependant, le Châtaignier-pays semble contenir des quantités plus importantes de flavonoïdes et de tannins condensés que l'Arbre à pain, tandis que les flavanes ne sont présents que dans l'Arbre à pain.

Les résultats obtenus en phytochimie ont conduit à poursuivre les tests uniquement sur les feuilles sèches globalement plus concentrées en métabolites secondaires.

2) Les tests anthelminthiques *in vitro*

a) Test d'éclosion des œufs de *Haemonchus contortus* (Egg Hatch Assay, EHA)

Le témoin négatif PBS montre un pourcentage d'éclosion supérieur à 95% ($P < 0.05$). Le témoin négatif Albendazole a un pourcentage d'éclosion moyen supérieur à 50% ($P < 0.05$).

Après comparaison avec le témoin négatif PBS (Tableau 3), seul l'extrait Am aq S est significativement différent ($P < 0.001$), avec un pourcentage d'éclosion moyen de 87.91% (± 4.58). Un effet dose-dépendant est mis en évidence pour cet extrait ($P < 0.001$; $R^2 = 53.0\%$).

Tableau 3 : Comparaison des pourcentages moyens d'éclosion des extraits et des témoins.

Extrait	Moyenne des % d'éclosion	Erreur type	Pvalue/PBS	Pvalue/Albendazole
Am aq S	87.91	1.54	0.00	0.00
Am mét S	92.77	0.71	1.00	0.00
Ap mét S	91.74	1.72	0.32	0.00
Ch mét S	91.70	1.22	0.30	0.00
Albendazole	52.44	2.80	0.00	-
PBS	95.01	0.24	-	0.00

L'activité de l'extrait Am aq S sur l'éclosion ne semble pas être due à la présence des composés phénoliques, l'extrait méthanolique en contenant dans des quantités semblables, voire supérieures. L'analyse des résultats des CCM montre que l'extrait Am aq S est le seul à contenir des triterpènes. Ces composés pourraient donc être à l'origine de l'effet observé sur les œufs de *H. contortus*.

b) Test de développement larvaire de *Haemonchus contortus* (Larval Development Assay, LDA)

Le pourcentage de développement larvaire du témoin PBS atteint 95.66% ($P < 0.05$) tandis que celui du témoin positif Albendazole varie entre 11.73 et 14.12% ($P < 0.05$) pour les concentrations testées. Comparativement au témoin négatif PBS, tous les extraits testés montrent un effet significatif ($P < 0.001$) sur le développement larvaire (Tableau 5). Un effet dose est également observé pour tous les extraits (Am aq S : $R^2=95.6\%$; Am mét S : $R^2=97.3\%$; Ch mét S : $R^2=75.3\%$ et Ap mét S : $R^2=93.2\%$; $P < 0.001$).

Tableau 5 : Comparaison des pourcentages moyens de développement larvaire des extraits et des témoins.

Extrait	Moyenne des % de développement	Pvalue/PBS	Pvalue/Albendazole
Am aq S	75.38	0.00	0.00
Am mét S	61.00	0.00	0.00
Ap mét S	70.20	0.00	0.00
Ch mét S	78.99	0.00	0.00
Albendazole	12.54	0.00	-
PBS	95.66	-	0.00

Les résultats phytochimiques compilés aux résultats anthelminthiques montrent que l'efficacité sur le développement larvaire serait liée à la présence de composés phénoliques dans les extraits. Les doses de polyphénols totaux efficaces testées pour l'Amandier-pays sont comprises entre 0.030 et 0.120mg.ml⁻¹. Elles varient entre 0.005 et 0.019 mg.ml⁻¹ pour l'Arbre à pain et 0.009 et 0.034 pour le Châtaignier-pays. Des résultats similaires ont déjà été observés avec des plantes à tanins condensés notamment (Marie-Magdeleine 1999).

c) Test de motilité des vers adultes de *Haemonchus contortus*

Après 6heures de contact, les pourcentages de vers motiles ne sont pas significativement différents entre les extraits et les témoins (tableau 6).

Aucune différence significative (P>0.05) n'est observée entre témoins (négatifs et positifs) et extraits après 21h et 48h d'incubation (tableau 6). Aucun effet sur la motilité du vers adulte n'est donc mis en évidence.

Tableau 6 : Comparaison des pourcentages moyens de vers motiles des extraits et des témoins.

Traitement	Durée d'incubation					
	6heures			21heures		
	Moyenne des % de vers motiles	Pvalue PBS	Pvalue Lévamisole	Moyenne des % de vers motiles	Pvalue PBS	Pvalue Lévamisole
Am aq S	100.00	1.00	1.00	8.33	1.00	1.00
Am mét S	100.00	1.00	1.00	7.29	1.00	1.00
Ap mét S	100.00	1.00	1.00	0.00	0.99	1.00
Ch mét S	100.00	1.00	1.00	0.00	0.07	1.00
Lévamisole	98.44	1.00	-	0.00	0.07	-
PBS	100.00	-	1.00	18.33	-	0.07

B) Etude de la valeur nutritionnelle

1) Composition chimique des matières premières

La composition chimique des matières premières est présentée dans le Tableau 7ci-dessous :

Tableau 7 : Composition chimique des matières premières Amandier-pays, Arbre à pain et Châtaignier-pays et du témoin fourrage Pangola (*Digitaria decumbens*) en %MS

Feuilles	MS (%)	MO	MM	MAT	NDF	ADF	ADL	PT	TC	Flav
Am V	34.2	89.3	10.7	12.1	37.7	24.4	7.6	3.5	0.51	0.85
Am S	47.6	88.6	11.4	4.1	36.6	27.3	8.6	3.33	2.43	1.5
Ap V	27.9	85.7	14.3	13.8	50.7	33.6	12.8	0.74	0.00	0.21
Ap S	32.3	81.5	18.5	6.2	52.7	35.8	12.1	0.58	0.36	0.01
Ch V	32.4	87.3	12.7	15.4	52.5	37.2	16.5	0.76	0.97	0.35
Ch S	59.4	79.7	20.3	6.6	52.2	35.9	15.3	0.39	0.61	0.07
Pangola	18.3	88.8	11.2	13	70.3	36.4	5.9	-	-	-

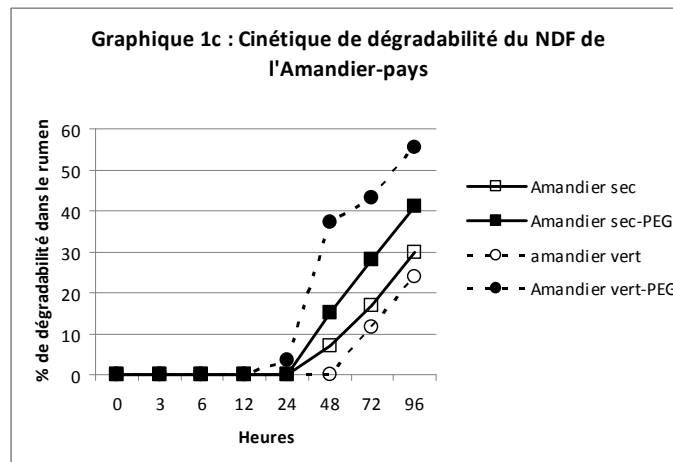
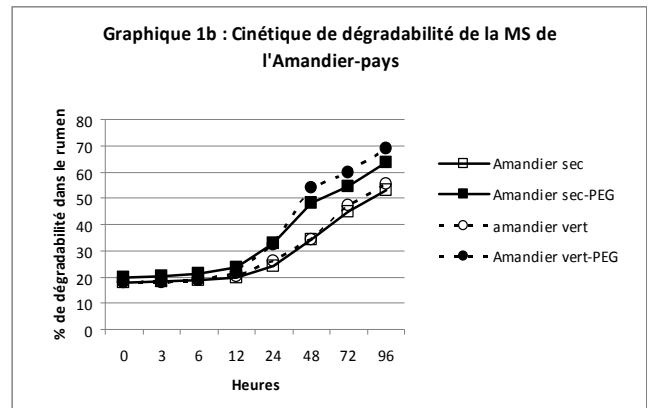
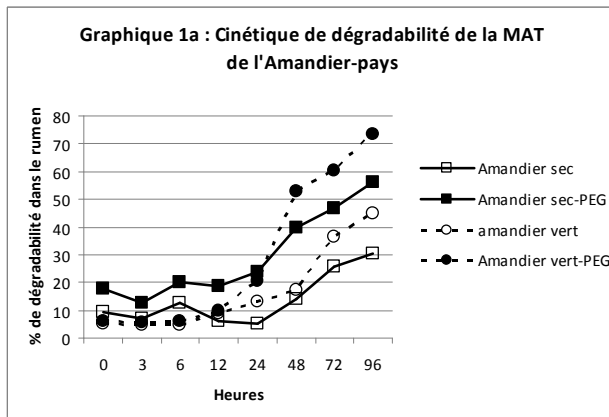
Les résultats obtenus en composition chimique indiquent que les matières premières étudiées ont en général une valeur nutritionnelle du même ordre qu'un fourrage classique tel que le Pangola. Si on s'intéresse à la seule matière azotée totale (MAT) sa valeur est supérieure pour les matières premières vertes. Cette meilleure valeur azotée doit être considérée avec prudence car il est nécessaire de déterminer s'il s'agit d'azote réellement disponible pour l'animal.

Les ressources végétales contiennent également des composés phénoliques, qui peuvent constituer des facteurs antinutritionnels.

2) Etude de la dégradabilité des aliments *in sacco*

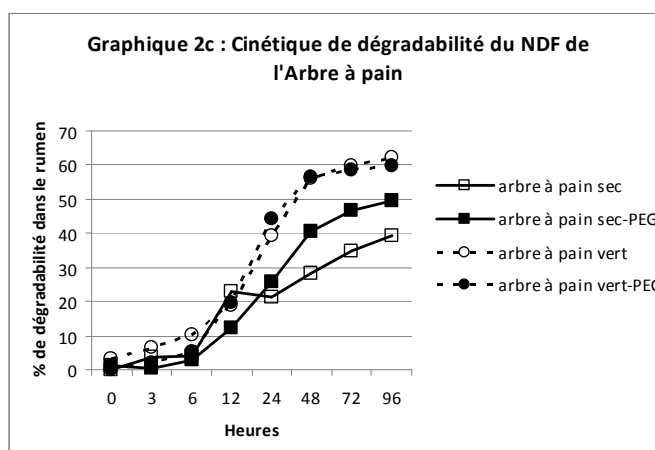
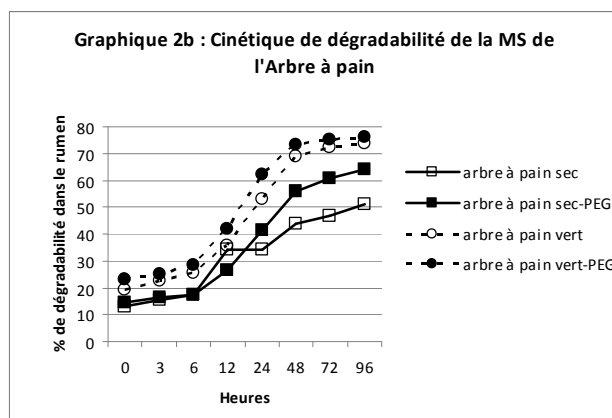
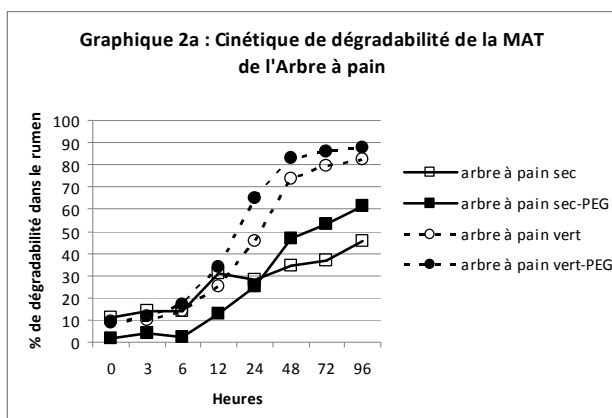
Les cinétiques de dégradabilité des trois matières premières testées sont représentées sur les graphiques ci-dessous, (a) pour : la MS, reflet de la ressource végétale globale, (b) pour la MAT, paramètre important caractérisant la valeur alimentaire, et (c) pour le NDF, reflet de la paroi végétale entière. Les temps de séjour moyen de ce type de fourrages dans le tube digestif de petits ruminants étant de 24h à 48h, ces données seront ciblées pour la discussion.

a) Amandier pays:



Les résultats de dégradabilité relativement faible à 24 et 48h, confirment l'activité antimicrobienne relevée dans la littérature (Chang-Cherng et al. 2006). La présence de produits antinutritionnels est mise en évidence par la baisse de dégradation générale du témoin (55.3 ± 3.8) à 24h pour la MS. Dans un contexte d'élevage, la digestion de la totalité de la ration serait affectée. De plus, la dégradation de l'azote est limitée par les tannins dans la feuille comme l'indique l'augmentation des dégradations en présence de PEG ($P < 0.01$).

b) Arbre à pain :

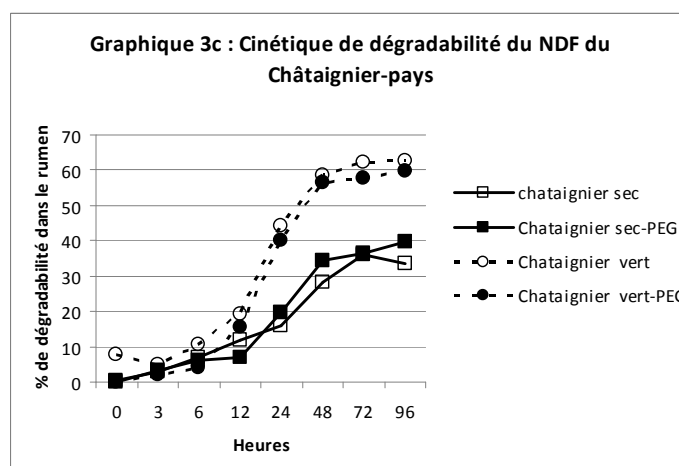
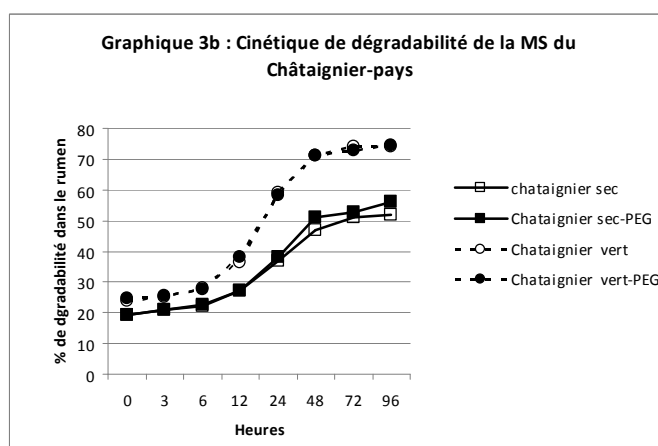
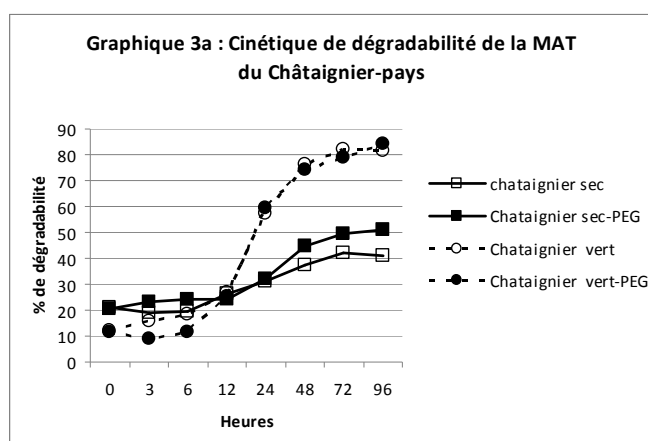


La MS, la MAT et le NDF des feuilles vertes, plus jeunes, sont mieux dégradés que le sec, car plus vieux, donc plus lignifié.

La dégradation de l'azote est limitée par les tannins dans le vert et le sec comme l'indique l'augmentation des dégradations en présence de PEG ($P < 0.001$). Ce phénomène est surtout mis en évidence dans le sec, plus concentré en tanins.

Le niveau de dégradation des feuilles vertes d'Arbre à pain est proche de celui du fourrage classique témoin (60 ± 7.0 pour la MS).

c) Châtaignier- pays :



La MS, la MAT et le NDF des feuilles vertes, plus jeunes, sont mieux dégradés que le sec, car plus vieux, donc plus lignifié.

La dégradation de l'azote est limitée par les tannins dans le vert et le sec comme l'indique l'augmentation des dégradations en présence de PEG ($P < 0.001$).

Le niveau de dégradation des feuilles vertes de Châtaignier-pays est proche de celui du fourrage classique témoin (62 ± 5 à 24 heures pour la MS).

Les feuilles d'Arbre à pain et de Châtaignier-pays ont des dégradabilités assez proches.

Cependant, pour un usage alimentaire, les feuilles sèches d'Arbre pain (moins de TC) auraient un meilleur intérêt ainsi que les feuilles vertes du Châtaignier-pays (MAT supérieure). Cela s'explique peut être par des âges de récoltes différents des ressources.

Les résultats de dégradabilité supérieure en présence de PEG pour les trois matières premières montrent qu'une partie de la ressource azotée est non disponible au niveau du rumen. L'augmentation de dégradabilité observée avec le PEG s'explique par la complexation du PEG avec les tanins présents dans la plante. Il est donc nécessaire de déterminer la disponibilité réelle de la protéine au niveau intestinal afin d'expliquer la faible digestibilité ruminale.

V) Conclusion

Les résultats de cette étude préliminaire indiquent déjà que l'Amandier-pays est potentiellement une ressource à valeur anthelminthique alors que les 2 autres ressources pourraient être des alicaments. Pour ce qui relève du volet alimentaire, les feuilles sèches plus facilement disponibles dans le cadre de systèmes agro forestiers représentent une valeur nutritionnelle moindre mais non négligeable. Pour ce qui relève du volet anthelminthique, il serait nécessaire de compléter l'Amandier-pays pour palier à son effet antinutritionnel. Les résultats obtenus ici proviennent d'études réalisées *in vitro*. Ils doivent être confirmés par des approches *in vivo*.

Les perspectives de recherches sur le court terme sont donc la conduite d'essais d'alimentation où l'amandier serait testé comme anthelminthique et les deux autres ressources comme aliment et anthelminthique (alicament). L'objectif serait de tester des effets doses et d'analyser les réactions (acceptabilité, nutrition et santé) sur l'animal. Sur le plan phytochimique il faudrait valider l'implication des composés polyphénoliques dans l'activité anthelminthique du châtaignier et de l'arbre à pain ; ainsi que des composés terpéniques dans l'Amandier-pays.

VI) Lexique

Agriculture durable : système de production agricole qui vise à assurer une production pérenne de nourriture, de bois et de fibres en respectant les limites écologiques, économiques et sociales qui assurent la maintenance dans le temps de cette production.

Anthelminthique : se dit d'un médicament destiné à débarrasser l'organisme humain ou animal de la présence des helminthes (ver parasite de l'homme et des vertébrés appartenant à l'embranchement des plathelminthes (vers plats) ou à celui des némathelminthes (vers ronds).

Astringence : propriété de certaines substances de produire une crispation des muqueuses.

Caillette (ou abomasum) : véritable estomac des ruminants. Les autres compartiments sont dits pré-estomacs (panse, réticulum, feuillet) car ils assurent une digestion microbienne, la digestion enzymatique étant réalisée dans cet estomac.

Carminatif : favorise l'expulsion des gaz résultant de la fermentation intestinale.

Classification APG II : Classification botanique la plus importante à l'heure actuelle. Datant de 2003, elle est une modification de la classification APG de 1998. Elle est construite sur la base de deux gènes chloroplastiques et un gène nucléaire de ribosome, mais ces données sont complétées dans quelques cas par d'autres données.

Conformation bouchère : Apparence extérieure d'un animal d'élevage, appréciée par rapport aux objectifs de production de l'animal (lait, viande).

Dessaisonnement : Faire reproduire une femelle de mammifère, et notamment la brebis, en dehors de la saison sexuelle normale.

Fistules : ouvertures artificielles bouchées par un bouchon en plastique sur des poches digestives d'un animal vivant. Le bouchon permet d'avoir un accès direct aux aliments ingéré par l'animal.

Introduction de l'Arbre à pain : Les planteurs des Indes occidentales pensaient obtenir une nourriture moins coûteuse que le manioc pour leurs esclaves. Ils demandèrent au roi Georges III

d'envoyer une expédition à Tahiti afin de recueillir des plants d'arbre à pain. Lors du voyage de retour, le capitaine Bligh voulu rationner l'eau de l'équipage au bénéfice des plants et déclencha la célèbre mutinerie du Bounty qui fit échouer le projet. En 1792, une deuxième expédition fut lancée et 2162 jeunes pieds d'arbre à pain furent débarqués à la Jamaïque en février 1793 (Longuefosse 2007)

Nématode : ver némathelminthe cylindrique ou effilé, non segmentés, menant une vie libre ou parasitaire. Ils sont en général gonochoriques (les sexes sont séparés) et montrent souvent un dimorphisme sexuel : les mâles sont plus petits et portent des spicules copulateurs.

Phytothérapie : traitement ou prévention des maladies par l'usage des plantes.

Prévalence : Rapport du nombre de cas d'un trouble morbide à l'effectif total d'une population, sans distinction entre les cas nouveaux et les cas anciens, à un moment ou pendant une période donnés.

Production raisonnée : mode de production agricole qui vise à une meilleure prise en compte de l'environnement par les exploitants.

Prolificité : Chez les mammifères, nombre moyen de petits par portée.

Résilience : capacité d'un écosystème ou d'une espèce à récupérer un fonctionnement et/ ou un développement normal après avoir subi un traumatisme

Rumen ou panse : premier des pré-estomacs chez les ruminants.

Strongylose : maladie parasitaire des animaux domestiques, provoquée par des nématodes appartenant à la famille des strongyloïdés et aux familles voisines (strongylose intestinale des équidés, strongylose gastro-intestinale des ruminants, strongylose broncho-pulmonaire des ruminants et du porc).

VII) Bibliographie

Photographies :

Photo 1 : (Nabavi 2009) ; Photo 2 : (Terrill) ; Photo 3 : (Neels 2006)

Photo 4 : (Anon.2010b) ; Photo 5 : (Jacquiet 2008) ; Photo 6 : (Le Bellec et al. 2008)

Photo 7 : (Anon.2008a) ; Photos 8, 9, 10, 11: (338 Anonyme 2010)

Références bibliographiques

AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed. . Association of Analytical Chemists ed., Arlington, VA ed. , 1997.

ASSIS, L. M., et al. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Spigelia anthelmia* Linn. extracts on *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 11/3, 2003, vol. 117, no. 1-2, pp. 43-49. ISSN 0304-4017.

AUMONT, G., et al. Parasitisme digestif des petits ruminants dans les Antilles françaises. *INRA Production Animale*, février, 1997, vol. 10, no. 1, pp. 79-80 INRA.

BRUNET, S. Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. [tanins, petits ruminants, nématodes antiparasitaire] Doctorat spécialité : Pathologie et Nutrition ed. UNIVERSITE DE TOULOUSE, 28 novembre, 2008 [cited 15 janvier 2010].

CHARNG-CHERNG, C.; PEI-TZU, K. and JENG-LEUN, M. Antioxidant properties of aqueous extracts from *Terminalia catappa* leaves. *LWT - Food Science and Technology*, 12, 2006, vol. 39, no. 10, pp. 1099-1108. ISSN 0023-6438.

CHEN P.-S.; and LI J.-H. Chemopreventive effect of punicalagin, a novel tannin component isolated from *Terminalia catappa*, on H-ras-transformed NIH3T3 cells. *Toxicology Letters*. Elsevier, Shannon, IRLANDE (1977) ed., 2006, vol. 163, no. 1, pp. 44-53 INIST-CNRS. ISSN 0378-4274.

COLES, G. C., et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 9, 1992, vol. 44, no. 1-2, pp. 35-44. ISSN 0304-4017.

COUTURE, J. -. *Terminalia Catappa – Feuilles d’amandier Indien*. 12 avril, 2009 [cited 25 février 2010] Available from: <<http://www.quebecdiscus.com/articles/>>.

DAVOUST, P. Métabolites secondaires chez les végétaux. 9 octobre, 2009 [cited 15 janvier 2010] Available from: <http://www.ecosociosystemes.fr/metabolisme_secondaire.html>.

DOHOU, N., et al. Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 2003, vol. 142, no. 1-4, pp. 61-78. ISSN 0037-9093.

FOURNET, J. Flore 1 Illustré des Phanérogames de Guadeloupe et de Martinique. . CIRAD éd., Gondwana Editions éd. Trinité: , 2002. ISBN 2-908490-26-9.

FOURNET, J. La Grande Encyclopédie de la Caraïbe: Flore 1. Sanoli, 1990a. ISBN 4-932-321-00.

FOURNET, J. La Grande Encyclopédie de la Caraïbe: Flore 2. Sanoli, 1990b. ISBN 4-932-321-00.

GODFROID, P. Terminalia catappa : La plante des éleveurs de discus : [aquariophilie, discus, allothérapie, aquaculture, Terminalia catappa]France: 4 février, 2004 [cited 15 janvier 2010]Available from:<http://www.chantdeleau.com/dossiers/dossiers.php?id_dossier=66>.

GOTFREDESEN, E. Badamier. Liber Herbarum Minor. 10 décembre, 2009 [cited 15 janvier 2010]Available from:<<http://www.liberherbarum.com/Pn6700.htm> ; <http://www.liberherbarum.com/minor/fr/Pn6700.htm>>.

GRUNER, L.; and RAYNAUD, J. -P. Technique allégée de prélèvement d'herbe et de numération pour juger de l'infestation des pâturages de bovins par les nématodes parasites. Revue De Médecine Vétérinaire, 1980, vol. 131, pp. 521-529.

HOSTE, H., et al. Gestion non médicale du parasitisme: méthodes alternatives à la chimiothérapie. Journées Nationales GTV - Tours 2004. SNGTV, Société Nationale Groupements Techniques Vétérinaires ed., 2004, pp. 41-45.

HOUZANGBE-ADOTE, M. S., et al. In vitro effects of four tropical plants on three life-cycle stages of the parasitic nematode, Haemonchus contortus. Amsterdam, PAYS-BAS (1960) (Revue): Elsevier, 2 avril, 2005 sciencedirect. ISBN 0034-5288.

HUBERT, J.; and KERBOEUF, D. A new method for culture of larvae used in diagnosis of ruminant gastrointestinal strongylosis: comparison with fecal cultures. Canadian Journal of Comparative Medicine, janvier, 1984, vol. 48, pp. 63-71.

JABBAR, Abdul, et al. Anthelmintic resistance: The state of play revisited. Life Sciences, 11/25, 2006, vol. 79, no. 26, pp. 2413-2431. ISSN 0024-3205.

JACQUIET, P. La résistance génétique des moutons aux strongles gastro-intestinaux. , 18 décembre, 2008. Available from <<http://www.academie-veterinaire-defrance.org/academie/jacquiet.pdf>> Académie vétérinaire de France.

KINOSHITA, S., et al. Antioxidant and hepatoprotective actions of medicinal herb, Terminalia catappa L. from Okinawa Island and its tannin corilagin. Phytomedicine, 11/5, 2007, vol. 14, no. 11, pp. 755-762. ISSN 0944-7113.

KO, T-F; WENG, Y. -Mand CHIOU, R. Y. -Y. Squalene Content and Antioxidant Activity of Terminalia catappa Leaves and Seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 09 janvier, 2002, vol. 50, no. 19, pp. 5343-5348. ISSN 0021-8561.

KRIEF, S. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. ["Pan troglodytes, zoopharmacognosie, coprologie, analyse d'urine, phytochimie, *Diospyros abyssinica*, *Uvariopsis congensis*, acétogénines, *Trichilia rubescens*, limonoïdes, *Albizia grandibracteata*, ethnomédecine"]Doctorat du Museum National d'Histoire Naturelle ed. , 5 septembre, 2003 [cited 15 janvier 2010].

LE BELLEC, F.; and LE BELLEC, V. À la découverte des fruits des Antilles. PLB Editions ed. , 2008. ISBN 2-912300-77-0.

LONGUEFOSSE, J. -. Plantes médicinales Caraïbéennes Tome 1. Orphie 2007 ed. , 2007. ISBN 978-2-87763-367-3.

LÓPEZ-HERNÁNDEZ, E., et al. Characterization and Stability of Pigments Extracted from Terminalia Catappa Leaves. Journal of Food Science, 2001, vol. 66, no. 6, pp. 832-836. ISSN 1750-3841.

LREY 2007. Artocarpus altilis, arbre à pain, châtaignier-pays, breadfruit. [Artocarpus altilis, arbre à pain, châtaignier-pays, breadfruit]11 janvier, 2009 Available from: <<http://gardenbreizh.org/modules/gbdb/plante-223-artocarpus-tilis.html>> Gardenbreizh.

LREY 2007. Terminalia catappa, badamier, amandier-pays, amandier tropical, tropical almond. [Terminalia catappa, badamier, amandier-pays, amandier tropical, tropical almond]25 février, 2005 [cited 15 janvier 2010] Available from: <<http://gardenbreizh.org/modules/gbdb/plante-316-terminalia-catappa.html>> Gardenbreizh.

MARIE-MAGDELEINE, C. Etude de ressources végétales tropicales pour un usage anthelminthique en élevage de ruminants. Docteur de l'Université des Antilles et de la Guyane, Discipline Sciences Agronomiques ed. , 1999.

MASUDA, T., et al. Evaluation of the Antioxidant Activity of Environmental Plants: Activity of the Leaf Extracts from Seashore Plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 04/01, 1999, vol. 47, no. 4, pp. 1749-1754. ISSN 0021-8561.

MAU, J. -L; KO, P. -Tand CHYAU, C. -C. Aroma characterization and antioxidant activity of supercritical carbon dioxide extracts from Terminalia catappa leaves. Food Research International, 2003, vol. 36, no. 1, pp. 97-104. ISSN 0963-9969.

NABAVI, A. Haemonchus contortus-barber pole appearance- from abomasum of a sheep from Shooshtar city,Iran. 31 mai, 2009 Available from: <<http://parasites-world.com/haemonchus-contortus-barber-pole-appearance-from-abomasum-of-a-sheep-from-shooshtar-cityiranphotographed-by-dr-nabavijune-2009/>>.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.and TONOGAI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. Journal of Health Science, 2003, vol. 49, no. 1, pp. 45-54. ISSN 1344-9702.

NAQUIN, J. Etude de la dégradabilité de la matière azotée et de la valeur protéique d'un fourrage tropical, Digitaria decumbens (Pangola) par la méthode de la dégradabilité in sacco. [dégradabilité, in sacco, Digitaria decumbens, Pangola]D.U.T de Chimie ed. Institut Universitaire de Technologie d'Orléans ; Unité de Recherches Zootechniques du centre I.N.R.A Antilles-Guyane, 2 juillet, 2002.

NEELS, M. St. Croix sheep at Risins Sun Farm. , 2006 Available from: <<http://www.risingsunfarm.com/sheep.html>>.

ORWA, C., et al. Agroforestry Database 4.0 [Indian almond-wood, bastard almond, Andaman badam],30 septembre, 2009 [cited 15 janvier 2010]. Agroforestry Database:a tree reference and selection guide version 4.0, pp. 1-5. Available from <http://www.worldagroforestry.org/treedb2/AFTPDFS/Terminalia_catappa.pdf> Agroforestry Database 4.0.

PAOLINI, V., et al. Effets des tanins condensés et des plantes à tanins sur le parasitisme gastro-intestinal par les nématodes chez la chèvre = Effects of condensed tannins and tanniferous plants on gastrointestinal parasitism of goats by nematodes. [Tanin végétal ; Parasite ; Infection ; Tanin condensé ; Haemonchus contortus ; Chèvre]FRANCE: Institut de l'élevage, Paris, FRANCE, 4 décembre, 2002 Congrès 9es rencontres autour des recherches sur les ruminants : (Paris, 4-5 décembre 2002). ISBN 1279-6530.

QUIN, J. L.; VAN DER WATH, J. G.and MYUBURGH, S. Studies on the alimentary tract of merinos sheep in south africa. Journal of Veterinary Science and Animal Industry, 1938, vol. 11, pp. 341-360.

SASTRE, C.; and Breuil A. Plantes, milieux et paysages des Antilles françaises. Ecologie, biologie, identification, protection et usages. Biotope, Mèze ed. Collection Parthénope, 2007.

SENDOW, J. Haemonchus contortus. Animal Diversity Web: University of Michigan Museum of Zoology. Available from:<http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Haemonchus_contortus.html>.

SINGLETON, V. L.; and ROSS JR, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 1965, vol. 16, no. 3, pp. 144-153.

SYKES, A. R. Parasitism and production in farm animals. Animal Production, 1994, pp. 155-172.

TERRILL, T. Agricultural Research Council Section 4 - Common Diseases and Conditions. Available from:<<http://www.arc.agric.za/tools/mobileView.asp?pid=3983>>.

URZ. Le mouton Martinik. 9 décembre, 2008 Available from:<http://www.antilles.inra.fr/les_recherches/unite_de_recherche_en_productions_animales/adaptation_aux_contraintes_d_elevage/caracterisation_des_populations_locales/le_mouton_martinik> INRA Antilles Guyane.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.and LEWIS, B. A. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. Journal of Dairy Science, 1991, vol. 74, no. 10, pp. 3583-3597.

WAGNER, H.; and BLADT, S. Plant drug analysis A Thin Layer Chromatography Atlas Second Edition. Springer ed. Allemagne: Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1996 Springer. ISBN 3-540-58676-8.

WOLSTENHOLME, Adrian J., et al. Drug resistance in veterinary helminths. Trends in Parasitology, 10, 2004, vol. 20, no. 10, pp. 469-476. ISSN 1471-4922.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T. JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry, 3, 1999, vol. 64, no. 4, pp. 555-559. ISSN 0308-8146.

Références électroniques

Métabolite secondaire. [métabolite secondaire]8 janvier, 2010a [cited 15 janvier 2010]Available from:<http://fr.wikipedia.org/wiki/M%C3%A9tabolite_secondaire>.

North American Barbados Blackbelly Sheep Registry. 18 avril, 2010bAvailable from:<<http://barbados.sheepregistry.com/>>.

BrProj. , 2009a.

Tanin. [tanin]22 décembre, 2009b [cited 15 janvier 2010]Available from:<<http://fr.wikipedia.org/wiki/Tanin>> wikipedia.

Ifrance; Amandier-pays, Arbre à pain. 31 août, 2008aAvailable from:<<http://quartiercreole.ifrance.com/nouvellepage1.htm>>.

Strongles digestifs. 18 novembre, 2008bAvailable from:<http://www2.vet-lyon.fr/etu/copro/sommaire/diagnostic_par_especes/petits_ru/caprins/fiche_para/fl_haem_cp.htm> Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

Discus phong ; Les feuilles de Terminalia catappa. 2 mai, 2007Available from:<<http://discusphong.free.fr/terminalia%20catappa.html>>.

Haemonchose ovine. . Janssen Santé Animale ed., Belgique: , avril, 2002.

Moyens de lutte contre les parasites internes chez les ruminants. AgroBio, 1994, vol. 370, no. 04 Ecological Agriculture Project.

Aide à la gestion du Troupeau : Race Martinik. , aAvailable from:<<http://www.ibrebis.com/nav.php?p=races&race=38>> iBrebis - Le site des professionnels du mouton et des ovins - Société SoftMouv.

Des huiles essentielles éthiques et rares : Badamier Terminalia catappa. [Badamier, amande tropicale, Terminalia catappa], b [cited 15 janvier 2010]Available from:<http://www.inlustrys.com/commun/mp_aff.php?id=238&art=art&n=670> In-Lustrys, l'héritage de la nature.

Annexes

1) Cycle détaillé de *Haemonchus contortus*



La femelle localisée dans la caillette de l'animal pond quotidiennement 5 000 à 10 000 œufs. Ceux-ci passent du tractus digestif au milieu extérieur via les fèces de l'hôte. Une fois dans le milieu environnant et dans des conditions optimales de températures (24 à 29°C), des larves dites au stade L1 éclosent des œufs. Quatre à six jours s'écoulent entre l'émission des œufs et ce stade.

24 à 48 heures après l'apparition du stade L1, une première mue a lieu et les larves deviennent des larves L2. Les deux stades juvéniles se nourrissent exclusivement de bactéries présentes dans le fumier.

Deux à quatre jours après, des larves infestantes L3 apparaissent suite à une nouvelle mue. Elles migrent vers le sommet des brins d'herbe et attendent d'être ingérées par les animaux. Ces larves possèdent une gaine protectrice qui premièrement leur permet de survivre dans le milieu et deuxièmement les protégera lors de leur passage dans le tractus digestif. Dans l'attente, elles ne vivent que de leurs réserves lipidiques. Une fois avalées, les larves L3 transitent dans le tube digestif jusqu'à la caillette. Durant le trajet, elles perdent leur gaine protectrice et se logent dans la muqueuse. L'accumulation des larves dans l'estomac modifie la pression partielle de CO₂ et élèvent la température du milieu.

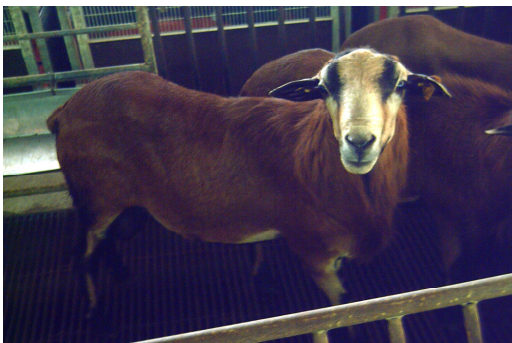
Les modifications dans l'environnement digestif induisent le développement, 48 heures après, des larves L3 en larves L4 hématophages. Elles ont perdu leur gaine mais ont acquis une dent vestigiale perforante qui leur permet d'atteindre la lumière des capillaires sanguins de la muqueuse et de se nourrir.

Au cours des quatre à six jours suivants, la larve L4 évolue en larve juvénile au stade L5 et une semaine après les adultes sexués apparaissent. Tous les individus hématophages se nourrissent de 0,05ml de sang par jour.

Trois semaines s'écoulent entre l'infection de l'animal et l'apparition des premiers œufs dans les fèces : Stade Pré-Patent (Sendow).

2) Caractéristiques du mouton « Martinik »

Les caractéristiques physiques et les aptitudes propres à la race font du mouton Martinik un animal important dans la production ovine locale :

Caractéristiques physiques	Aptitudes
<ul style="list-style-type: none">-absence de laine-absence de cornes-oreilles horizontales-dos droit et long-robe majoritairement multicolore 	<ul style="list-style-type: none">-animal fécond-dessaisonnement* aisé-conformation bouchère*,-bonne prolificité* de 130 à 190%-rythme de reproduction soutenu de 3 mises bas en 2 ans,-résistante au parasitisme interne,-poids au sevrage de 12 à 16kg (suivant conditions d'élevage),-aptitude à l'élevage au pâturage,

(Anon.)

Un programme d'amélioration génétique de la race a été approuvé par la Commission nationale d'amélioration génétique du ministère de l'Agriculture en 1993.

Il s'agit du premier programme d'amélioration génétique officiellement agréé et reconnu dans la Caraïbe, et le seul en ce qui concerne les moutons.

Les objectifs du schéma de sélection sont de maintenir de bonnes aptitudes de reproduction (prolificité et dessaisonnement), l'adaptation à l'élevage au pâturage et d'augmenter les performances laitières des mères et la conformation bouchère des produits, notamment le développement de la masse musculaire (URZ 2008).

3) Les tannins

❖ Définition

Les tannins (ou tanins) sont des molécules organiques non azotées fabriquées par les voies métaboliques secondaires des végétaux. Ce sont des composés solubles dans l'eau, qui n'assurent pas strictement la survie du végétal mais qui constituent un moyen de lutte efficace dans les interactions plante-plante telles que les relations allélopathiques, d'inhibition de la germination et de la croissance (Brunet 2008, Davoust 2009, Anon.2009, Anon.2010) et contre les agressions des prédateurs tels les insectes et les mammifères herbivores (Brunet 2008, Hoste et al. 2004).

❖ Caractérisation

Les tannins appartiennent au groupe des phénols et sont distingués en deux catégories selon leur structure biochimique :

- les tannins hydrolysables (THs) et
 - les tannins condensés (TCs) ou proanthocyanidols
- (Brunet 2008, Davoust 2009, Anon.2009, Anon.2010, Hoste et al. 2004)

❖ Particularités biologiques des plantes à tannin :

« Les tannins sont présents dans toutes les parties du végétal. La présence des tannins rend les plantes moins appétentes pour les mammifères herbivores à cause de la sensation d'astringence résultant de leur consommation. Cette astringence conduit alors à un arrêt de la consommation et protège ainsi les végétaux d'une prédation excessive. La teneur en tannins d'une plante varie en fonction de plusieurs facteurs intrinsèques, tels que l'espèce et la variété, la partie ou le stade végétales, et extrinsèques, comme les conditions climatiques, pédologiques ou le stress de prédation (Brunet 2008). »

4) Les extractions

Schéma 1 : Méthode d'extraction aqueuse à l'eau chaude ou décoction

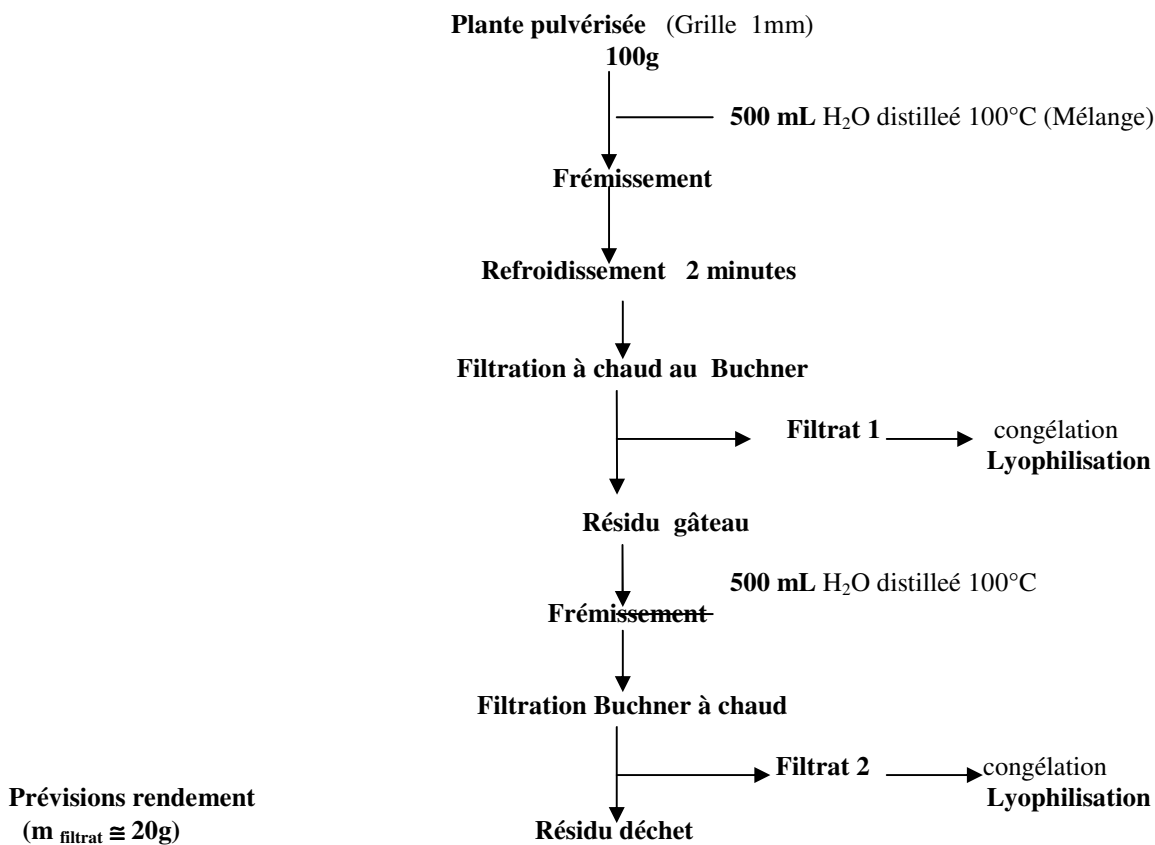
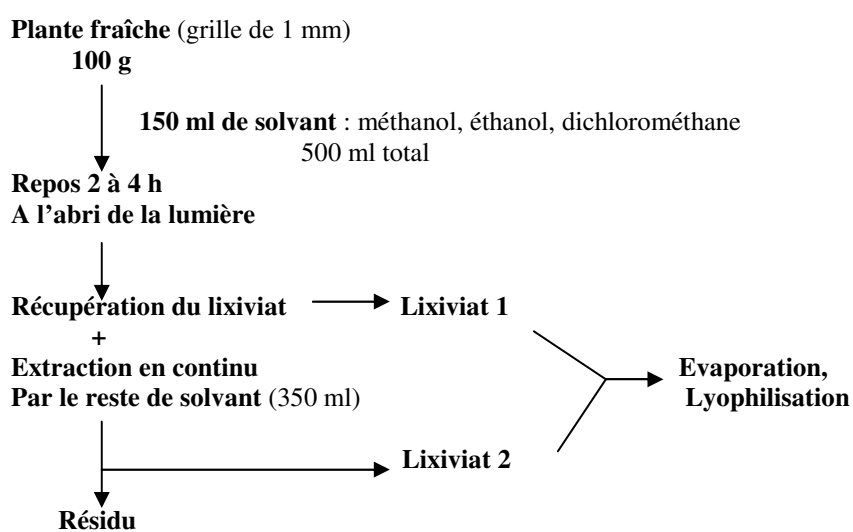



Schéma 2 : Méthode d'extraction par lixiviation.



5) Screening phytochimique

	Unité : Unité de Recherches Zootechniques	
	Service/équipe :	
Nature du document : MODE OPERATOIRE		
SCREENING MANIOC		
Rédigé par : PLACERDAT Jessica	Code: MO-domaine-numéro	Nombre de pages : 7
Revu par : Philibert Lucien Marie-Magdeleine Carine	N° Version : 1	
Validé par :	Emis le :	
Destinataires : tt agent laboratoire	Modifiée le :	

1. Objet et domaine d'application

Cette procédure permet de mettre en évidence l'ensemble des métabolites présents dans les feuilles de manioc.

La préparation du matériel végétal sera différente en fonction du métabolite recherché.

Cette procédure est utilisable pour toutes les plantes.

2. Documents de référence

Bull.Soc.Pharm.Bordeaux, 2003, 142,61-78.Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *thymelaea lythroides*. N.DOHO, K.YAMNI, S.TAHROUCH, L.M. IDRISSE HASSANI, A. BADO, N. GMIRA.

Etude de la phytochimie et de l'activité antipaludique de l'*Archornea Cordifolia* Schmach (Euphorbiaceae) Thèse, 2002, TOGOLA Adiaratou.

3. Liste de diffusion et si nécessaire niveau de confidentialité

Tout agent de laboratoire, stagiaire...

4. Hygiène et sécurité

L'utilisation de solvant implique une protection obligatoire.

Il est important de manipuler avec des gants et selon les produits d'utiliser des lunettes de protection. De plus il est préférable de préparer et d'utiliser les réactifs sous une hotte.

5. Principe de la méthode

L'ensemble des métabolites présents dans le matériel végétal est extrait de la plante (macération, infusion). La méthode du screening se base sur le fait que les métabolites mis en présence de réactif chimique déterminé subissent une réaction spécifique qui permet de les identifier les uns par rapport aux autres. A la fin d'un screening on est alors capable d'établir la liste des métabolites présents dans le matériel végétal.

6. Matériels nécessaires

- Pipettes, tube à essai, bécher
- Agitateur
- portoir
- Rotavapor
- Entonnoir, coton

- Balance, coupelle de pesée, spatule
- Bain-marie
- Tubes
- Plaques de CCM1
- Seringues
- Cuve
- Evaporateur rotatif
- Sonicateur
- Erlenmeyer

7. Réactifs (chimiques et biologiques)

❖ 7.1 .Préparation du matériel végétal

• 7.1.1 Solution A

Infusé à 10% :20 g d'organes broyés sont placés dans un erlenmeyer contenant 200mL d'eau bouillante. Boucher l'erlenmeyer et laisser infuser 20 minutes. Filtrer.

• 7.1.2 Solution B

Extraits méthanoïques : mettre 2g de matériel végétal sec et broyé dans 100ml de méthanol 50%.Après une sonication de 15min et agitation toute la nuit, filtrer les extraits et évaporer à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les résidus sont repris dans quelques ml de méthanol pur.

• 7.1.3 Solution C

Filtrats d'éther éthylique: Faire macérer pendant 24h, 1g de poudre de matière végétal dans 20mL d'éther, puis filtrer.

❖ 7.2. Réactifs chimiques

- Acétate d'éthyle
- Méthanol 50%
- Méthanol pur
- Réactif de Dragendorff (tétraiodobismuthate de potassium)
- Ammoniaque concentré et dilué à 10%
- Anhydride acétique
- Chloroforme
- Acide sulfurique concentré
- Chlorure ferrique
- Soude 1/10 et 0.2N

- Chlorure ferrique à 3% et 1%
- Poudre de magnésium
- Vanilline
- Alcool chlorhydrique 0.2N
- Ether de pétrole
- Ether éthylique

1. Contrainte de la méthode

- Certaines réactions ne sont pas spécifiques. (ex : la fluorescence U.V pour les coumarines)

2. Contenu du mode opératoire

❖ 9.1. Recherche des phénols. (BATE-SMITH 1956)

Préparer une solution d'acide chlorhydrique 0.5N.

- La masse molaire de HCl vaut 36.5g/mol
1 mole pèse 36.5 g. La densité est de 1.186 soit $v=36.5/1.186 = 30.77$ ml

Pour préparer une solution molaire d'HCl il faudrait prendre 30.77 ml d' HCl pur pour 1 litre d'eau. Or le solution d' HCl n'est pas pure et est à **X%** de richesse. Pour la préparation il faudra prendre alors $(30.77*100)/X = Y$ ml d'HCl pour 1 litre .La recherche des phénols nécessite d'avoir HCl 0.5N soit **Y*0.5** (.....ml pour 1 litre).

Préparer une solution de chlorure ferrique à 3% dans l'acide chlorhydrique 0.5N.

- 3g de chlorure de fer dans 100ml d'acide chlorhydrique 0.5N.

- Dans le tube mettre :
2ml de la **solution A** + 1ml de la solution ferrique à 3% préparée.

Interprétation : L'apparition d'une coloration bleue virant au noir traduit une réponse positive.

❖ 9.2. Recherche des flavonoïdes. (HARBONES, MABRY, MABRY 1975) Réaction de SHINODA.

- Dans un tube mettre :
2ml de la **solution A**+ 2ml d'alcool chlorhydrique +0.2g de poudre de magnésium

Interprétation : L'apparition d'une coloration orange ou rouge témoigne de la présence de flavonoïdes.

❖ 9.3 Recherche des anthocyanes. (HARBORES, MABRY, MABRY 1975)

Préparer une solution d'acide chlorhydrique 2N.

Pour la solution ($Y \cdot 2$) =ml d'HCl dans 1 litre d'eau.

- Dans un tube mettre :
2ml de la solution A + 2ml d'acide chlorhydrique 2N

Puis quelques gouttes d'ammoniaque concentrée.

Interprétation : Si la coloration rose-rouge vire au bleu-violacé après l'ajout des quelques gouttes d'ammoniaque, alors nous sommes en présence d'anthocyanes.

❖ 9.4 Recherche des flavanes. (GEISSMAN 1962)

Réaliser une solution de 2% de vanilline dans l'acide chlorhydrique concentré.

- 2g de vanilline dans 100ml d'acide chlorhydrique concentré.

- Dans un tube mettre :
2ml de la solution A + de solution de 2% de vanilline préparée.

Interprétation : L'apparition d'une coloration rouge indique une réaction positive.

❖ 9.5 Recherche des proanthocyanidols. (BATE-SMITH et RIBEREAU-GAYON 1959)

- Dans un tube mettre:
2ml de solution A + 2ml d'acide chlorhydrique.

Placer le bécher au bain-marie bouillant pendant 5minutes.

Interprétation : L'apparition d'une coloration rouge indique une réaction positive.

❖ 9.6 Recherche des coumarines. (HEERTERMAN 1961)

Préparer une solution de soude 0.2N.

- La masse molaire vaut 40g/mol
1 mole pèse 40g. La densité est de 2.1 soit $v = 40/2.1 = 19.04$ ml

Pour préparer une solution molaire de NaOH il faudrait prendre 19.04 ml de NaOH pur pour 1 litre d'eau. Or le solution de NaOH n'est pas pure et est à X% de richesse. Pour la préparation il faudra prendre alors $(19.04 \cdot 100)/X = Y$ ml de NaOH pour 1 litre .La recherche des coumarines nécessite d'avoir NaOH 0.2N soit $Y \cdot 0.2$ (.....ml pour 1 litre).

- Dans un tube à essai mettre :
1 à 2 g de plante sèche et broyée + 1ml d'eau

Préparer un papier filtre imprimé d'une solution de soude 0.2N, puis placer ce papier dans la partie supérieur du tube.

Interprétation : Une fluorescence jaune de ce papier à la lumière U.V indique une réaction positive.

❖ 9.7 Recherche des tanins (HAMPTON HOCH 1933)

Préparer une solution de chlorure ferrique à 1%.

- 1g de chlorure ferrique dans 100ml d'eau distillée.

- Dans le tube, mettre :
5mL de la **solution A** + 1mL de chlorure ferrique à 1%.

Interprétation : L'apparition d'un précipité bleu-noir traduit la présence de tanins galliques, un précipité brun-vert celle de tanins catéchiqes.

❖ 9.8 Recherche des quinones

➤ ATTENTION : Utilisation d'une autre préparation du matériel végétal.

Préparation : 1g de matériel végétal sec et broyé est placé dans un tube avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24h, les extraits sont filtrés et concentrés au rotavapor.

Récupérer la phase aqueuse puis ajouter quelques gouttes de soude 1/10.

Interprétation : Un virage de la phase aqueuse au jaune, rouge ou violet indique la présence de quinones.

❖ 9.9 Recherche des alcaloïdes (TEST DE DRAGGENDORF)

- Effectuer une CCM avec quelques microlitres de la **solution B** en utilisant comme solvant de migration un mélange d'acide éthanoïque/méthanol/ hydroxyde d'ammonium 50% dans les proportions (9 :1 :1).

Après la migration, pulvériser les spots fluorescents à 365nm avec le réactif de Draggendorf.

Interprétation : L'apparition en lumière visible de taches orange témoigne de la présence d'alcaloïdes.

❖ 9.10 Recherche des saponosides

➤ ATTENTION : Utilisation d'une autre préparation du matériel végétal.

Solution S

Préparation : mettre 2g de matériel végétal sec broyé dans 100mL d'eau, puis porter à ébullition pendant 30 minutes. Après refroidissement et filtration réajuster le volume à 100ml.

• **9.10.1 Approche quantitative.**

- A partir de la solution S, préparer 10 tubes :
 - tube1 : 1ml de S + 9 ml d'eau distillée
 - tube2 : 2ml de S + 8ml d'eau distillée
 - tube3 : 3ml de S + 7ml d'eau distillée
 - tube4 : 4ml de S + 6ml d'eau distillée
 - tube5 : 5ml de S + 5ml d'eau distillée
 - tube6 : 6ml de S + 4ml d'eau distillée
 - tube7 : 7ml de S + 3ml d'eau distillée
 - tube8 : 8ml de S + 2ml d'eau distillée
 - tube9 : 9ml de S + 1ml d'eau distillée
 - tube10 : 10ml de S.

Agiter les tubes en position horizontale pendant 15 secondes.

Après un repos de 15 minutes en position verticale, relever la hauteur de mousse persistante en cm.

Résultats : Si la hauteur de mousse est proche de 1 cm dans le x^e tube, calculer l'indice de mousse (I)

Formule générale : $I = (\text{hauteur de mousse dans le } x^{\text{e}} \text{ tube} * 5) / 0.0x$

Interprétation : La présence de saponosides dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100.

• **9.10.2 Approche qualitative.**

- Effectuer une CCM avec quelques microlitres de la solution B. Le solvant de migration est un mélange d'acide éthanoïque/méthanol/eau dans les proportions (100 :13.5 :4). La révélation se fera à la vanilline sulfurique.

❖ **9.11 Recherche des dérivés anthracéniques**

➤ **ATTENTION** : Utilisation d'une autre préparation du matériel végétal.

Préparation : mettre 1g de poudre de matériel végétal avec 10ml de chloroforme dans un bécher. Placer le bécher au bain-marie durant 3 mn et filtrer.

Obtention d'un filtrat (F) et d'une poudre épuisée par le chloroforme (P)

- **9.11.1 Les anthracéniques libres (REACTION DE BORNTRAGGER)**

- Dans un tube, mettre :
1ml filtrat (F) + 1ml d'ammoniaque

Interprétation : L'apparition d'une coloration rouge indique la présence d'anthracéniques libres.

- **9.11.2 Les anthracénique combinés**

- Dans un tube :
Poudre (P) + 10ml d'eau distillée + 1ml c'acide chlorhydrique.

Chauffer le bécher au bain-marie bouillant pendant 15mn puis filtrer.

Prélever 5ml de filtrat, extraire avec 5ml de chloroforme.

A la phase organique ajouter 1ml d'ammoniaque dilué à 10%.

Interprétation : L'apparition d'une coloration rouge indique la présence d'antraquinones sous la forme *O*-hétérosides.

- ❖ **9.12 Recherche des stérols et triterpènes**

- Evaporer à sec 10mL de solution C.
Dissoudre le résidu dans 1mL d'anhydride acétique, puis dans 1mL de chloroforme.

Répartir la solution dans 2 tubes à essai.

A l'aide d'une pipette ajouter 1mL d'acide sulfurique concentré au fond du tube sans agiter.

Interprétation : La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et triperpènes

6) Chromatographie sur couche mince

Principe de la méthode :

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose sur des phénomènes principalement d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substituants migrent à vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant.

Lorsque la plaque est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité.

Milieu de migration :

Quand c'est un mélange de solvant : Bien agiter afin d'homogénéiser le mélange de solvant. S'assurer qu'il n'y ait qu'une phase de solvant et que le mélange ne soit pas trouble.

Pour tous les milieux de migration, laisser saturer la cuve au moins 10min.

Dépôts :

A l'aide d'une micro-seringue, déposer les échantillons en commençant à 1.5cm du bord gauche et sur 1cm à 1.5cm de long. Veiller à respecter les quantités prévues dans le protocole, à ne pas poser la seringue sur la plaque et faire les dépôts les plus fins possibles. Procéder au dépôt suivant à 0.5 voire 1cm du dépôt précédent, en procédant de la même manière.

Mettre la plaque dans la cuve.

Fin de migration :

La fin de migration a lieu lorsque le solvant atteint le niveau « front de solvant ». Retirer alors la plaque et la placer sous la hotte 10min pour faire évaporer le solvant.

Pulvérisation des plaques :

Après observation sous UV, pulvériser la plaque avec le réactif approprié, sous la hotte.

Rapport frontaux :

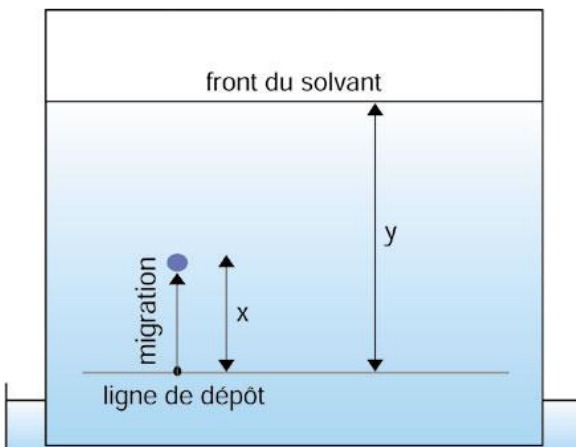
On appelle rapport frontal, R_f (ou référence front, coefficient de migration), le rapport suivant :

$$\frac{\text{Distance parcourue par le soluté}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

Le schéma ci-dessous montre comment calculer le R_f .
Le rapport frontal est donc égal à :

$$R_f = (X/Y) \text{ avec } R_f < 1$$

Un soluté très soluble dans la phase fixe aura un R_f faible ; très soluble dans la phase mobile, son R_f sera élevé et proche de 1.



cuve + solvant de migration

7) Tests anthelminthiques

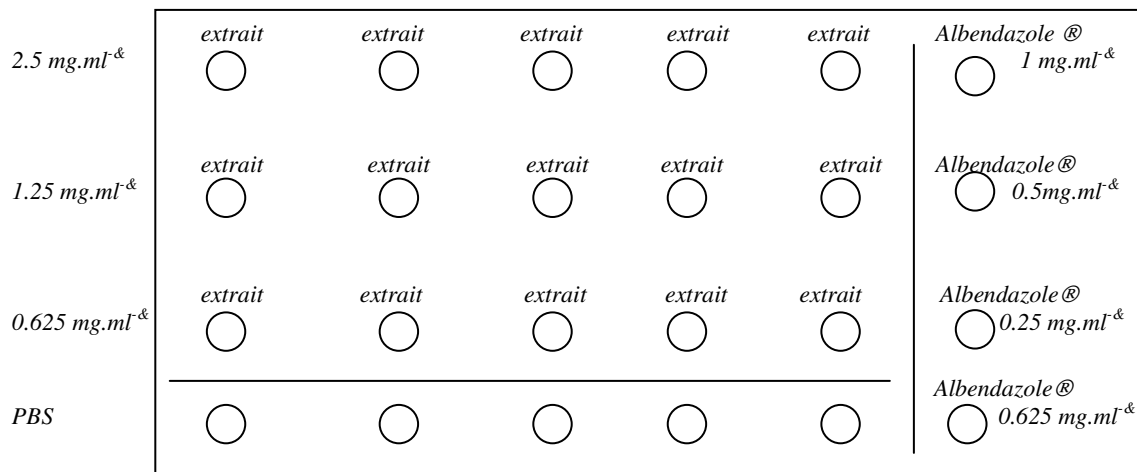
❖ 7 a) Méthode de récupération des œufs de *Haemonchus contortus*

Les œufs sont récupérés dans les fèces d'un mouton infesté par *H. contortus* selon la méthode de Hubert et al. (1984).

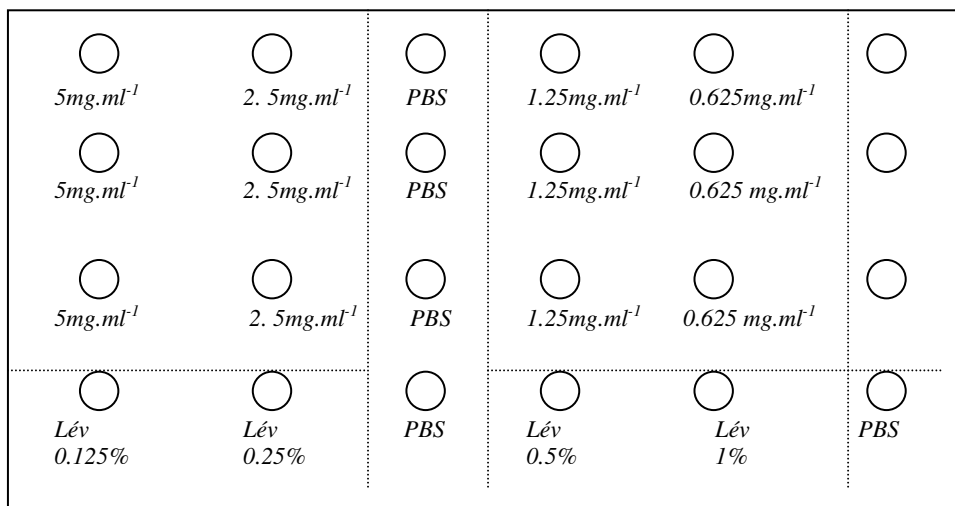
Après broyage des fèces et différents tamisages successifs (tamis 500, 250, 125, 63, 50 et 32 μm), les œufs sont récupérés et centrifugés pendant 10min à 2000 tours.min⁻¹. Le surnageant est éliminé tandis qu'une solution de NaCl de densité 1,2 est rajoutée. L'ensemble est de nouveau centrifugé durant 15min à 3000 tours.min⁻¹.

De ces opérations résultent la formation d'un anneau d'œufs qui est récupéré sur un tamis de 32 μm et rincé abondamment à l'eau stérile.

❖ 7 b) Schéma de distribution et de concentrations finales d'une boîte de culture 24 puits, tests EHA et LDA de *Haemonchus contortus*



❖ 7 c) Schéma de distribution et de concentrations finales d'une boîte de culture 24 puits test de motilité des vers adultes de *Haemonchus contortus*



8) Evaluation de la valeur alicament de ressources végétales tropicales pour l'élevage.

 Centre Antilles-Guyane	Unité : Unité de Recherches Zootechniques Service/équipe : Nature du document : PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
Evaluation de la valeur alicament de ressources végétales tropicales pour l'élevage		
Titre court : "Valeur alicament"		
Rédigé par : Carine MARIE-MAGDELEINE	Code: PTE-CMM1001	Nombre de pages : 4
Revu par : Harry ARCHIMEDE	N° Version : 3	
Validé par :	Emis le : 07/01/10	
Destinataires : tt agent intervenant (URZ-UEPSA)	Modifiée le :13/01/10	

1 Echelle de diffusion

Laboratoire URZ, UEPSA, directeurs de thèse.

2 Contexte

En plus de leur contenu en métabolites primaires à valeur alimentaire, les plantes peuvent contenir des métabolites secondaires (MS) à valeur santé. Les MS suspectés pour une activité anthelminthique sont les polyphénols type tanins condensés (TC), ou les terpénoïdes type saponines. Ces MS présentent également des propriétés nutritionnelles (TC pour leur complexation avec les protéines dans le rumen), environnementales (TC et saponines), mais peuvent aussi se révéler anti-nutritionnelles à certaines concentrations.

3 Objectifs

Evaluer la valeur alicament (aliment et médicament) de ressources végétales, par des tests *in vitro* (propriétés anthelminthiques donc valeur santé) sur le strongle *Haemonchus contortus* et la dégradabilité *in sacco* (valeur alimentaire) ; associés à un screening phytochimique et à une composition chimique.

En cas de présence de tanins condensés, une expérience de dégradabilité *in sacco* sera appliquée en présence de PEG.

4 Déroulement de l'expérimentation

Période : Janvier à Avril 2010

1°) Valeur santé (propriétés anthelminthiques) :

Animaux concernés:

2 moutons (phénotype Black belly) infestés par *H. contortus* (issus du protocole production d'œufs en routine pour le laboratoire).

Des fèces de ces animaux seront récupérées afin de procéder à une extraction d'œufs et une mise en culture de larves L3 (coproculture) au laboratoire.

Une série de tests *in vitro* (éclosion, embryonnement, développement larvaire, migration de L3 et motilité des vers adultes) sera menée sur les parasites extraits des fèces, selon les procédures décrites au laboratoire.

Mise à jeun des animaux destinés au test adulte, J-2 avant abattage et seule la caillette sera prélevée pour prélèvement de vers.

2°) Valeur alimentaire :

Animaux concernés:

3 béliers Martinik canulés (phénotype Black belly).

Matières premières et préparation :

Feuilles de châtaignier (vert et sec c-à-d au sol)

Feuilles d'amandiers (vert et sec c-à-d au sol)

Feuilles de fruit à pain (vert et sec c-à-d au sol)

Témoin Pangola 14j

Au Laboratoire :

Couper (aux ciseaux) les différents produits, le plus finement possible (même taille que les fourrages).

Introduire 3 g (en MS) de produit finement coupé, dans des sachets de nylon.

Préparer 6 séries de 24 sachets par matière première. Trois séries seront mises à incuber en l'état dans le rumen. Si il y a administration de PEG aux animaux : la série sera préalablement trempée dans du PEG, puis introduite dans le rumen des moutons qui recevront eux même du PEG.

Dispositif élevage:

15 jours avant le début de la pose des sachets, les animaux recevront une ration composée d'herbe et de 500 g de luzerne / tête. Cette ration sera maintenue pendant la période de l'expérimentation (7 semaines). La luzerne étant distribuée en premier dès 6h30.

Les moutons seront conduits en deux temps :

- sans administration de PEG
- avec administration de PEG (25g/jour introduits dans le rumen en 2 temps).

NB : la deuxième option est à envisager en fonction des résultats du screening phytochimique.

Dans le rumen de chaque mouton, il sera mis à incuber (cinétique sur 96 heures) simultanément 2 matières premières (la même plante en frais et sec).

Le témoin Pangola 14j ne sera préparé que pour la durée 24h d'incubation à raison de 3 sachets par animal, 1 sachet par jour.

6h30 : distribution de 400g de luzerne aux animaux.

7h30 : pose des sachets en introduisant le reste de luzerne (s'il y a lieu) dans le rumen (200g max), puis distribution de l'herbe (fourrage < 5 semaines).

Chaque matière première est introduite à l'heure du repas herbe (7h30), le même jour sur 3 moutons selon le plan suivant (plan pour une matière première):

	Jour					
	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi
Temps incubation 0	1s	1s	1s			
Temps incubation 3	1s	1s	1s			
Temps incubation 6	1s	1s	1s			
Temps incubation 12	1s	1s	1s			
Temps incubation 24	1s	1s	1s			
Temps incubation 48				3s		
Temps incubation 72	3s					
Temps incubation 96	3s					

Le plan de retrait est le suivant :

	Jour					
	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi
Temps incubation 0	1s	1s	1s			
Temps incubation 3	1s	1s	1s			
Temps incubation 6	1s	1s	1s			
Temps incubation 12	1s	1s	1s			
Temps incubation 24		1s	1s	1s		
Temps incubation 48						3s
Temps incubation 72				3s		
Temps incubation 96					3s	

En fonction des contraintes d'élevage et de laboratoire, l'état des animaux en fin de semaines, les poses et retraits de sachets seront réalisés pendant 9 semaines consécutives, 1 semaine sur 2.

4 Mesures

Ingérés :

Afin d'avoir une idée de la quantité de fourrages ingérés par les animaux, une mesure unique de l'ingéré sera réalisée sur 3 jours consécutifs lors d'une semaine de repos.

Analyses :

MS MO NDF ADF ADL MAT, produits secondaires (screening, polyphénols, TC, saponines), tests *in vitro* (d'extraits choisis selon screening), sur les matières premières. L'absence de tanins condensés exclut la matière première des cinétiques en présence de PEG.

Préparation des sachets. Lavage, séchage et pesée des sachets après incubation (cf procédure labo)

Ouverture des sachets et poolage des matières premières par mouton et par temps. Si les quantités de résidus ne sont pas suffisantes pour les dosages, les résidus du même aliment passé dans les 3 moutons seront poolés par temps.

Analyses : MS MO NDF ADF ADL MAT, TC, saponines, polyphénols (selon screening), sur résidus.

5 Besoins

Laboratoire :

Tissus pour confection sachets

PEG 4000

Bassines, ciseaux, machine à coudre, feutres

Elevage :

Moutons canulés, Luzerne, Herbe

Agneaux, foin, sacs jersey, colle (déjà en place avec protocole « production d'œufs »).

6 Opérations à l'UEPSA (élevage):

Voir Calendrier (cf Annexes)