EXEMPLAIRE RESERVÉ publ 86

5 BC

STATION DE RECHERCHES
SUR LA FAUNE DU SOL

INSA_LYON

INRA_DIJON

Chaudonneret 1977 pa

RAPPORT DE STAGE DE FIN D'ETUDES

QUELQUES DONNEES SUR LA COMPOSITION BIOCHIMIQUE DES VERS DE TERRE, ALIMENT EVENTUEL DU BETAIL ET DE L'HOMME

PRESENTE PAR M.B. CHAUDONNERET _ JUIN 1977

5 B C

I.N.S.A. - LYON

Station de recherches sur la
Faune du sol
I.N.R.A. - DIJON

RAPPORT DE STAGE DE FIN D'ETUDES

QUELQUES DONNEES SUR LA COMPOSITION BIOCHIMIQUE DES VERS DE TERRE, ALIMENT EVENTUEL DU BETAIL ET DE L'HOMME

Les vers de terre contiennent des protéines

M. Kukrit Pramoj, ex-premier ministre thaïlandais et chroniqueur du quotidien « Siam Rath », recommande à ses lecteurs de manger des vers de terre. Il considère en effet, après avoir lu un article paru dans le « Christian Science Monitor », que ces invertébrés sont une importante source de protéines.

M. Pramoj donne même une recette pour accommoder les appétissants vermisseaux : après les avoir fait dégorger, cuisez les vers à l'étouffée dans un four à feu moyen. Roulez-les dans la farine et faites-les ensuite revenir dans du beurre roux avec des oignons émincés. Rajoutez des champignons si vous le désirez. Servez chaud dans un bol avec de la crème fouettée.

Le Bien Public - 10.5.77

Présenté par M.B. CHAUDONNERET - Juin 1977

Nous avons effectué notre stage de fin d'études à la station de recherches sur la faune du sol à l'Institut National de la Recherche Agronomique de DIJON dirigée par Monsieur A. BESSARD, sur un sujet proposé par Monsieur M.B. BOUCHE, maître de recherches.

Nous avons bénéficié des conseils et de l'aide de Monsieur VALLEY, de la compréhension de Monsieur SUCHETET et de Monsieur STRAUSS.

Nous tenons à remercier particulièrement Monsieur J.P. SERGIEL et Madame L.RECORBET pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail et l'aide qu'ils nous ont prodiguée.

Nos remerciements s'adressent aussi à Monsieur J. BERENGUER pour sa collaboration technique.

S O M M A I R E

I - Introduction 1

II - Méthodes et appareils 4

2.1 - Prélèvements 4

2.2 - Préparation des animaux 4

2.3 - Détermination de la quantité de papier filtre contenue dans le tube digestif 5

2.4 - Détermination du poids frais 7

2.5 - Détermination du poids sec 7

2.6 - Détermination des cendres 8

2.7 - Détermination des autres paramètres 8

2.8 - Dosage des lipides totaux 9

2.9 - Dosage des acides gras 10

2.9.1 - Préparation des esters méthyliques 10

2.9.2 - Détermination du pourcentage d'acides gras 11

2.10 - Chromatographie en phase gazeuse 11

2.11 - Dosage de l'azote et du phosphore. Détermination de la teneur en protéines 13

2.12 - Dosage du calcium 14

2.13 - Dosage des acides aminés 14

2.13.1 - Acides aminés totaux 14

2.13.2 - Acides aminés libres 16

III - Résultats et discussion 18

3.1 - Composition générale 18

3.1.1 - Eau 18

3.1.2 - Cendres 19

3.1.3 - Phosphore et calcium 20

3.1.4 - Extraits lipidiques 22

3.1.5 - Acides gras 23

3.1.6 - Protéines 23

3.1.7 - Conclusion 23

...

IV - Acides gras 25

4.1 - Acides gras de 11 à 17 atomes de carbone 26

4.2 - Acides gras à 18 atomes de carbone 27

4.3 - Acides gras à 20 atomes de carbone et plus 27

4.4 - Conclusion 28

V - Acides aminés 29

5.1 - Acides aminés totaux 29

5.2 - Acides aminés libres 31

5.3 - Conclusion 32

VI - Conclusion 33

Bibliographie 35

I. INTRODUCTION

Depuis fort longtemps, les vers de terre sont la nourriture partielle ou exclusive de nombreux oiseaux et de certains mammifères (mouettes, corbeaux, kiwis, musaraignes, ...) ; quelques espèces avalent quotidiennement jusqu'à deux fois leur poids en vers de terre ! (Turdus migratorius).

Durant la dernière guerre, les prisonniers les recherchaient pour pallier leur manque de nourriture et, actuellement, certaines tribus encore primitives consomment de nombreux "vers" de toutes sortes, notamment des vers de terre.

De plus, on estime que les oligochètes représentent une biomasse de 1,5 à 3 tonnes de tissus frais à l'hectare (Bouché, 1976).

Il est alors fort étonnant que la composition biochimique et la valeur nutritive de ces animaux n'aient pas fait l'objet d'études nombreuses et approfondies. Les travaux sur ce sujet sont en effet assez rares et les méthodes employées souvent critiquables ainsi que nous le verrons .

A l'Institut National de la Recherche Agronomique (I.N.R.A.) de Dijon, la station de faune du sol et, plus particulièrement, l'équipe dirigée par M.Bouché étudie divers aspects de la biologie des vers de terre.

...

Des essais d'élevage d'Eisenia foetida (ver du fumier) sur des ordures ménagères sont actuellement en cours. Si ces recherches s'avèrent fructueuses, il serait possible de produire d'importantes quantités de vers à peu de frais en utilisant une partie des détritus des villes (lesquels posent des problèmes croissants quant à leur élimination).

Ces invertébrés pourraient alors servir d'aliment d'appoint, voire d'aliment essentiel à certains animaux domestiques (et, pourquoi pas à l'homme ?).

C'est dans ce but que, durant notre stage de fin de scolarité, nous avons cherché à préciser les rares données biochimiques antérieures.

Nous avons travaillé sur les six espèces suivantes :

. Lumbricus castaneus
. Allolobophora rosea
. Allolobophora icterica
. Nicodrilus longus
. Nicodrilus nocturnus
. Eisenia foetida

Les cinq premières espèces ont été prélevées dans une prairie de Cîteaux (à 30 km au sud de Dijon). Les captures ont été faites les 15 et 20 avril 1977. La sixième espèce provient de l'élevage de L.Fayolle de l'I.N.R.A. à Dijon où E. foetida, ver du fumier, est actuellement élevé sur des ordures ménagères.

Nous n'avons utilisé que des animaux adultes.

Une autre espèce, Nicodrilus caliginosa, a été prélevée dans les mêmes conditions que les cinq premières citées plus haut ; étant relative-

...

ment rare à Cîteaux, nous n'avons pas pu amasser suffisamment de matériel pour faire toutes les analyses : nous n'avons déterminé que le poids sec, les cendres, les protéines totales et le phosphore.

Une classification écologique des oligochètes a été esquissée par Bouché (1971) ; elle rend compte des différents modes de vie et peut ainsi aider à la compréhension des résultats. Nous ne donnerons ici qu' un aperçu des catégories intéressant les espèces étudiées (cf. tableau I).

Les épigés vivent en grande partie au-dessus du niveau compact du sol, dans sa partie non minérale. Trois sous catégories peuvent être distinguées, dont les straminicoles qui vivent essentiellement dans la litière.

Les endogés ont une distribution spatiale assez imprécise ; leurs galeries ne débouchent théoriquement pas à la surface.

Les anéciques sont des animaux fouissant parfois très profondément, mais venant prendre l'essentiel de leur nourriture à la surface du sol, la nuit.

Il existe des espèces à position intermédiaire telles les épi-endogés qui vivent près de la surface.

Espèces	L.castaneus	A. rosea	A.icterica
Classe écologique	épigé (straminicole)	endogé	endogé

Espèces	N. longus	N.nocturnus	N.caliginosa
Classe écologique	anécique	anécique	épiendogé

Tableau I : Classes écologiques des espèces étudiées (d'après Bouché, 1971) (cf. fig. 1).

...

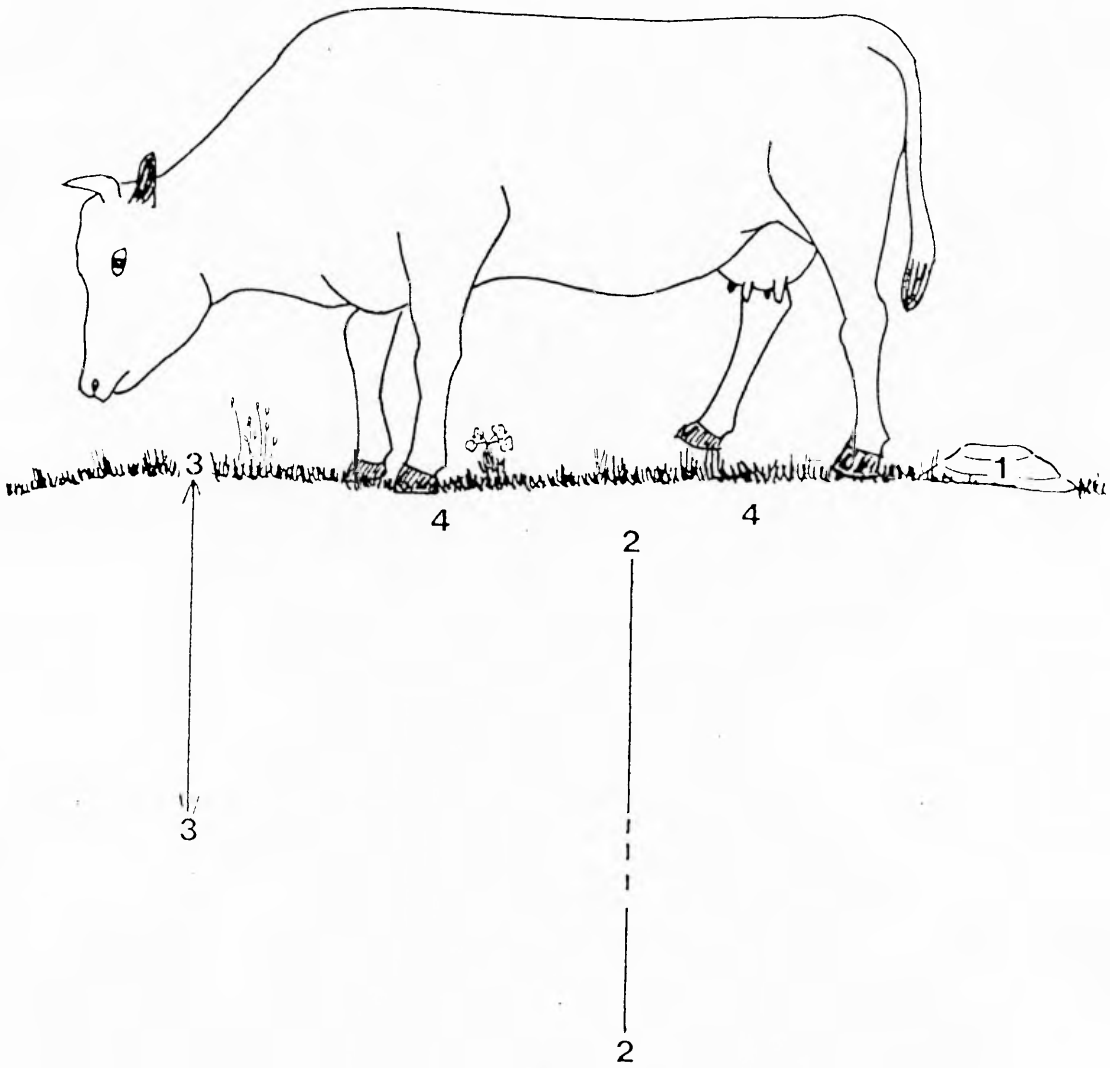


Fig. 1 - Distribution des vers de terre en prairie
(d'après Bouché, 1971)

1 : épigés (straminicoles) ;
2 : endogés ; 3 : anéciques ;
4 : épiendogés.

Dans notre cas, E. foetida (généralement considéré comme épigé) est difficilement comparable aux autres formes du fait de sa provenance.

II. METHODES ET APPAREILS

2.1 - Prélèvements

Ceux-ci ont été effectués selon la méthode dite "au formol" (Satchell, 1963) : l'herbe est coupée sur environ un demi mètre carré de sol ; la surface ainsi préparée est arrosée avec 10 l d'eau légèrement formolée ; cette opération est effectuée quatre fois de suite, à des intervalles de temps de 10 mn et avec des doses croissantes de formol (25.25.50.50 cm3); les vers apparaissent en surface ; ramassés, ils sont lavés dans un bain d'eau, puis placés dans de la terre prise sur place.

2.2 - Préparation des animaux

Il est important de faire avec soin la détermination du poids sec car toutes les mesures seront rapportées à ce paramètre. Pour cela, il convient d'éliminer, d'une façon ou d'une autre, le contenu du tube digestif. Cette précaution a souvent été mal prise ou même négligée. Ainsi, Brand (1927) donne une teneur en cendres de 63 % (relativement au poids sec) chez l'Arénicole (Annélide Polychète) et ne s'en étonne pas ; il a simplement omis de vider l'animal du sable qu'il contient !

Godeaux (1954) préconise d'éliminer le contenu du tube digestif par dissection. Non seulement cette méthode est très longue lorsque l'on veut l'appliquer à un lot important (nous avons travaillé sur quelques trois cents vers), mais, de plus, de nombreuses pertes sont inévitables (liquide coelomique, hémolymphe, ...).

...

D'autres auteurs (Durchon et Lafon, 1951) soumettent les animaux à un jeûne préalable de 3 à 5 jours. Cette méthode ne permet pas toujours d'éliminer complètement le contenu du tube digestif ; de plus, il est à craindre que les réserves, lipidiques principalement, ne soient largement utilisées.

Enfin, le vidage mécanique au moyen d'un lavage avec une seringue et un cathéter (Bouché, 1966) n'est applicable qu'aux vers de taille relativement importante et risque de provoquer un rejet de liquide coelomique.

Pour éviter ces inconvénients, nous avons opéré de la manière suivante : les animaux sont placés un par un dans des boîtes de Pétri contenant du papier filtre humidifié ; celui-ci est rapidement ingéré par les vers et la terre contenue dans le tube digestif est éliminée au fur et à mesure que le papier filtre est absorbé. Nous savons que l'animal ne contient plus de terre lorsque les déjections (en forme de crottes) sont blanches. La limite entre les crottes de terre et celles de papier filtre est très nette.

Afin d'éviter que les vers n'utilisent une quantité appréciable de leurs réserves, tous ceux qui n'ont pas éliminé toute la terre au bout de 36 heures environ sont rejetés.

Il est important d'enlever les crottes environ deux fois par jour pour éviter que l'animal ne les réabsorbe.

2.3 - Détermination de la quantité de papier filtre contenue dans le tube digestif

Lorsque l'animal a le tube digestif rempli de papier filtre (il fait des crottes blanches), nous remplaçons le papier filtre par du buvard rouge humidifié. Lui aussi est aisément consommé et apparaît au bout d'un certain

...

temps (environ 24 heures) dans les fèces. Là encore, la séparation est nette. Il suffit de récupérer les crottes blanches et de les peser. Nous déterminons également leur poids sec (2 heures à 110°C) et leurs cendres (1 heure à 600°C).

Il est possible d'exprimer ces deux données par rapport au poids sec du ver dont proviennent les crottes, ainsi que le poids frais du papier filtre présent dans le tube digestif par rapport au poids frais de l'animal (cf. tableau II).

Espèces	pf	% pfv	ps	% psv	cendres	% psv
E. foetida	0,6	± 0,06	2,2	± 0,1	0,3	± 0,01
L. castaneus	1,4	± 0,1	5,5	± 0,2	0,5	± 0,02
A. rosea	0,3	± 0,05	1,0	± 0,1	0,2	± 0,01
A. icterica	0,3	± 0,06	1,0	± 0,1	0,2	± 0,01
N. longus	1,1	± 0,08	3,7	± 0,2	0,3	± 0,01
N. nocturnus	0,9	± 0,05	3,5	± 0,2	0,3	± 0,01
N. caliginosa	0,4	± 0,06	1,3	± 0,2	0,3	± 0,03

Tableau II - Pourcentages des poids frais (pf), poids sec (ps) et cendres des crottes par rapport au poids frais ou au poids sec des vers (pfv ou psv), le tube digestif plein de papier filtre.

...

Ces résultats étant reproductibles pour chaque espèce avec une approximation de l'ordre de 0,1 (de 0,05 pour les cendres), ils peuvent servir de base pour corriger les résultats des expériences ultérieures, les vers utilisés pour les analyses n'étant alors maintenus que sur papier filtre et juste le temps nécessaire à l'évacuation de la terre.

Les marges d'erreurs sur les données du tableau II (et sur les résultats suivants relatifs au poids sec corrigé) sont de l'ordre de 10 %. Même si la précision est relativement faible, les différences interspécifiques sont significatives. Nous n'avons d'ailleurs tenté ici qu'une approche de la composition biochimique des oligochètes dans des conditions sinon idéales, du moins acceptables, en tous cas très suffisantes pour permettre des comparaisons avec les rares données fournies par la littérature.

2.4 - Détermination du poids frais

Celui-ci est déterminé directement après ingestion du papier filtre. Le résultat obtenu est corrigé en le diminuant de la masse du papier ingéré (fournie par les données du tableau II).

2.5 - Détermination du poids sec

Lorsque les vers sont soumis à une agression extérieure, ils rejettent du liquide coelomique. Ceci se voit très bien sur E. foetida par exemple. Il convient donc de récupérer ce liquide. Aussi, pour la détermination du poids sec, l'animal est placé dans un tout petit creuset préalablement taré et l'ensemble est mis à l'étuve à 110°C pendant 2 heures. Le liquide rejeté est donc resté dans le creuset. Le tout est ensuite pesé. On obtient ainsi le poids sec du ver en expérience et le résultat brut est pondéré en utilisant les données correspondantes du tableau II. Nous parlerons alors du poids sec corrigé (psc). La comparaison avec le poids frais permet de connaître la teneur en eau de chaque animal.

...

2.6 - Détermination des cendres

Celle-ci se fait par pesée après avoir laissé le matériel sec 1 heure à 600°C. Là encore, grâce au tableau II, nous effectuerons la correction rendue nécessaire par la présence de papier filtre dans le tube digestif.

2.7 - Détermination des autres paramètres

Dès que leur tube digestif ne contient plus que le papier filtre ingéré, les animaux sont rassemblés par espèces dans des béchers et mis directement à la chambre froide (-10°C) où ils sont conservés pendant une semaine environ. Ainsi le liquide coelomique rejeté lors de leur mort reste dans le récipient.

Après réchauffement et broyage au mixer (Moulinex), nous prélevons des aliquotes que nous mettons dans différentes solutions en fonction des analyses à effectuer. Une redétermination de la valeur en eau du broyat est nécessaire car celle-ci diffère de 3 à 4 % de l'animal entier, du fait de l'évaporation qui s'est produite en chambre froide.

L'utilisation d'un pool par espèce permet de réduire l'influence des variations individuelles. Les pools contiennent 9 à 90 animaux selon les espèces (cf. tableau III).

...

Espèces	Poids moyen (tube digestif plein de terre)	Nombre d'animaux
L. castaneus	289	41
A. rosea	308	62
A. icterica	649	67
N. longus	2230	19
N. nocturnus	1548	38
E. foetida	699	89
N. caliginosa	651	9

Tableau III : Poids moyens en mg des adultes des diverses espèces de vers de terre utilisées.

2.8 - Dosage des lipides totaux (Méthode de Folch)

Environ 2 g de vers broyés sont pesés exactement et mis dans 20 ml d'un mélange chloroforme-méthanol (2/1, V/V).

. le chloroforme est un solvant des lipides,

. le méthanol intervient dans la rupture des liaisons lipides-protéines et dans la solubilisation des lipides polaires (phospholipides par exemple).

...

L'extraction est réalisée en deux temps par broyages plus fins des vers dans le solvant : après un premier passage dans un broyeur à lames de type Sorvall, l'homogénat est filtré sous vide et sur verre fritté (de diamètre : 3 cm), recouvert d'une fine couche d'hyflosupercel (poudre de diatomées empêchant l'obstruction des pores du verre par les insolubles. Le résidu est repris dans 20 ml de solvant et passé de nouveau dans un broyeur à lames de type MSE. Les deux filtrats sont réunis et, après rinçage avec le solvant, leur volume est mesuré (v cm3) ; celui-ci est ensuite transvasé dans une ampoule à décanter. D'éventuels composants non lipidiques (mucoprotéines par exemple), entraînés par le méthanol, sont éliminés par lavage à l'aide de (v x 0,2)cm3 d'une solution de NaCl 0,73 %. Après agitation et décantation, la phase inférieure (phase organique) est recueillie dans un ballon et séchée sous vide à une température ne dépassant pas 45-50°C afin d'éviter tous risques d'altération des acides gras, notamment des polyinsaturés (évaporateur BUCHI). Une reprise avec de l'alcool à 99 % et une nouvelle évaporation peuvent être nécessaires afin d'éliminer l'eau résiduelle. Le ballon, préalablement taré, est pesé jusqu'à poids constant, ce qui donne le poids des extraits lipidiques. Ils sont ensuite repris avec 20 ml du mélange $CHCl_3/CH_3OH$.

2.9 - Dosage des acides gras

Le dosage et l'analyse des acides gras des lipides totaux ont été effectués à partir de leurs esters méthyliques : la méthylation permet d'abaisser la température de vaporisation du mélange d'acides gras, facilitant ainsi le passage en chromatographie en phase gazeuse.

2.9.1 - Préparation des esters méthyliques

Une prise de 5 ml des lipides dans le mélange $CHCl_3/CH_3OH$ est évaporée à sec. Le résidu est mis à réagir avec le liquide de transméthylation (5 ml du mélange commercial à 14 % de BF_3 dans le méthanol lequel a été additionné de benzène (70/30, V/V), et placé à l'étuve à 100°C pendant une heure.

...

Les esters méthyliques (E.M.) sont récupérés par extraction à l'hexane ; plusieurs lavages permettent de ramener la solution à un pH neutre. Celle-ci est évaporée et les acides gras méthylés sont purifiés par chromatographie sur couche mince (gel de silice). Pour cela, le résidu sec est repris avec 500 µl d'hexane dont 200 µl sont déposés sur le gel de silice. Afin de bien séparer les acides gras méthylés des autres constituants lipophiles ayant subsisté, le développement est effectué dans un mélange Hexane/Ether éthylique, 90/10, V/V. La migration est arrêtée lorsque la distance front-origine atteint 15 à 16 cm. La bande correspondant aux esters méthyliques (Rf = 0,52) est révélée sous lumière ultra violette après pulvérisation sur la plaque d'une solution éthanolique à 0,2 % de 2', 7' dichlorofluorescéine et récupérée par grattage ; les esters méthyliques sont élués du gel de silice par $CHCl_3$ et filtrés pour éliminer le gel.

2.9.2 - Détermination du pourcentage d'acides gras

Il est exprimé par rapport au poids sec corrigé, à partir du poids d'acides gras, lequel est obtenu par pesée du résidu sec après évaporation du chloroforme dans des ballons préalablement tarés.

Une révélation par H_2SO_4 de la couche mince après grattage des esters méthyliques permet de constater la présence dans l'extrait lipidique total de constituants autres que des esters d'acides gras. Nous n'avons pas cherché à les identifier ni à les quantifier.

2.10 - Chromatographie en phase gazeuse

Les acides gras sont séparés, identifiés et dosés par chromatographie en phase gazeuse de leurs esters méthyliques. Après évaporation à sec sous courant d'azote, ceux-ci sont repris par 50 µl d'hexane et 1 µl est injecté dans la colonne du chromatographe ; l'appareil utilisé est un Packard 420 double colonne, équipé de détecteurs à ionisation de flamme d'hydrogène. Nous avons opéré en isotherme, avec des colonnes en acier inox de 3 m de long, 2,1 mm de diamètre interne, remplies de chromosorb WAWDMCS (1) de granulométrie 60-80 mesh, imprégné de 5 % de phase polaire

...

(1) White acide washed dimethyldichlorosylane

BDS (2). Les débits sont les suivants : gaz vecteur 25 ml/mn, H_2 25 ml/mn, air 300 ml/mn ; les températures sont de 190°C pour les colonnes et 230°C pour les détecteurs et injecteurs.

Le chromatographe est couplé à un intégrateur-calculateur électronique (Autolab système IV) qui permet d'obtenir les pourcentages relatifs de chaque acide gras.

Pour avoir une meilleure séparation des premiers pics, nous avons également opéré en programmation de température, de 170 à 195°C, à raison de 1°C par minute, puis en isotherme car la phase stationnaire liquide polaire utilisée ici est volatile à partir de 200°C, ce qui occasionne un bruit de fond important.

L'identification des acides gras a été faite par comparaison des temps de rétention des pics avec ceux d'un échantillon de référence à composition en acides gras connue et injecté au préalable sur la colonne. Il n'y a eu aucun problème en ce qui concerne les acides gras saturés courts à chaîne linéaire, à nombre pair ou impair de carbone et les acides gras plus longs, saturés ou insaturés. Où nous serons plus réservés, c'est sur l'identification des acides gras à chaîne ramifiée car nous ne possédions pas d'échantillons de référence ni d'expérience dans ce domaine ; l'identification des isomères des acides gras saturés a été faite à partir des données de la bibliographie et en utilisant la propriété bien connue en chromatographie en phase gazeuse selon laquelle la courbe du logarithme des temps de rétention de plusieurs constituants d'une série homologue est proportionnelle à une certaine propriété croissante de la série homologue (nombre d'atomes de carbone en ce qui nous concerne).

Il arrive que sur une phase donnée,et c'est le cas ici, deux acides gras différents aient le même temps de rétention (C 22:1 et C 20 : 5ω 3 par exemple). Pour clarifier les faits, une partie de l'échantillon (environ 1 µl) est hydrogénée avant de passer sur la colonne. Une comparai-

...

(2) Butanediol succinate

son entre la somme des pourcentages des acides gras (saturés et insaturés) ayant un nombre d'atomes de carbone donné et le pourcentage de l'acide gras correspondant après hydrogénation (tous les acides gras sont alors saturés) permet de lever l'ambiguité.

Dans ce cas, l'hydrogénation a été réalisée par une microméthode à l'aide d'un dispositif placé en tête de la colonne chromotographique. L'hydrogénateur est un tube inox de 10 cm de long rempli de Gas chrom P (80 - 100 mesh) sur lequel le catalyseur d'hydrogénation (Palladium) est adsorbé à raison de 0,5 % au mètre. Le tube précède la colonne de chromatographie conventionnelle (décrite ci-dessus) et le gaz vecteur est alors de l'hydrogène.

2.11 - Dosage de l'azote et du phosphore. Détermination de la teneur en protéine

La détermination de l'azote et du phosphore se fait directement dans un autoanalyseur TECHNICON (cf. fig. 2), après avoir effectué une préminéralisation (500 à 600 mg de broyat sec et 7 à 8 ml de H_2SO_4 10 N sont placés dans un matras porté à ébullition environ une heure). La minéralisation s'achève dans l'autoanalyseur, à une température de 300°C à 400°C).

L'azote est dosé selon la méthode de Berthelot. L'ammoniaque en présence d'hypochlorite et à un pH basique, donne, avec les phénols, une coloration bleu vert, à 40°C. L'intensité de cette coloration, proportionnelle à la quantité d'azote, se lit au colorimètre (λ = 630 nm).

La teneur en protéines est calculée en multipliant la teneur en azote par le coefficient moyen 6,25.

Après minéralisation, le phosphore peut être combiné sous forme d'un complexe jaune, le phosphomolybdate d'ammonium (réaction de Nisson). L'intensité de la coloration obtenue à 40°C est proprotionnelle à la quantité de phosphore se trouvant dans la solution. La lecture se fait au colorimètre (λ = 420 nm).

...

Dans les deux cas, le passage d'une gamme (mélanges de solutions à teneur en azote et en phosphore connue) permet d'étalonner les pics de coloration obtenus.

Des échantillons de papier filtre sont soumis aux mêmes analyses afin de pouvoir effectuer les corrections éventuellement nécessitées par la présence de cette substance dans le tube digestif de nos animaux.

2.12 - Dosage du calcium

Le calcium est dosé à partir des cendres à l'aide d'un spectrophotomètre à absorption atomique (Varian Techtron - modèle 1000).

Les cendres sont placées dans du HCl dilué (3 ml de HCl 2N qsp 50 ml pour 1 g de poids frais). Les solutions sont passées directement ou après dilution dans le spectrophotomètre. Au préalable, des solutions connues de calcium ont permis d'étalonner l'appareil.

Comme dans le cas précédent, des échantillons de papier filtre sont testés.

2.13 - Dosage des acides aminés

2.13.1 - Acides aminés totaux

Environ 1 g de broyat frais est pesé exactement et placé dans 100 ml de HCl 6N où il est hydrolysé pendant 18 heures à 112°C (bain d'huile).

L'hydrolysat est filtré (pour éliminer les cendres) et le filtre est lavé à l'eau ; après évaporation de la solution, le résidu sec est repris deux fois par 50 ml d'eau. Le dernier résidu est repris avec HCl N/100) à raison de 1ml pour 10 mg de matériel sec.

...

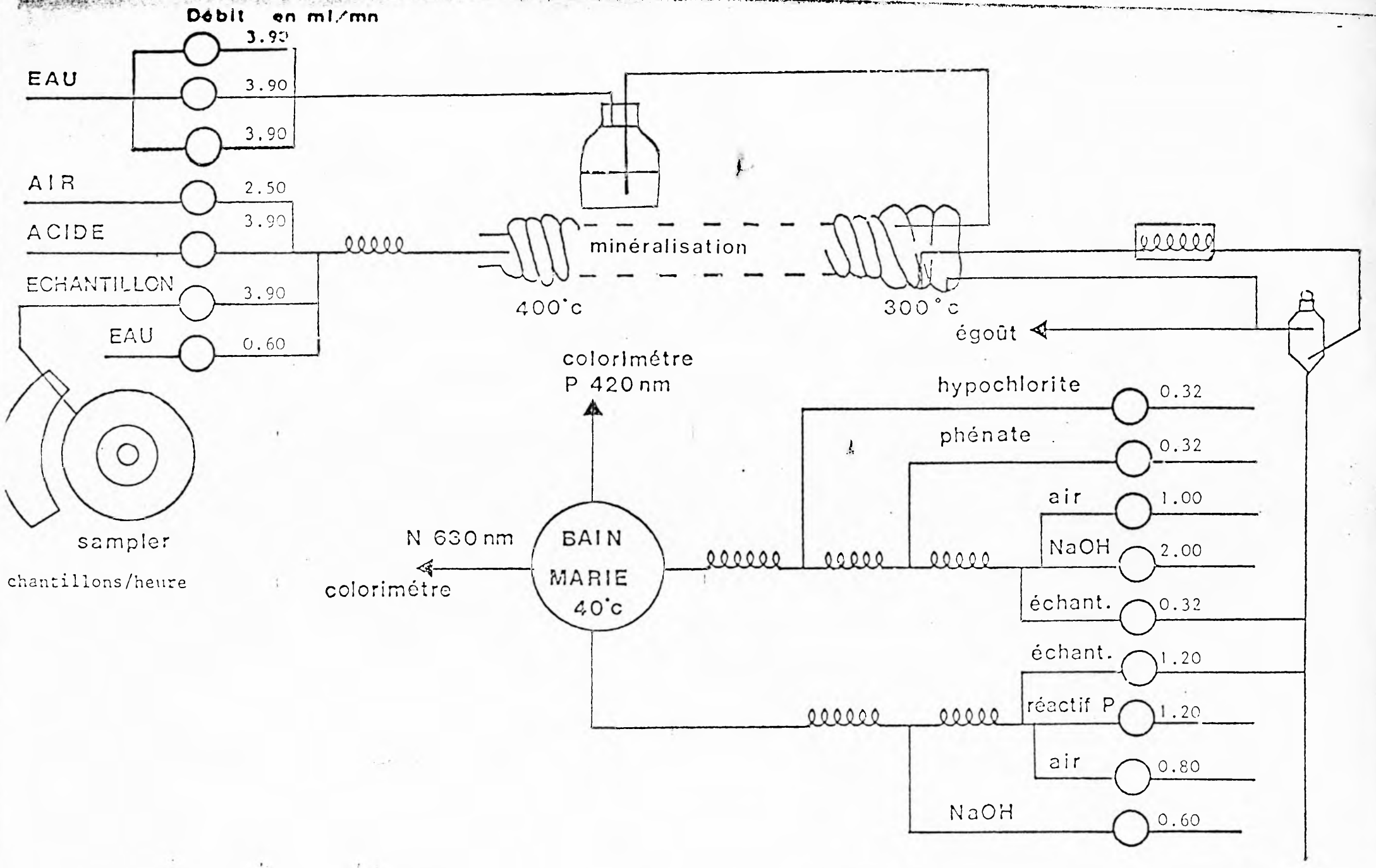


Figure 2 : Manifold utilisé pour le dosage de l'azote

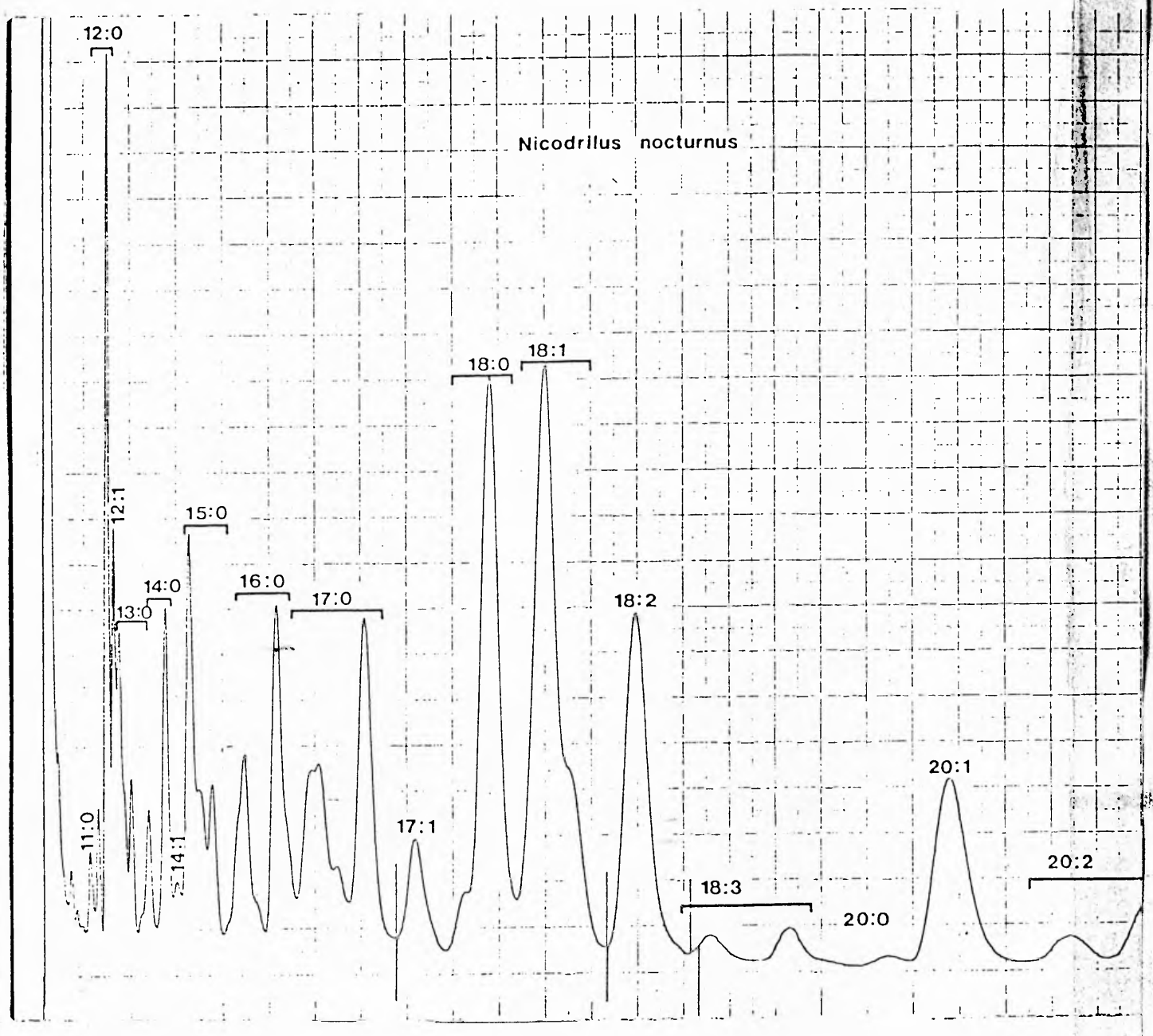


Fig. 6 : Chromatogramme des esters méthyliques purifiés d'un lombricien - BDS 5 % - isotherme (190°C).

Les mêmes opérations sont faites sur environ 200 mg de broyat sec placés dans 50 ml de HCl 6N. Cette deuxième série de mesures constituera une vérification.

Les échantillons sont ensuite passés à l'autoanalyseur.

2.13.2 - Acides aminés libres

Ils sont extraits par 10 ml d'alcool à 95° pour environ 1 g de matériel (pesé exactement) pendant une semaine à - 10°C.

Après fixation et lavage du filtre à l'alcool à 50 %, les acides aminés se trouvent dans le filtrat alors que les protéines et autres constituants n'ayant pas été dissous dans l'alcool restent sur le filtre. Ceux-ci sont récupérés et conservés dans 50 ml de HCl 6N ; ils serviront de vérification le cas échéant (Acides aminés totaux : Acides aminés libres + Acides aminés protéiques).

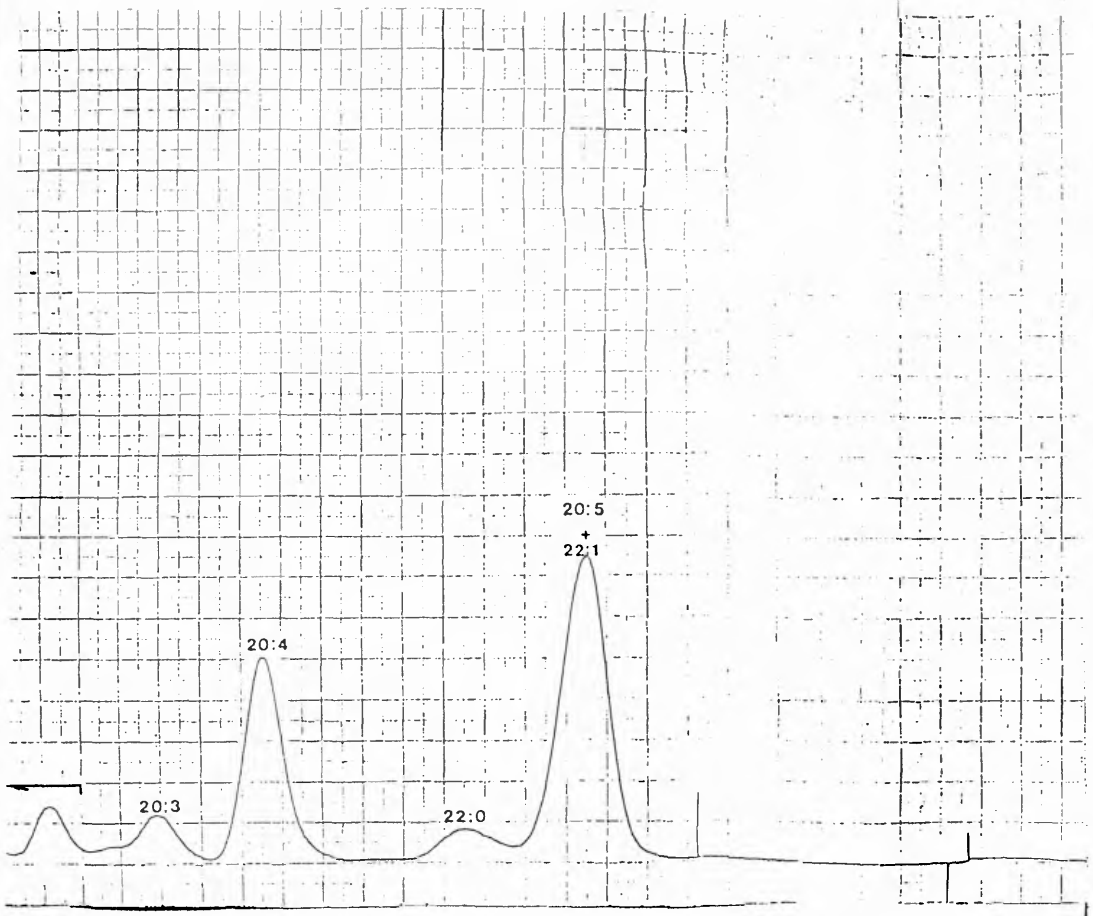
Le filtrat est placé dans une ampoule à décanter et additionné d'un volume égal de $CHCl_3$ afin d'éliminer certaines impuretés (lipides par exemple). L'agitation doit être douce pour éviter la formation d'une émulsion. La phase chloroformique (phase inférieure) est éliminée, la phase aqueuse conservée. La phase chloroformique est à nouveau lavée avec 50 ml d'eau et éliminée. Les deux phases aqueuses obtenues sont finalement réunies et évaporées à sec à 40°C, puis reprises par HCl N/100 (1 ml pour 50 mg de poids sec).

Les échantillons sont passés à l'autoanalyseur ; l'appareil utilisé est un TECHNICON TSM, possédant deux colonnes de résine cationique forte : l'une pour éluer les acides aminés acides et neutres, l'autre pour éluer les acides aminés basiques. Chacune de ces colonnes sont placées dans un bain-marie, respectivement à 45°C et à 62°C. L'élution des acides aminés s'effectue à l'aide d'un gradient discontinu de pH et avec un tampon de citrate de lithium :

$2,7 < pH < 4,15$ pour la colonne acide

$3,8 < ph < 6,0$ pour la colonne basique

...


20:5
+
22:1
20:4
20:3
22:0

24:0
24:1

La coloration se fait à la nihydrine en présence de sulfate d'hydrazine, à 95°C et à pH = 5,5. La détection se fait à 570 nm (et 440 nm pour la proline).

L'enregistrement est linéaire.

D'une façon générale, 20 µl de l'échantillon sont injectés dans l'autoanalyseur pour les acides aminés acides et neutres, contre 500 µl pour les acides aminés basiques, car ces derniers se trouvent en quantité moindre.

L'identification des acides aminés est réalisée par comparaison des pics obtenus avec ceux d'un échantillon de référence à composition en acides aminés connue, et injecté au préalable dans l'autoanalyseur.

Leur quantification se fait par comparaison de la surface (1) du pic obtenu pour chaque acide aminé avec celle du pic correspondant pour l'échantillon de référence.

(1) surface (pic) = hauteur (pic) x largeur $(\frac{h}{2})$

III . RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 - Composition générale

3.1.1 - Eau

La teneur en eau des espèces étudiées reste comprise entre des limites assez étroites (83 à 87,5 %), les valeurs oscillant autour de 86 % du poids frais (cf. tableau V).

La composition de la matière sèche des diverses espèces ne présente aucune corrélation avec la teneur en eau ; toutefois, celle-ci apparaît comme constante pour une même espèce lorsque les mesures sont répétées sur plusieurs animaux.

Les auteurs donnent des teneurs en eau allant de 79 à 88 % du poids frais, la plupart se situant entre 80 et 84 % (cf. tableau IV). L'apparente discordance avec nos résultats s'explique en majeure partie par la manière dont les animaux ont été vidés ; s'ils ne l'ont été que partiellement, la terre subsistant dans le tube digestif entraîne une valeur excédentaire du poids sec et, par là même, une diminution de la teneur en eau.

De plus, les espèces étudiées par les auteurs diffèrent souvent des nôtres ; en outre, elles ont parfois été mal identifiées. Il arrive même que les analyses aient été faites à partir d'un pool réunissant indifféremment plusieurs groupes (Lawrence, 1954).

D'un point de vue strictement alimentaire, la teneur en eau n'a que peu d'importance : les vers de terre seraient sans doute réduits en farine avant d'être donnés aux animaux.

Si nous les comparons à d'autres groupes biologiques, les vers de terre ont une teneur en eau assez élevée. Ainsi, les animaux aquatiques (poissons, crustacés, mollusques) ne contiennent que 80 % d'eau environ (comparer les tableau V et VI). Même parmi les annélides,

...

De toutes façons, ces différences, bien que significatives sur le plan biochimique (les taux de cendres sont donnés à ± 0,1 % du poids sec corrigé environ) deviennent négligeables sur le plan alimentaire.

Il faut noter que le taux de cendres ne traduit pas fidèlement la minéralisation de l'animal incinéré : il peut y avoir des pertes (les chlorures alcalins, par exemple, sont assez volatiles) ou/et des apports de sel résultant de la saturation d'acides organiques par des bases minérales : leur partie organique a été détruite par la combustion et les bases subsistent, généralement sous forme de carbonates.

Nos résultats diffèrent sensiblement de ceux trouvés dans la littérature, ces derniers étant généralement plus élevés : French, Liscinsky et Miller (1957) donnent des taux de cendres de 15 à 23 % du poids sec, 15,7 % pour E(= A) rosea contra 4,8% nobis. Nous retrouvons ici encore l'influence du contenu du tube digestif sur les mesures, les valeurs élevées en cendres coïncidant avec des teneurs en eau relativement faibles ; or, les vers de terre n'absorbant pratiquement que de la terre, ce sont les cendres (et le poids sec) qui sont majorés lorsque l'animal n'a pas été totalement vidé. Cette considération nous permet d'expliquer les divergences entre les divers auteurs (cf. tableau IV).

Si nous voulons continuer la comparaison avec les autres groupes zoologiques, les oligochètes ont un peu moins de matière minérale que les poissons, les crustacés ou les mollusques (cf. tableaux V et VI), mais les pourcentages de phosphore et de calcium sont comparables.

3.1.3 - Phosphore et calcium

La somme de ces deux éléments minéraux représente environ 25 % des cendres (de 21,3 % à 29,7 %, c'est-à-dire 1,2 % à 2,0 % du poids sec corrigé - cf. tableau V), mais ne semble pas être une caractéristique

...

spécifique, tout au moins dans l'état actuel de nos données.

Le phosphore a été déterminé à ± 0,2 % du poids sec corrigé : sa concentration était à la limite inférieure de notre gamme-étalon (cf. fig. 3) ; néanmoins, il paraît avoir un taux assez constant, comparable à celui des muscles de poissons et de batraciens (comparer les tableaux V et VII).

Muscle	Phosphore % ps
Boeuf	0,7
Poulet	0,8
Brochet	1,0
Grenouille	1,0

Tableau VII : Teneur en phosphore de certains muscles, d'après Javillier et Bertrand, 1959.

Le taux de calcium est comparable à celui des poissons, mollusques et crustacés (comparer les tableaux V et VI) ; il ne semble pas pouvoir être mis en relation avec le mode de vie des animaux ; néanmoins, L. castaneus paraît contenir plus de calcium que les autres oligochètes étudiés ; il serait intéressant de savoir si ce lombricien possède des glandes de Morren plus développées que chez les autres espèces. En effet, ces glandes peuvent être d'importance variable selon

...

les vers de terre ; il s'agit de glandes calcigènes sans doute, mais leur rôle est essentiellement homéostatique (Avel, 1959) ; lorsque certaines conditions sont remplies (teneur en CO_2 et présence d'ions Ca^{++}), ces glandes excrètent du carbonate de calcium.

Nous avons dosé le phosphore et le calcium dans le papier filtre. Sa teneur en ces éléments est suffisamment faible pour être négligeable : ces dosages, rapportés à la masse de papier contenu dans le tube digestif montrent en effet que le phosphore et le calcium exogènes correspondent l'un et l'autre à moins de 1 % du phosphore et du calcium totaux.

3.1.4 - Extraits lipidiques

La teneur lipidique varie de 12,0 à 15,3 % du poids sec corrigé, soit de 1,7 à 2,2 % du poids frais corrigé (cf. tableau V). Ce taux de lipides doit être un caractère métabolique spécifique et fonction de l'âge de l'animal et des saisons ; généralement, ces deux facteurs influencent particulièrement la partie lipidique des organismes ; c'est sans doute une cause importante de la discordance des chiffres trouvés dans la littérature (1,5 à 17,3 % du ps, cf. tableau IV).

Un tel taux de lipides est très inférieur à ceux observés couramment dans les divers groupes terrestres (oiseaux, mammifères, insectes). Il est comparable à celui des poissons dits "maigres" (moins de 3 % de lipides par rapport au poids frais), des crustacés et des mollusques comestibles (cf. tableau VI).

La révélation à H_2SO_4 de la couche mince (cf. fig. 4) montre que ces extraits lipidiques comprennent d'autres constituants autres que les acides gras, peut-être des stérols, des cérides d'une part (ce qui correspond à peu près à l'insaponifiable), des substrances entraînées d'autre part (mucopolysaccharides par exemple).

Il convient donc de préciser ce qui revient effectivement aux acides gras dans ce taux lipidique.

...

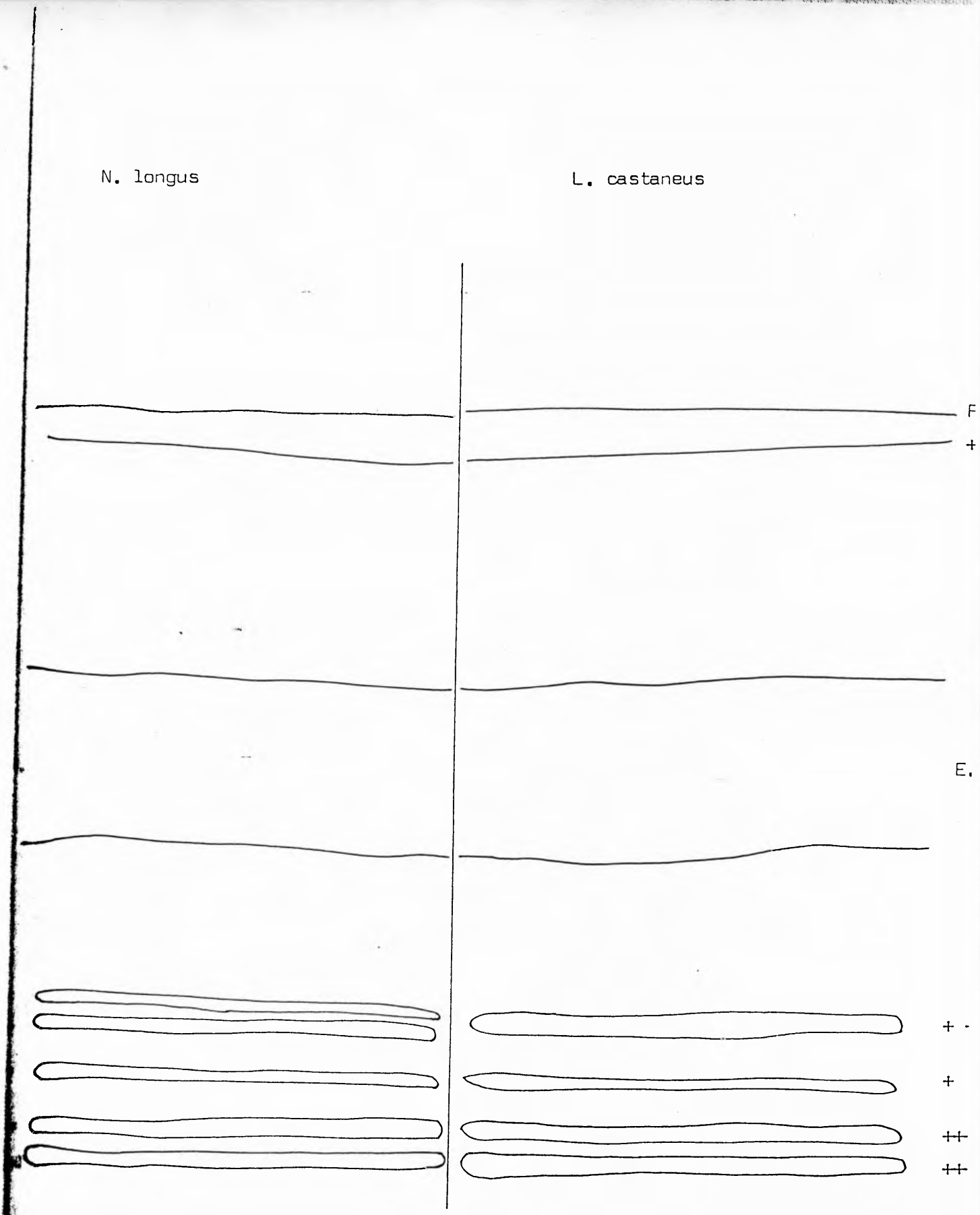


Fig. 4 : couche mince (gel de silice) après révélation par H_2SO_4

F S : front du solvant
O : origine
E.M.: esters méthyliques (zone grattée après révélation par pulvérisation d'une solution à 0,2 % de dichlorofluorescéïne et lecture sous U.V.).

(solvant de développement : hexane/Ether éthylique, 90/10, V/V).

3.1.5 - Acides gras

Nous obtenons des valeurs voisinent de 6 % relativement au pois sec corrigé (elles sont portées sur le tableau V), ce qui correspond à environ 45 % des extraits lipidiques.

Les différences entre les chiffres obtenus ne sont pas significatives, la détermination étant faite à ± 0,6 % du poids sec corrigé.

3.1.6 - Protéines

Elles constituent 64,7 % à 77,3 % du poids sec corrigé. Elles présentent des variations qui paraissent indépendantes des espèces et de leur mode de vie.

L'incertitude sur ces mesures étant assez importante (jusqu'à 11 %), nous avons effectué six à neuf mesures par espèce, dont trois totalement indépendantes.

Le papier filtre utilisé ne contenait pas d'azote (cf. fig. 5).

Rappelons que cette détermination a été faite à partir du dosage de l'azote. Le coefficient 6,25 sur lequel nous nous sommes basés pour déterminer la teneur en protéines n'est évidemment qu'un coefficient moyen. C'est toutefois celui qui est couramment utilisé dans le cas des protéines animales.

Les valeurs données par les différents auteurs sont, la plupart du temps, inférieures aux nôtres (53 à 71,5 % du poids sec ; cf. tableau IV) ; mais il convient de remarquer qu'elles ont été influencées par la façon dont l'animal a été vidé.

3.1.7 - Conclusion

De par leur composition biochimique générale, les vers de terre semblent se rapprocher des poissons maigres, mollusques et crus-

...

tacés comestibles. Cette comparaison n'a qu'une valeur indicative : les analyses sur les gros organismes ont été fractionnées (souvent selon les organes) alors que, dans le cas des vers de terre, elles ont porté sur l'organisme entier.

Il est peut-être plus valable de confronter la composition des oligochètes à celle de quelques aliments donnés au bétail ; dans ce cas, les lombriciens se rapprochent des farines de poissons dites "riches", du moins pour les matières grasses et azotées ; par contre, le taux de matières minérales est nettement plus bas (comparer les tableaux V et VII b).

	Matières azotées % ps	Matières grasses % ps	Matières minérales % ps
Farine de viande	47,7	13,1	31,6
Farine de poissons	70,8	11,8	11,3

Tableau VII b - Composition de deux farines alimentaires

Rappelons que cette étude ne veut être qu'une approche de la composition biochimique des lombriciens et que la plupart des résultats ne sont donnés qu'avec une précision d'environ 10 %. Il est vrai que l'utilisation de pools permet d'atténuer les erreurs ; il n'en reste pas moins que des analyses plus fines et plus nombreuses seraient nécessaires.

Il serait intéressant d'étudier séparément les différentes classes lipidiques (lipides neutres, phospholipides, ...), d'analyser les acides gras et les acides aminés présents, de séparer les protéines tégumentaires (sans doute variables d'une espèce à l'autre) des protéines musculaires (probablement plus constantes), etc.

...

Un tel travail ne peut être mené à bien dans les étroites limites d'un simple stage. Cependant, pour préciser nos premiers résultats, nous avons cherché à qualifier et à quantifier les acides gras et les acides aminés (totaux et libres) présents dans les vers de terre.

IV . ACIDES GRAS

Le spectre des acides gras des lipides totaux des vers de terre (cf. fig. 6) est assez inhabituel. On trouve en effet une gamme très étendue d'acides gras dont la longueur de chaîne varie de 11 à 24 atomes de carbone et même plus, mais ces derniers ne sont présents qu'à l'état de traces.

La particularité essentielle réside dans la présence d'acides gras saturés dont la chaîne à nombres pair et impair de carbone est linéaire ou ramifiée. Les valeurs obtenues pour les acides gras entre C11 et C17 doivent être considérées avec réserve car les conditions chromatographiques utilisées n'étaient pas spécialement adaptées à ce type de problème. La séparation des pics entre C11 et C15 n'étant pas très bonne , l'identification de tous les constituants n'a pu être effectuée de façon indiscutable et les valeurs de certains pics sont certainement entachées d'une erreur par excès à cause des chevauchements. Néanmoins, la discussion garde tout son sens lorsque l'on compare les espèces entre elles, car les conditions expérimentales sont identiques dans tous les cas.

Pour simplifier la discussion, nous rassemblerons les résultats de la composition en acides gras en trois groupes :

- acides gras de 11 à 17 atomes de carbone
- acides gras à 18 atomes de carbone
- acides gras à 20 atomes de carbone et plus.

...

4.1 - Acides gras de 11 à 17 atomes de carbone

Comme nous l'avons déjà dit plus haut, la présence des acides gras anté iso et iso notamment, et des impairs, est assez inhabituelle chez les animaux supérieurs, surtout à des teneurs aussi élevées.

Leur origine est certainement alimentaire, car la terre ingérée par les vers de terre contient, outre les débris de matière organique, des microorganismes vivants ou morts qui contiennent ces acides gras, synthétisés à partir d'aminoacides (valine, leucine, isoleucine). Certains auteurs (Hansen et coll., 1975) ont aussi trouvé des acides gras à ramification "isoprénoïde" à 16-19 et 20 atomes de carbone que nous n'avons pas cherché à identifier. Ces derniers seraient des dérivés issus de l'action microbienne du sol sur la moitié phytol de la chlorophylle.

A l'examen des résultats, nous constatons qu'il y a des différences entre espèces, aussi bien au niveau des acides gras individuels qu'à celui de la somme de ces acides gras. Cette dernière varie de 23,6 % pour N. nocturnus à 45,2 % pour E. foetida (cf. tableau VIII).

La cause de ces variations n'apparaît pas clairement car d'une part tous les vers de terre, sauf E. foetida, ont été récoltés dans la même parcelle de terrain et à la même époque et d'autre part leur tube digestif a été vidé de son contenu de matière organique.

Pour essayer d'expliquer ces variations, on pourrait suggérer que les vers de terre (sauf E. foetida), malgré l'uniformité apparente de leur lieu de récolte, vivent dans des zones du sol qui ne sont pas identiques, aussi bien du point de vue de la composition biochimique que de celui de la population microbiologique. Il n'est donc pas exclu que la composition en acides gras de la matière alimentaire ingérée soit sensiblement différente d'une espèce à l'autre, ce qui pourrait entraîner les variations observées au niveau de la teneur en chaque acide gras des lipides corporels. Seule, une connaissance bioécologique approfondie de chacune de ces espèces de lombriciens et l'analyse des acides gras de la matière alimentaire située dans leur environnement immédiat permettraient

	E.foetida	A.icterica	A. mauri	N. longus	N.[illegible]urnus	L.centaeous
11:0	0,1	0,1	0,6	0,4	0,3	< 0,1
iso 12:0	1,2	1,4	1,0	3,7	2,8	0,7
12:0	6,7	1,5	0,8	1,6	1,4	0,4
12:1	2,1	0,8	nd	1,2	1,1	nd
antéiso 13:0	4,2	7,1	8,0	1,2	0,4	0,3
iso 13:0	2,2	3,6	nd	0,6	nd	nd
13:0	0,8	0,7	1,0	0,7	0,4	nd
iso 14:0	1,3	0,8	2,0	1,1	0,3	0,5
14:0	3,6	0,5	1,2	3,4	1,3	3,3
14:1	3,2	tr	0,5	1,2	tr	0,3
antéiso 15:0	3,3	4,7	3,0	3,5	2,0	4,3
iso 15:0	3,9		2,0	3,0	0,7	2,8
15:0	1,3	0,2	1,1	1,5	0,4	1,6
antéiso 16:0	1,2	0,7	0,9	1,4	1,0	1,1
iso 16:0	0,2	nd	0,1	nd	nd	nd
16:0	4,2	2,6	5,4	4,1	3,1	2,8
antéiso 17:0	2,2	1,7	2,8	2,0	1,7	1,5
iso 17:0	0,8	2,3	1,4	1,9	1,3	2,2
n. id.	0,7	0,2	0,6	0,6	0,6	0,6
17:0	1,6	2,5	3,6	3,3	3,6	4,8
17:1	0,4	0,4	2,4	tr	1,2	nd
iso 18:0	nd	nd	1,5	nd	0,4	nd
18:0	7,1	7,3	8,1	8,2	9,0	9,0
18:1ω9	12,0	12,3	12,1	10,3	10,6	13,8
18:1ω7					1,9	
18:2ω6	7,4	7,0	5,7	5,4	6,1	3,7
18:3ω6	0,2	0,3	0,1	0,5	0,3	0,4
18:3ω3	0,3	0,2	0,1	0,7	0,7	2,9
20:0	0,5	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
20:1ω9	3,9	3,8	2,6	4,8	5,4	5,9
20:2ω9	nd	1,0	0,3	0,4	0,8	0,5
20:2ω6	2,3	1,9	1,5	1,8	2,0	1,9
20:3ω6 + X	3,1	3,2	2,0	2,0	2,1	1,5
20:4ω6	6,4	11,0	7,6	9,3	9,3	6,5
22:0	0,9	3,7	1,8	1,7	2,1	2,7
20:5ω3 + 22:1	7,4	2,2	12,7	14,6	18,0	20,7
n. id	0,3	0,4	0,2	0,2	0,2	0,6
n. id	0,4	0,6	0,9	0,8	0,7	0,6
24:0	1,0	1,6	1,0	2,1	2,0	0,7
24:1	0,4	1,0	1,3	1,3	2,6	0,7
ΣC11 à C17	45,2	31,8	38,4	35,4	23,6	28,2
ΣC18	27,0	27,1	26,1	25,0	28,6	29,8
ΣC20 et +	26,6	40,6	32,1	39,0	45,3	42,0

Tableau VIII - Composition en acides gras des lipides totaux de différentes espèces de lom- [illegible]

nd : non détecté
tr : traces
n id : non identifié

terrestres. Etant donné que ces acides gras sont incorporés préférentiellement dans les phospholipides (Hansen et coll., 1975), les causes de variations sont peut-être à rapprocher de celles que nous avons tenté d'expliquer pour les acides gras du groupe C11 à C17, à savoir des rapports TG/PL différents d'une espèce à l'autre ; mais faute de résultats, ce ne sont là que des hypothèses.

Les autres acides gras de ce groupe sont des dérivés du C18:1ω9, avec le C20:1ω9 dont la teneur est très voisine chez toutes les espèces, et les dérivés du C18:2ω6 avec le C20:2ω6 et le C20:3ω6. Ce dernier présente la teneur la plus faible pour L. castaneus, ce qui est peut-être à mettre en relation avec le faible pourcentage de C18:2 dans cette espèce.

Parmi les acides gras dont la longueur de chaîne est supérieure à 20 atomes de carbone, citons le C22:0 ou béhénique, le C24:0 ou lignocérique et le C24:1 ou nérvonique ; ces deux acides gras sont présents dans certains tissus d'animaux supérieurs, notamment le tissu nerveux. Le C22:1 ou érucique qui est confondu avec le C20:5ω3, ne représente pas plus de 1 % d'après les résultats obtenus après hydrogénation. A la différence avec les poissons, on ne trouve pratiquement pas de C22:6ω3, ce qui signifie que l'élongation du C18:3ω3 s'arrête au stade du C20:5ω3.

4.4 - Conclusion

La composition en acides gras des vers de terre présente une gamme très étendue d'acides gras et il existe une variabilité de cette composition entre les espèces. Les facteurs de variation n'apparaissent pas nettement ; ils peuvent être d'ordre nutritionnel et/ou métabolique.

Nous pouvons aussi nous poser la question de la valeur nutritionnelle de ces acides gras en alimentation animale. A priori, il est difficile d'émettre une opinion car, si certains acides gras ne posent aucun problème, on ne sait rien en revanche sur l'utilisation métabolique des acides gras iso et anté iso par les animaux supérieurs. Par ailleurs, la

...

présence en proportions élevées d'acides gras polyinsaturés qui sont très sensibles à l'oxydation n'est pas un facteur favorable si le ver de terre doit subir des traitements technologiques et un stockage prolongé sans délipidation préalable.

V. ACIDES AMINES

5.1 - Acides aminés totaux

Ceux-ci comprennent les acides aminés libres et les acides aminés protéiques.

Les chiffres présentés dans le tableau IX correspondent, pour chaque acide aminé, à la moyenne des résultats obtenus sur deux échantillons préparés, l'un à partir du matériel frais, l'autre à partir du matériel sec. Les résultats sont donnés, pour la plupart, avec une précision de l'ordre de 10 %.

D'une façon générale, les échantillons de la deuxième série donnent des valeurs inférieures à celle de la première. Deux explications sont possibles :

- le matériel sec peut être plus fragile et l'hydrolyse à chaud a pu détruire une partie des acides aminés,

- le matériel frais a été immédiatement placé dans HCl 6N et conservé à froid pendant environ deux semaines ; de ce fait, l'hydrolyse a peut-être été plus complète.

Cette deuxième explication paraît être la plus probable.

...

	E. foetida			L. castaneus			A. rosea			A. icterica			N. longus			N. nocturnus		
	AA t	AA l		AA t	AA l		AA t	AA l		AA t	AA l		AA t	AA l		AA t	AA l	
	% AA T	% AA L	% AA T	% AA T	% AA L	% AA T	% AA T	% AA L	% AA T	% AA T	% AA L	% AA T	% AA T	% AA L	% AA T	% AA T	% AA L	% AA
ASP	12,6	4,3	3,4	9,9	4,3	10,6	10,6	2,8	1,8	12,4	2,9	1,6	11,4	2,7	1,5	11,1	2,9	2,
OH Pro	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	traces	tra
Thr	6,0	5,1	8,4	6,0	4,8	12,3	5,9	4,5	5,3	5,6	4,6	5,6	5,7	4,9	5,3	5,8	4,8	8,
Ser	5,8	6,5	11,2	6,2	6,2	15,4	6,3	5,5	6,0	6,0	6,3	7,1	6,2	6,1	6,0	6,4	6,0	9,
Asp NH_2		10,3			12,2			13,1			13,4			16,0			12,3	
Glu	15,0	10,7	7,1	14,0	8,8	9,6	14,9	9,1	4,2	14,5	9,5	4,5	15,9	10,5	4,0	15,0	8,5	5,
Glu NH_2		3,9			2,8			6,0			5,8			3,3			4,3	
Pro	4,4	3,3	7,5	5,0	1,3	7,9	4,7	3,5	5,2	4,4	3,2	4,9	4,6	3,0	4,1	5,0	3,1	6,
Gly	5,8	4,3	7,4	5,3	2,6	7,4	5,7	3,3	3,4	5,8	3,4	4,0	5,9	2,7	2,9	5,8	2,6	4,
Ala	5,8	10,5	17,9	5,9	8,2	21,5	6,2	10,8	12,1	5,7	10,7	12,9	6,0	11,8	12,2	5,8	9,2	15,
Cit																		
Val	5,8	5,3	9,1	6,1	5,4	13,5	6,0	5,0	5,8	5,9	5,8	3,9	5,5	5,5	6,1	5,6	6,2	10,
Cys		0,8			0,5			0			0,5			0			2,9	
Met		1,2			2,0			2,5			2,2			1,4			0,3	
Ileu	5,4	3,7	6,9	4,8	3,7	11,8	5,8	4,0	4,8	5,1	3,6	4,8	5,2	3,8	4,6	4,9	4,0	7,
Leu	8,5	7,1	8,4	8,6	1,0	17,7	8,9	7,5	5,8	8,3	7,3	6,0	6,2	7,4	5,6	8,4	8,5	9,
Tyr	3,6	3,5	9,7	3,7	4,6	18,9	3,6	4,3	8,1	3,6	3,4	6,5	3,4	3,3	5,9	3,5	4,1	11,
Phe	4,2	3,0	7,0	4,4	5,2	17,9	4,3	4,0	6,5	4,3	3,6	5,7	4,2	3,6	5,2	4,3	4,5	10,
γ NH_2 But		0,8			0,1			0,2			0,2			1,1			0,2	
Try	0	traces		0	traces		0	traces		0	traces		0	traces		0	traces	
Orn	traces	traces		traces	traces		traces	traces		traces	0		traces	0		0	traces	
Lys	6,8	7,3	10,8	8,5	8,9	16,0	7,0	6,5	6,5	7,5	6,3	5,7	7,2	4,9	4,2	7,5	7,6	10,
His	2,8	2,6	9,0	3,0	1,6	8,4	2,8	1,8	4,3	2,9	1,7	4,1	2,9	1,9	4,0	3,2	2,1	6,
Arg	7,2	5,5	7,7	8,7	6,7	11,8	7,0	5,3	5,2	7,9	5,1	4,4	7,4	5,8	4,8	7,6	5,7	7,
Total	100	100	9,8	100	100	14,9	100	100	6,7	100	100	6,6	100	100	6,0	100	100	9,

Tableau IX : Composition en acides aminés totaux (AAT pour l'ensemble des acides aminés) et libres (AAL pour l'ensemble des acides aminés) exprimée en pourcentage de chaque acide aminé (AA t ou AA l) par rapport à AA T ou AA L, de quelques lombriciens.

Quoiqu'il en soit, lorsqu'on fait une analyse d'acides aminés totaux, il est souvent difficile de déterminer le temps optimum d'hydrolyse : il faut qu'il soit suffisant pour que la plupart des protéines soient hydrolysées, mais il ne faut pas qu'il soit trop long afin d'éviter une destruction partielle des acides aminés.

De toutes façons et quelles que soient les précautions prises, certains acides aminés sont malgré tout détruits par l'hydrolyse acide, soit totalement (le tryptophane), soit partiellement (la cystine à 80%) environ, la méthionine à 50 %). C'est pour cette raison que nous n'avons pas tenu compte de ces acides aminés dans le calcul des différents pourcentages.

Il est à noter qu'il n'y a pas de citrulline (ce n'est pas un acide aminé essentiel) et que l'hydroxyproline n'est présente que sous forme de traces ; il en est de même pour l'ornithine, mais les valeurs la concernant ne sont pas significatives : cet acide aminé se trouve en quantité relativement importante sur les doigts de l'expérimentateur et nos échantillons ont ainsi pu être contaminés (il aurait fallu opérer avec des gants). Cela expliquerait que, dans le cas de N. nocturnus, les traces d'ornithine décelées dans les acides aminés libres ne se retrouvent pas dans les acides aminés totaux.

Nous ne trouvons évidemment pas d'asparagine, de glutamine, ni d'acide γNH_2 butyrique : ceux-ci ont été transformés respectivement en acide aspartique, acide glutamique et en acide butyrique lors de l'hydrolyse.

La composition en acides aminés présente peu de variations interspécifiques ; presque tous les acides aminés sont présents et la comparaison avec les autres groupes zoologiques révèle peu de particularités. Il faut cependant noter que la teneur en lysine est plus importante que dans la plupart des organismes (tant animaux que végétaux). Les aliments riches en cet acide aminé en contiennent au plus 6 % par rapport aux acides aminés totaux (maïs) alors que nos lombriciens accusent des teneurs comprises entre 6,8 et 8,5 % (cf. tableau IX). Cette particularité

...

est intéressante car la lysine est un acide aminé essentiel qui doit entrer en quantité relativement importante dans les aliments.

Les acides aminés totaux représentent plus de 75 % des protéines. Une plus grande précision n'est guère possible du fait des acides aminés dont nous n'avons pas pu tenir compte (cystine, méthionine, tryptophane).

La différence entre les acides aminés totaux et les protéines est due, entre autres, aux destructions consécutives à l'hydrolyse (plusieurs pics correspondant à l'ammoniaque sont présents sur les enregistrements). De plus, la détermination des protéines a été faite en multipliant la teneur en azote par 6,25 ; outre que ce coefficient n'est qu'un coefficient moyen, l'azote dosé, s'il correspond en grande partie aux protéines, peut provenir également d'autres constituants (nucléoprotéines par exemple).

5.2 - Acides aminés libres

Ceux-ci représentent 6 à 15 % des acides aminés totaux (cf. tableau IX) (là encore, nous n'avons pas tenu compte de la cystine, la méthionine et du tryptophane, pour les raisons exposées précédemment)(cf. fig. 7a et 7b).

Cette proportion est celle que l'on retrouve dans la plupart des organismes animaux ou végétaux ; elle est d'ailleurs très variable au cours de la journée pour une espèce donnée.

L. castaneus contient plus d'acides aminés libres que les autres espèces, mais les différences interspécifiques semblent ne pouvoir être mises en relation avec le mode de vie.

La composition en acides aminés libres des lombriciens est assez complète (quoique la cystine soit apparemment absente chez A. rosea et N. longus) et globalement homogène dans l'ensemble du groupe.

...

Fig. 2 : analyse des acides aminés d'un lombricien

Auteurs	FRONCH, LISCINSKI, MILLER 1957			Mc INROY 1971	DURCHON, LAFON 1951	LAWRENCE, MILLAR 1945				
Espèces	L. terrestris	L. rubellus	E. rosea	E. foetida	L. terrestris	L. terrestris				
Eau % pf	82,62	83,70	83,62	87,10	81,3	80,4	79,0	81,0	86,0	85,
Poids sec % pf	17,38	16,30	16,38	12,9	18,7	19,6	21,0	19,0	14,0	15,
Protéines % ps	53,5	63,69	61,38	61,29	56,9	71,5	62,0	62,0	69,0	71,
Lipides % ps	6,01	4,77	4,39	8,95	17,3	~1,5 (sur 3 échantillons non lavés : 1,3-1,0-0,76 correction faite par l'auteur)				
Cendres % ps	23,07	15,06	15,67	4,82	9,2					
Calcium % ps				0,51						
Phosphore % ps				0,77						

Tableau IV : Quelques résultats des principaux auteurs ayant étudié la composition biochimique des vers de terre.

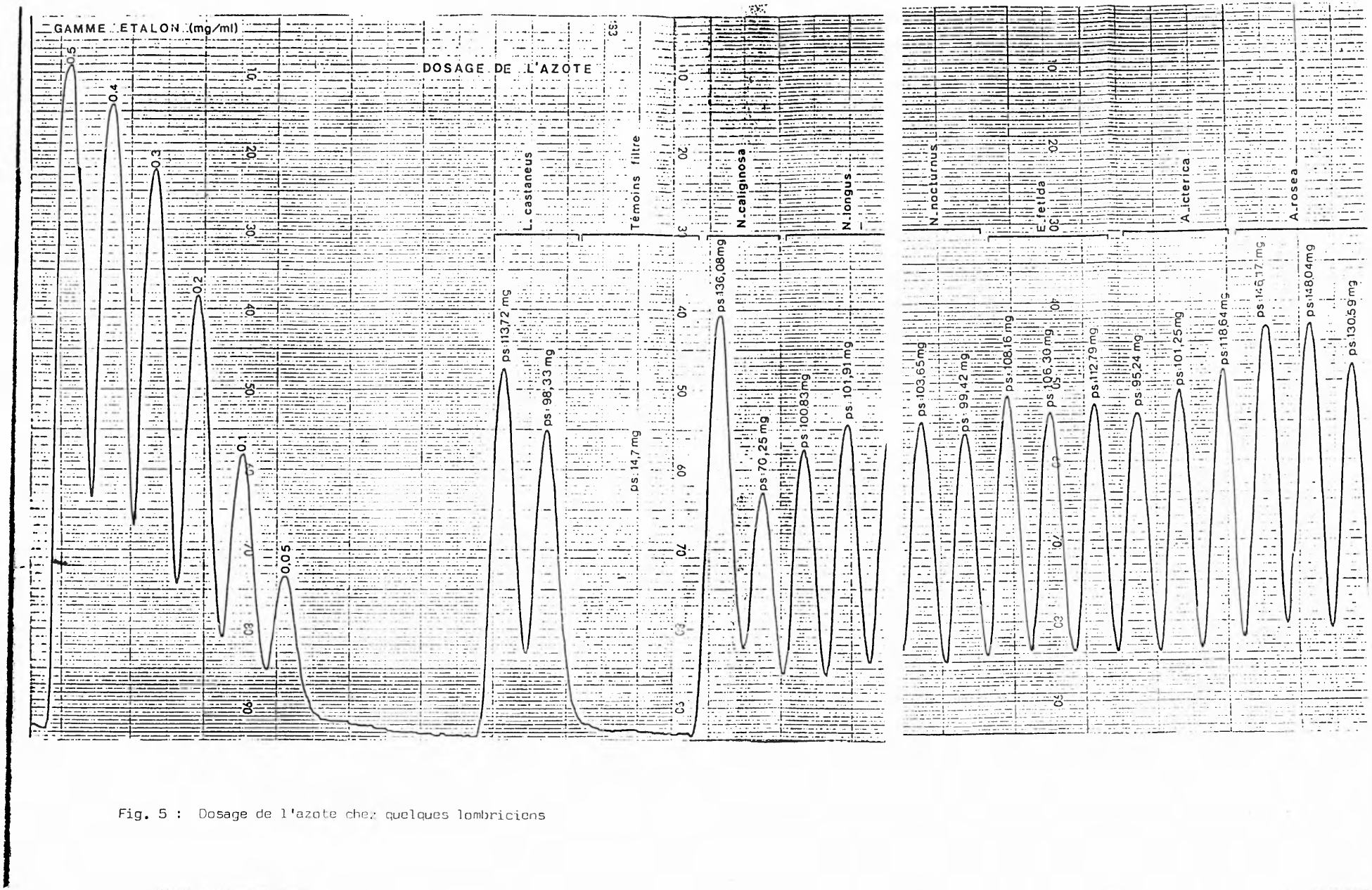


Fig. 5 : Dosage de l'azote chez quelques lombriciens

environ 75 % de la zoomasse (Bouché, 1975). Actuellement, la durée de vie des lombriciens est mal connue, mais il est fort probable que leurs cadavres constituent un apport non négligeable à la nécromasse. Il est donc intéressant de qualifier et de quantifier (dans la mesure du possible) cet apport qui, principalement par sa teneur en acides aminés, joue un rôle important dans les processus d'humification. Ainsi, Bachelier (1973) a montré que les synthèses humiques peuvent être favorisées par la fourniture de certains acides aminés (glycocolle, méthionine par exemple) ou au contraire, freinées par d'autres (la cystine dans certains cas). Les travaux de Russel (1910) ont montré l'existence d'un apport d'azote dans les sols par les cadavres des lombriciens. C'est également ce que constate Khalaf (cité par Ghabbour, 1966) en Egypte : l'auteur attribue l'accroissement de la teneur des sols en nitrates, après un assèchement prolongé, à la mort des vers de terre.

Ceci nous conduit à considérer avec prudence les expériences prouvant l'action bénéfique de tel ou tel produit chimique sur les plantes ; ceux-ci peuvent agir indirectement en tuant les vers de terre et, par là même, en enrichissant les sols. Si tel est le cas, leur action risque de n'être que temporaire et, à plus ou moins longue échéance, peu souhaitable.

Le rôle important que tiennent les vers de terre dans les chaînes alimentaires et sur le milieu où ils vivent (activité métabolique, excrétion, dégradation de la matière organique, ...) est connue de longue date.

Au fur et à mesure que s'accroissent nos connaissances sur ces oligochètes, leur importance biologique se révèle de plus en plus ample. Notre contribution autorise même à penser qu'ils pourraient être utilisés pour la nourriture animale.

BOUCHÉ, M. B. - Discussions d'Ecologie .III. Remarques sur les transferts entre maillons trophiques. - 1974. - Bull. Ecol., (sous presse).

BOUCHÉ, M. B. - Ecologie et para-écologie : Peut-on apprécier le rôle de la faune dans les cycles biogéochimiques ? - (1976) 1977. - In "Soil organims as components of ecosystems". - Ecol. Bull. (Stockholm), 25, (sous presse)

BOUCHÉ; M. B., et A. KRETZSCHMAR. - REAL : Un modèle du rôle écologique et agronomique des Lombriciens. - (1976) 1977. - In "Soil organisms as components of écosystems". - Ecol. Bull. (Stockholm), 25, (sous press

BRUNEL, E., et J. P. CANCELA DA FONSECA. - L'utilisation des séries chronologiques dans l'étude des cycles d'émergence de Psila rosae (Mouche de la carotte). - 1977. - Ann. Zool. Ecol. Anim., 9, pp. 515 - 535.

CANCELA DA FONSECA, J. P. - Théorie des systèmes. Son application à l'étude des écosystèmes. Introduction. Systèmes à variables d'état. - 107 + 9 pp. - 1974. - Laboratoire de Zoologie et Ecologie. Université de RENNES.

CANCELA DA FONSECA, J. P. - Possibilités d'utilisation de la technique des équidensités colorées aux problèmes de la décomposition de la litière. - Note 6 : 9 pp. - 1976. - D. G. R. S. T., Groupe de travail de Méthodologie écologique, Paris.

CANCELA DA FONSECA, J. P. - Analyse des systèmes écologiques. - (1975) 1977. - Actes 3ème Colloq. Informatique et Biosphère. (sous presse).

CANCELA DA FONSECA, J. P. - Quelques approches analytiques en dynamique de populations édaphiques (Acariens Oribates). - 1977. - (Soumis pour publication).

CANCELA DA FONSECA, J. P., et K. HADJIBIROS. - Le modèle matriciel déterministe de Leslie et ses applications en écologie des populations. - 1977. - Acta Biotheoretica, 26, pp. 237-259.

CROS, I. - Contribution à l'étude des relations Nématodes-Bactéries. - 33 pp. - 1974-75. - Diplôme de D.E.A. de l'Université de Luminy, Aix - Marseille II.

HADJIBIROS, K. - Le modèle matriciel de Leslie ; ses applications en écologie. - 20 pp. - 1974. - Rapport de C4 de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris.

Manque des feuilles ?

FOLCH J., M. LEES et G.H. SLOANE STANLEY, 1957 - J. Biol. Chem., 226, 497-509.

FRENCH, C.E., S.A. LISCINSKY et D.R. MILLER, 1977 - Nutrient composition of earthworms. J.Wildkfe Mgnt, 21, 348.

*

GHABBOUR, S.I., 1966 - Earthworms in agriculture : a modern evaluation. Rev. Ecol. Biol. Sol, 111,2,259-271.

HANSEN, R.P. et CZOCHANSKA, 1975 - The fatty acid composition of the lipids of earthworms. J. Sci. Fd. Agric., 26, 7, 961-971.

JACQUOT R., M. LE BARS, M. SIMONNET, 1958 - Données générales sur la nutrition et l'alimentation. In R.Jacquot, A.M.Leroy, M. Simonet, F.Courvoisier, M. WEBER "Nutrition animale", éd. Bailliere et fils, Paris.I.

JAVILLIER, M., et D. BERTRAND, 1959 - La composition élémentaire des organismes. In M. Javillier, M. Polonovski, M. Florkin, P. Boulanger, M. Lemoigne, J. Rocke, R. Wurmser "Traité de biochimie générale". Ed. Masson et Cie, Paris, I, 19.

LAVERACK, M.S., 1963 - The physiology of earthworms. Pergamon Press, Oxford, 1-18.

LAWRENCE, R.D., et M.R. MILLAR, 1945 - Protein content of earthworms. Nature, Lond., 155, 517.

Mc INROY, D.M., 1971 - Evaluation of the earthworm "Eisenia foetida" as food for man and domestic animals. Feedstuffs, feb.20, 37,46,47.

MEAD, J.F., 1968 - In "Progess in the chemistry of fats and other lipids, vol. 9, éd. R.T. Holman, Oxford, Pergamon Press.

GODEAUX, J., 1954 - Recherches électrophorétiques sur les protéines musculaires du lombric. Bull. Acad. Belg. Cl. Sci., 40, 48-61.

HADJIBIROS, K. - Le modèle matriciel de Leslie. Application à la dynamique des populations édaphiques par les techniques de la régression et de la simulation. - 76 pp. - 1975. Diplôme D.E.A. de l'Université François Rabelais, Tours

HADJIBIROS, K. - Technique de simulation de la dynamique d'une population naturelle basée sur le modèle matriciel de Leslie. - Note 7 : 17+[1] pp. - 1976. - D. G. R. S. T., Groupe de travail de Méthodologie écologique, Paris.

RANDOIN, L., P. LE GALLIC, Y. DUPUIS, A. BERNARDIN - 1974 - Tables de composition des aliments. Ed. Lanore, Paris, 1-116.

RUSSEL, E.J., 1910 - The effect of earthworms on soil produtiveness. J. Agricul. Science, Cambridge, vol. 3, 246-257.

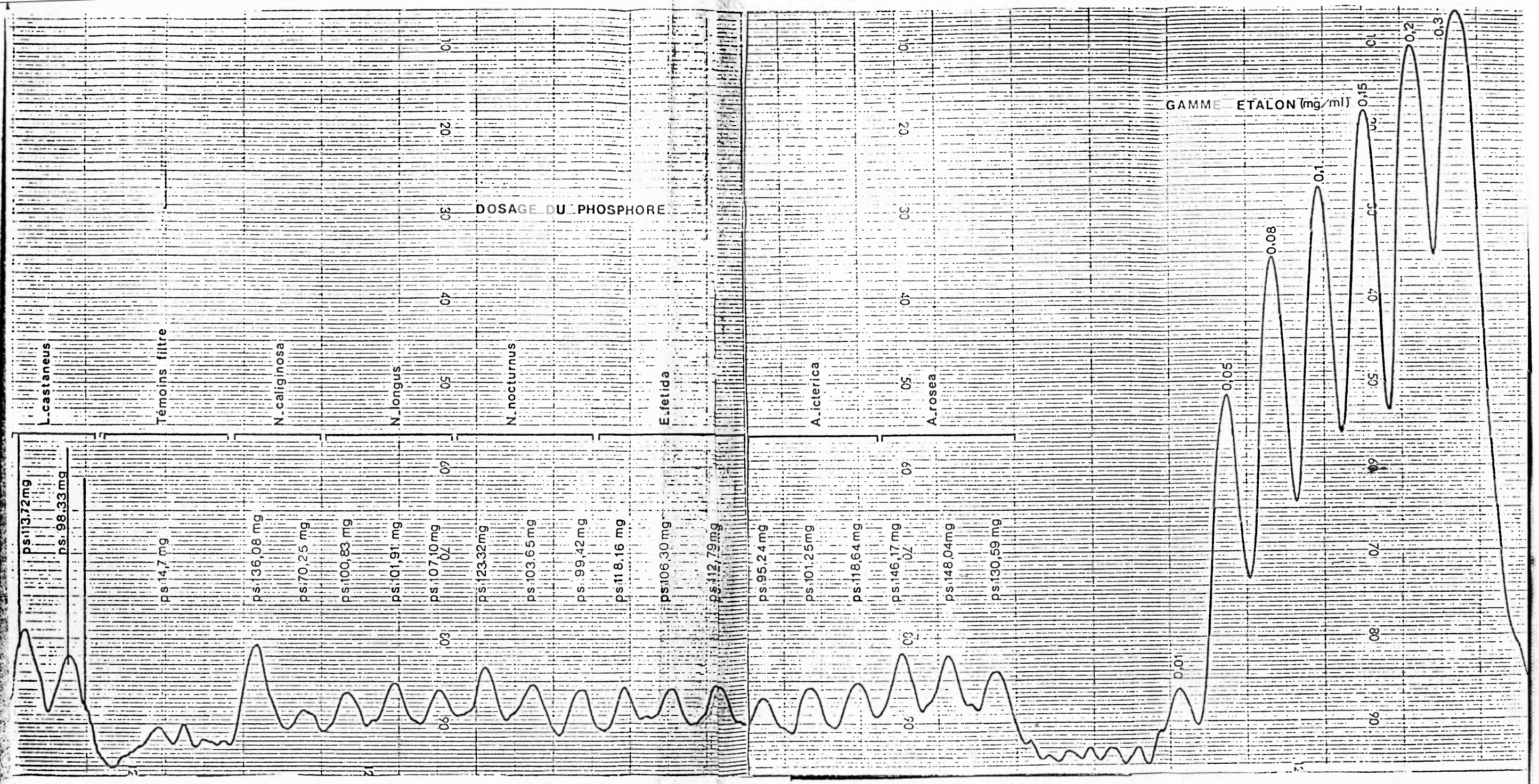


Fig. 3 : Dosage du phosphore chez quelques lombriciens

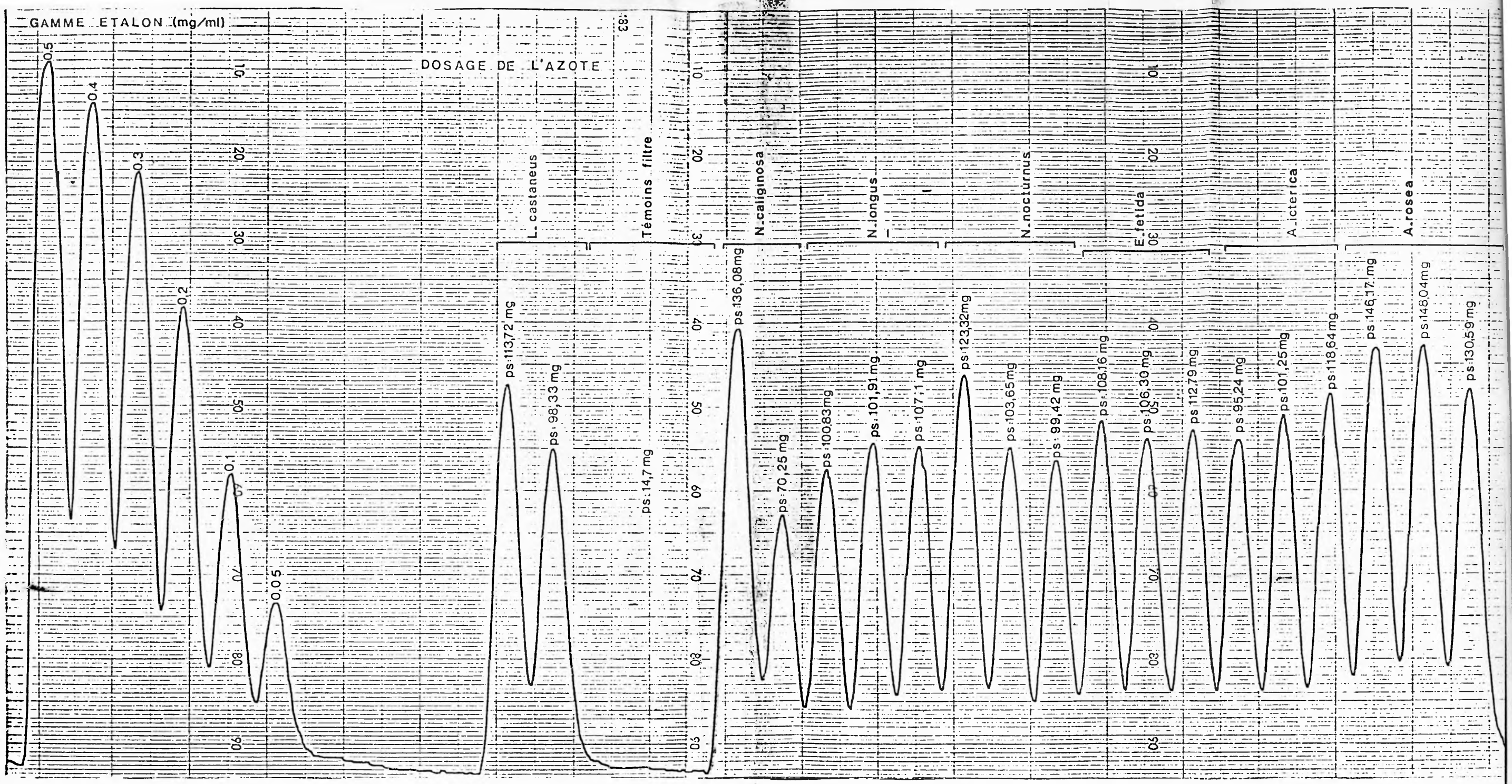
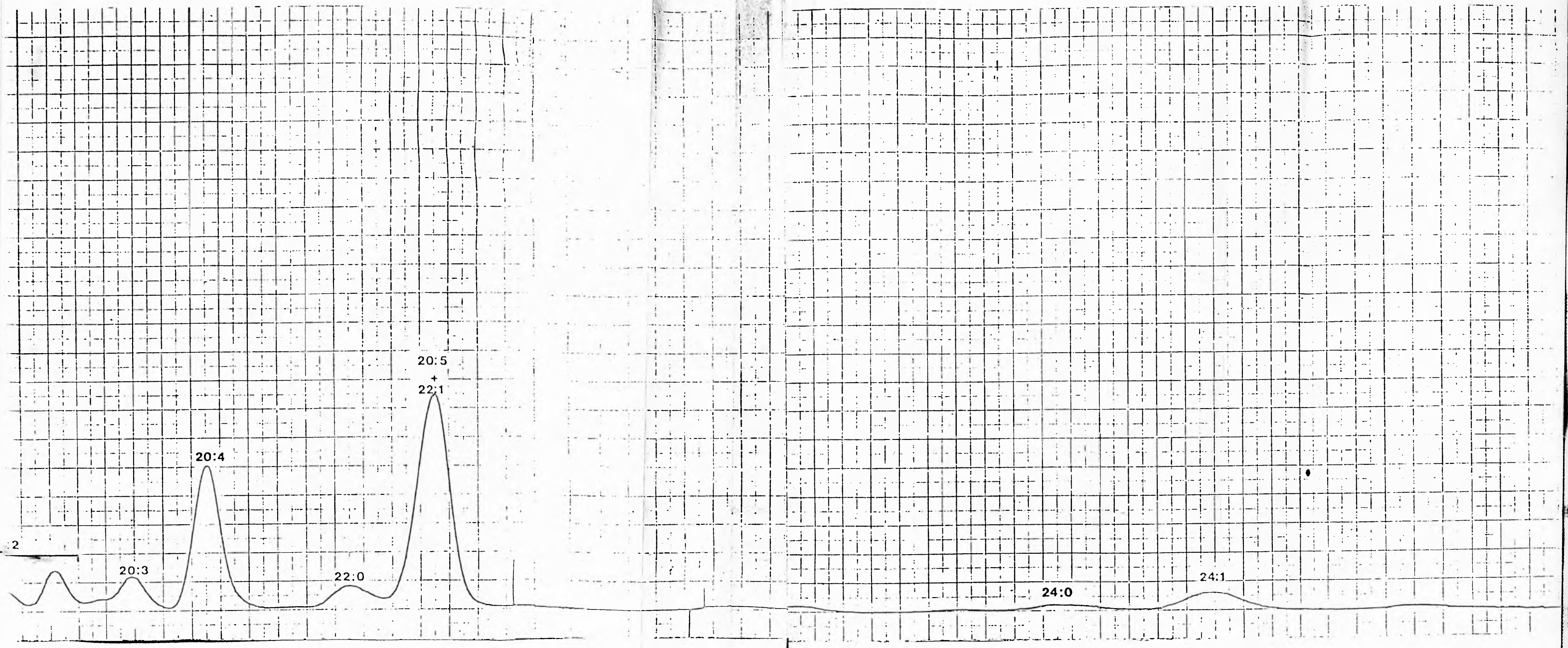


Fig. 5 : Dosage de l'azote chez quelques lombriciens


20:5
+
22:1
20:4
20:3
22:0
24:0
24:1

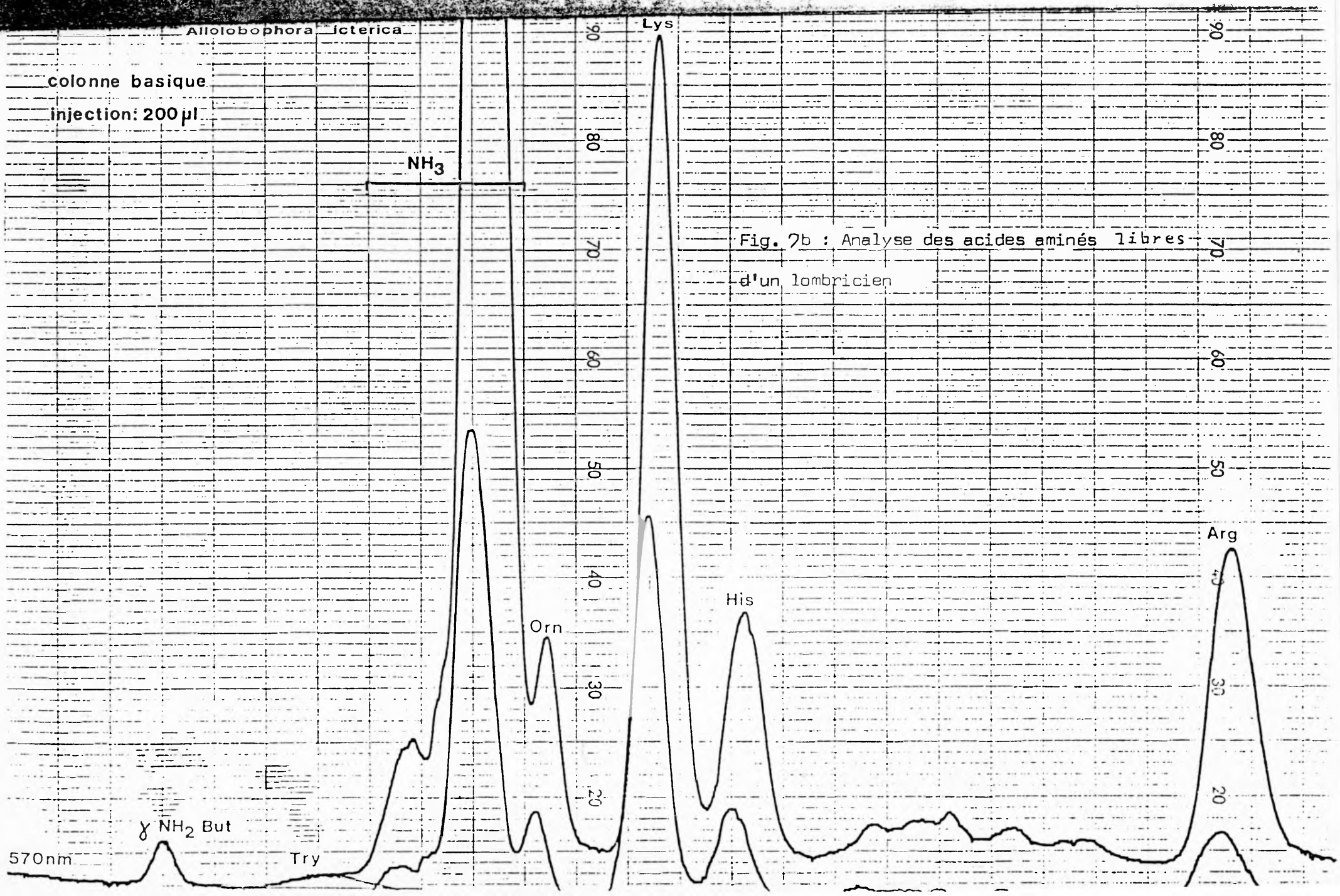


Fig. 7b : Analyse des acides aminés libres d'un lombricien