

TABLE DES MATIERES

LISTES DES ANNEXES.....	iii
LISTE DES CARTES	iii
LISTE DES FIGURES.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	iv
LISTE DES PLANCHES.....	iv
LISTE DES PHOTOS	iv
ACRONYMES.....	vi
GLOSSAIRE	vii
I-INTRODUCTION	1
I-1-Généralités	4
I-1-1-Position systématique du genre	4
I-1-2- Classification et description.....	4
I-1-3-Utilisations et statut de conservation	5
I-1-4- Rôles de l'écorce	6
I-1-5-Aire de répartition.....	6
I-1-5- Données sur l'exportation.....	8
I -2-Milieu d'étude.....	8
I-2-1- Localisation géographique.....	8
I-2-2-Climat	8
II-MATERIELS ET METHODES	11
II-1-Matériels d'étude.....	12
II-1-1-Collecte et préparation des échantillons	12
II-2-Méthodes d'étude anatomique	13
II-2-1- Etude macroscopique	13
II-2-2- Description microscopique.....	13
II-2-3- Localisation anatomique des principes actifs	17
III-RESULTATS ET INTERPRETATIONS	18
III-1- Description macroscopique.....	19
III-2-Description microscopique de l'écorce.....	19
III-2-1- Périderme et rhytidome.....	21
III-2-2- Cortex.....	26
III-2-3- Phloème II.....	27

III-2-4- Cambium.....	30
III-2-5- Canaux sécréteurs	30
III-2-6-Cristaux	30
III-3- Localisation anatomique des principes actifs	33
IV-DISCUSSIONS.....	36
V-CONCLUSION ET PERSPECTIVES	38
VI-REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	40
ANNEXES	44

LISTES DES ANNEXES

Annexe 1 : Données climatiques de Morondava (Année 2010-2015)	45
Annexe 2 : Préparation d'un mélange de Safranine O et d'Alcian blue (Nele Schmitz, 2006) :	45
Annexe 3: Procédure de coloration des coupes.....	45

LISTE DES CARTES

Carte 1 : Distribution géographique de <i>Cedrelopsis grevei</i> et <i>Cedrelopsis microfoliolata</i>	7
Carte 2: Localisation des sites d'étude	10

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Diagramme ombrothermique de Morondava (2010-2015).....	9
Figure 2 : Termes suggérés pour les différentes zones de tissus dans l'écorce selon Trocnkenbrodt (1990) pour l'observation et interprétations	16
Figure 3 : Terme suggérés pour les zones de tissus après une formation de rhytidome selon Junnika (1994) pour l'observation et interprétations	16
Figure 4 : Dessin d'une section transversale de l'écorce de <i>Cedrelopsis grevei</i> (CT x 500)...	20
Figure 5 : Dessin d'une section transversale de l'écorce de <i>Cedrelopsis microfoliolata</i> (CT X 500).....	20
Figure 6 : Comparaison de l'épaisseur du suber et du phelloderme de l'écorce <i>Cedrelopsis grevei</i> et <i>C. microfoliolata</i>	23
Figure 7 : Section transversale du périoderme de <i>Cedrelopsis grevei</i> (CT X 20)	24
Figure 8 : Section transversale du périoderme de <i>Cedrelopsis microfoliolata</i> (CT X40)	25
Figure 9 : Sclérites de forme carré et triangulaire	26
Figure 10 : Sclérites de forme arrondie	26
Figure 11 : Comparaison des diamètres des fibres du phloème II de l'écorce.....	29

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Comparaison morphologique entre <i>Cedrelopsis grevei</i> et <i>C. microfoliolata</i>	5
Tableau 2 : Données sur l'exploitation de <i>Cedrelopsis grevei</i>	8
Tableau 3: Matériels d'études	12
Tableau 4 : Mesures des différentes parties de l'écorce des 2 espèces de <i>Cedrelopsis</i>	21

LISTE DES PLANCHES

Planche 1: Préparation de l'échantillon pour l'observation macroscopique	14
Planche 2 : Préparation des échantillons et microtomie	15
Planche 3 : Vue macroscopique de l'écorce de <i>Cedrelopsis grevei</i> et <i>C. microfoliolata</i>	20
Planche 4 : Vue d'ensemble de l'écorce de <i>Cedrelopsis microfoliolata</i> et <i>C. grevei</i>	22
Planche 5: Photo et figure mettant en évidence le périderme et le rhytidome de <i>Cedrelopsis grevei</i> ..	24
Planche 6 : Photo et figure mettant en évidence le périderme et le rhytidome de <i>Cedrelopsis microfoliolata</i>	25
Planche 7: Photos illustrant la vue d'ensemble du cortex et des différentes formes de sclérite.....	26
Planche 8 : Photos illustrant le phloème II.....	28
Planche 9 : Photos mettant en évidence les Parenchymes et les rayons	31
Planche 10 : Photos mettant en évidence les zones cambiales, canaux sécréteurs	32
Planche 11 : Localisation de monoterpène colorée en brun orangé dans <i>Cedrelopsis grevei</i>	34
Planche 12 : Localisation de sesquiterpène colorée en brun vert dans <i>Cedrelopsis grevei</i>	35

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Ponçage de la micro-carotte.....	14
Photo 2 : Polissage de la surface	14
Photo 3 : Loupe (DIGITAL camera, 200X)	14
Photo 4 : Observation macroscopique de l'échantillon avec le digital camera.....	14
Photo 5 : Blocs constitués d'écorce, et de bois	15
Photo 6 : Blocs conservés dans de l'alcool 30 %	15
Photo 7 : Préparation des cubes de 1cm ³	15
Photo 8: Confection des coupes au microtome de type G.S.L.	15
Photo 9 : Vue macroscopique de l'écorce de <i>Cedrelopsis grevei</i> (CT x 500)	20
Photo 10: Vue macroscopique de l'écorce de <i>Cedrelopsis microfoliolata</i> (CT X 500)	20
Photo 11: Vue d'ensemble de l'écorce de <i>Cedrelopsis microfoliolata</i> (CT X 4)	22
Photo 12: Vue d'ensemble de l'écorce de <i>Cedrelopsis grevei</i> (CT X 4)	22
Photo 13 : Vue d'ensemble du périderme de <i>Cedrelopsis grevei</i> (CT X 20).....	24
Photo 14 : Vue d'ensemble du périderme de <i>Cedrelopsis microfoliolata</i> (CT X 40).....	25

Photo 15 : Cortex sclérites, canaux sécréteurs chez <i>C. microfoliolata</i> (CT X 4).....	26
Photo 16: Sclerites de forme carré et triangulaire	26
Photo 17: Sclérites de forme arrondie	26
Photo 18: Une partie de phloème II oblitéré	28
Photo 19 : Forme des fibres phloémiennes et des cristaux	28
Photo 20: Vue d'ensemble du phloème II chez <i>C. grevei</i> (CT X 4)	28
Photo 21: Une partie de phloème II non oblitéré	28
Photo 22 : Rayons unisériés chez <i>C. Grevei</i> (CLTg X 20)	31
Photo 23 : Rayons unisériés(a) et bisériés (b) chez <i>C. microfoliolata</i> (CLTg X 20).....	31
Photo 24 : Rayons homocellulaires chez <i>C. grevei</i> (CLR X20).....	31
Photo 25 : Rayons hétérocellulaires : cellules carrées (a) et couchées (b) chez <i>C. microfoliolata</i> (CLR X 20).....	31
Photo 26 : Dilatation des rayons et parenchyme en section transversale (CT X 20)	31
Photo 27 : Dilatation des rayons et parenchyme en section longitudinale (CLTg X 20)....	31
Photo 28: Zone cambiale chez <i>C. grevei</i> (CT X 100)	32
Photo 29: Zone cambiale chez <i>C. microfoliolata</i> (CT X 100)	32
Photo 30 : Canaux sécréteurs chez <i>C. grevei</i> (CT X 20).....	32
Photo 31: Canaux sécréteurs chez <i>C. microfoliolata</i> (CT X 20).....	32
Photo 32: Cristaux dans les parenchymes axiaux (Pa A) et fibre (F)	32
Photo 33 : Jeune tige + Eau distillée	34
Photo 34 : Jeune tige+2-4-Dinitrophénylhydrazine-HCl	34
Photo 35 : Ecorce du tronc + Eau distillée	34
Photo 36 : Ecorce du tronc + 2-4-Dinitrophénylhydrazine-HCl	34
Photo 37 : Jeune tige + Eau distillée	35
Photo 38 : Jeune tige + H ₂ SO ₄	35
Photo 39 : Ecorce du tronc + Eau distillée	35
Photo 40 : Ecorce du tronc + H ₂ SO ₄	35

ACRONYMES

APG	: Angiosperm Phylogeny Group
CITES	: Convention internationale sur le commerce des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction
CLR	: Coupe longitudinale radiale
CLTg	: Coupe longitudinale tangentielle
CT	: Coupe transversale
DGEF	: Direction générale des eaux et forêts
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
H₂SO₄	: Acide sulfurique
HCl	: Acide chlorhydrique
PFNL	: Produits forestier non ligneux
PFL	: Produits forestier ligneux
UICN	: Union Internationale pour la Conservation de la Nature

GLOSSAIRE

Cambium vasculaire : couche des cellules meristématiques responsable du développement d'une structure secondaire du phloème vers l'extérieur et du xylème vers l'intérieur (Junikka, 1994)

Canaux sécréteur: canaux contenant des substances sécrétées (Tronckenbrodt, 1990)

Cortex : Tissu d'origine primaire entre l'épiderme/periderme et le phloème II (Tronckenbrodt, 1990)

Dilatation d'écorce : C'est le processus qui assure l'élargissement tangentiel de l'écorce pendant sa croissance. (Tronckenbrodt, 1990)

Ecorce: 1-Botaniquement, dans les organes jeunes, l'écorce est constituée de l'extérieur vers l'intérieur par le périderme, collenchyme, parenchyme cortical et sclérenchyme.

2-D'après Tronckenbrodt (1990), l'écorce est l'ensemble de tous les tissus à l'extérieur du cambium vasculaire sans tenir compte de leur composition.

Périderme : Tissu végétal regroupant de l'extérieur vers l'intérieur le suber, le phellogène et le phelloderme. (Tronckenbrodt 1990)

Phellogène : couche des cellules meristematiques responsable de développement du suber vers l'extérieur et du phelloderme vers l'intérieur (Junikka, 1994)

Phelloderme : Tissu protecteur formé par des cellules vivantes, produit par le phellogène (Junikka, 1994)

Phloème secondaire oblitéré : Une partie du phloème II où les tubes criblés, les cellules compagnes et quelque fois les cellules du parenchyme phloèmien sont comprimées. (Tronckenbrodt, 1990).

Phloème secondaire non oblitéré : une partie du phloème II où les éléments du phloème sont biens différenciés (Tronckenbrodt, 1990).

Rhytidome : c'est la partie morte la plus externe de l'écorce. Les dernières couches de périderme formées hors du phloème vivant et le périderme du cortex (Junikka, 1994 ; Crivellaro et Schweingruber, 2015).

Sclérite : cellule scléreuse ramifiée, généralement de grande taille, appartenant au tissu de soutiens.

Suber : Tissu protecteurs constitué par des cellules mortes, principalement avec des parois suberisées produit par le développement externe du phellogène (Junikka, 1994).

Tube criblé : Élément conducteur du liber, à cloisons transversales obliques et perforées, présent chez les angiospermes (Junikka, 1994).

I-INTRODUCTION

Madagascar possède 490 genres autochtones d'arbres et de grands buissons, 161 sont endémiques dont le genre *Cedrelopsis* (Schatz, 2001). Les espèces du genre sont à la fois des produits forestiers ligneux (PFL) grâce à leur bois dur et des produits forestiers non ligneux (PFNL) par l'utilisation de leur écorce. Les PFNL sont des biens d'origine biologique autre que le bois, dérivés des forêts, des autres terres boisées et hors forêts (FAO, 1999; Delvaux et *al.*, 2009). La catégorisation des PFNL d'origine végétale est en fonction soit de leur utilisation finale et de leur forme, soit en fonction de leur présence sur le marché : nourriture, fourrage, médecine, parfums et produits cosmétiques, colorants et tannins, les ustensiles, produits artisanaux de matériaux de construction, plantes ornementales et les exsudats (FAO, 2006). Parmi ces huit catégories, les plantes médicinales se trouvent en troisième position et elles sont reconnues comme avoir des qualités curatives ou préventives contre les maladies de l'être humain et des animaux (Randimbiarivelo, 2008). *Cedrelopsis* est exploitée aussi bien traditionnellement que dans l'industrie pharmaceutique. En effet, l'écorce de cette plante possède des principes actifs, lui conférant son activité thérapeutique, tels que le sesquiterpène (50,4 %) et le monoterpène (3,8 %) chez *Cedrelopsis grevei* (Rakotobe et *al.*, 2008 ; Andrianoelisoa, 2013).

Appartenant à la famille des RUTACEAE (Baillon, 1893), les espèces du genre se rencontrent dans les forêts denses sèches caducifoliées et les forêts littorales. Elles constituent une source importante de bois d'œuvre, bois de chauffe et sont utilisées comme plante médicinale par les populations locales. Malgré les menaces qui pèsent sur leur habitat naturel et les collectes abusives de leur écorce, les espèces de *Cedrelopsis* ne sont pas encore inscrites dans les Annexes de la CITES. Elles ont un statut de conservation vulnérable selon UICN (Rabarison et *al.*, 2010).

Plusieurs études ont été effectuées sur le genre *Cedrelopsis* : étude du comportement sylvicole par Raoeliasoa (1995), étude de la dynamique des populations et de la régénération artificielle par Samisoa (1998); étude écologique et ethnobotanique par Raivoarisoa (1999) et Rakotondrafara (2010) et évaluation des statuts de conservation selon la catégorisation de l'UICN de huit espèces du genre *Cedrelopsis* de Madagascar par Rabarison et *al.* (2010). En se basant sur la technique d'écorçage de l'espèce, la valorisation et l'exploitation non destructive des écorces de *Cedrelopsis grevei* ont été étudiées par Andrianoelisoa en 2013. L'anatomie du bois et l'analyse des cernes de croissance de quelques espèces du genre *Cedrelopsis* ont été effectuées par Ravaoherinavalona en 2011,

mais à notre connaissance aucune étude n'a pas été encore entreprise sur l'anatomie de l'écorce de cette espèce.

Ainsi, l'objectif principal de ce travail est de mettre en évidence la structure anatomique de l'écorce de deux espèces : *Cedrelopsis grevei* et *C. microfoliolata*.

Les objectifs spécifiques qui en découlent sont de:

- décrire les caractéristiques anatomiques de l'écorce du tronc ;
- déterminer les tissus sécréteurs ;
- comparer les structures anatomiques de l'écorce des deux espèces cibles.

Deux hypothèses sont à vérifier pendant ce travail:

1. Des différences anatomiques existent entre les deux espèces appartenant au même genre *Cedrelopsis* ;
2. Des tissus et/ou canaux sécréteurs sont présents dans l'écorce produisant les principes actifs (sesquiterpène et monoterpène).

I-1-Généralités

I-1-1-Position systématique du genre

Cedrelopsis est un genre endémique de Madagascar, contenant 8 espèces à savoir *C. ambanjensis* (J. F. Leroy), *C. gracilis* (J. F. Leroy), *C. grevei* (Baillon), *C. longibracteata* (J. F. Leroy), *C. microfoliolata* (J. F. Leroy), *C. procera* (J. F. Leroy), *C. rakotozafyi* (Cheek & Lescot), *C. trivalvis* (J.F. Leroy). *Cedrelopsis*, est proche du genre africain *Ptaeroxylon*, d'après la morphologie, la palynologie et les données photochimiques, il a été classé dans la famille des Ptaeroxylaceae (Pennington & Styler, 1975). Récemment, le genre a été classée dans la famille des Rutaceae d'après les analyses phylogénétiques (Schatz, 2001; Rabarison et al., 2010).

I-1-2- Classification et description

La classification utilisée est celle donnée par Angiosperm Phylogeny Group III (2009).

Règne	: VEGETAL
Super – embranchement	: CORMOPHYTES
Embranchement	: SPERMATOPHYTES
Sous – embranchement	: ANGIOSPERMES
Classe	: DICOTYLEDONES
Sous-classe	: ROSIDAE
Ordre	: SAPINDALES
Famille	: RUTACEAE
Genre	: <i>Cedrelopsis</i>

La famille des RUTACEAE est cosmopolite mais surtout tropicale constituée de 161 genres et 17 000 espèces environ.

➤ Description générale du genre

La description du genre *Cedrelopsis* ci-après est tirée de la «Flore générique des arbres de Madagascar» (Schatz, 2001). C'est un buisson à grand arbre dioïque, très aromatique et pérenne : 5 à 12 m de haut et 25 à 150 cm de diamètre. L'écorce est rugueuse, légèrement crevassée, de couleur grisâtre à brunâtre. Les feuilles sont alternes, composées- pennées (10-20 cm x 6-8 cm) à 4-14 paires de folioles latérales opposées à sub-opposées sauf à la base du limbe polymorphe, mince (3)-5-(8) x (0,5)-1,5-(3) cm, à ponctuations translucides comme toutes les RUTACEAE. Les inflorescences sont en panicules ramifiés de 1-2cm, puberulantes, grisâtre. Les fleurs sont hermaphrodites de couleur jaune 5 sépales charnus, poilus extérieurement, 5 pétales imbriqués, 5 étamines (staminodes pour les fleurs femelles),

ovaire à 5 loges (1) -2-3 ovulé (pistilloïde pour les fleurs mâles); disque à la base du pistil. Les fruits sont en capsules, de couleur verte et noir à maturité, déhiscentes en 5 valves, à ponctuations translucides (22 x 30 mm x 22 mm); 0-1graine par valve. Les graines sont oblongues, ailées d'où la dissémination des diaspores assurée par le vent ou anémochorie, aplaties latéralement, et ex albuminé (2-22 mm x 6 mm).

La description de *Cedrelopsis grevei* et *C. microfoliolata* sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Comparaison morphologique entre *Cedrelopsis grevei* et *C. microfoliolata*

Critères	<i>C. grevei</i>	<i>C. microfoliolata</i>
Auteur	Baillon	J. F. Leroy
Nom vernaculaire	Katrafay, Katrafay tenany (Androy), Katrafay dobo, Katray filo	Hazondinta (Sakalava Avaratra), Mantaora (Sakalava Menabe), maninjo (Androy, Bara).
Port	arbre ou arbuste	arbuste ou arbre parfois petit buisson
Hauteur	jusqu'à 15 m	5 à 10 m
écorce	vert à grisâtre crevassée	brun clair striée
Feuille	alternes généralement caduques, de 12-20 x 6-8 cm	alternes de 7-16 x 3-5 cm
Foliole	4 à 6 paires (6-11 x 3-4 cm) Subcoriace, ovées, lancéolées-oblongues à oblongues elliptiques	8-14 paires (1-4 x 0,3-0,5cm) subcoriaces à chartacés, ovées, oblongues à oblongues elliptiques
Inflorescence	en panicule très ramifié composé en cyme bipare	en thyrses contactée, grisâtre ou ferrugineux
Fleur	Pédicellées	Sessile
Fleurs polygame	Mâle: anthères elliptique, filet long 4-5 cm, pistilloïde plus ou moins réduit Femelle : ovaire 5 loges,	Mâle: anthères elliptique, filet long 4-5 cm, pistilloïde plus ou moins réduit Femelle : ovaire 5 loges
Fleur hermaphrodite	- non fonctionnelle - androcée et gynécée réduits	- non fonctionnelle - androcée et gynécée réduits
Fruit	- capsule vert à noir - 5 valves renflées à la base - calice persistant	- capsule - 2 à 5 valves renflées, cordé à la base - calice persistant

I-1-3-Utilisations et statut de conservation

Les utilisations suivantes sont tirées d'après les études de Cavalli et *al.* (2003), Randimbiarivelo (2008) ; Randriamiharisoa (2010); Ravaoherinavalona (2011) et Cazan-Beyret (2013). *Cedrelopsis grevei* est une espèce très utilisée en pharmacopée traditionnelle. Les feuilles, tiges, bois, écorces et les graines sont utilisées sous différentes formes : décoction, infusion et poudre. Par ailleurs son bois dur est utilisé pour la construction, bois de chauffe. L'écorce sous forme de poudre est cicatrisante et anesthésiante en infusion et soulage la douleur liée au rhumatisme tandis qu'en décoction elle sert d'aphrodisiaque. En

cosmétique, les extraits de l'écorce servent de produit de soins hydratants. L'écorce possède des vertus curatives grâce à la présence des principes actifs : sesquiterpène et monoterpène comme antifatique, tonifiant, contre le maux d'estomac et de ventre. Dans la région Morondava, pour certaines ethnies le bois est porte bonheur ; au moment de la circoncision communément appelé «Hazomanga» et le «bilo ou tromba » un rituel de possession et de sacrifice dont l'objectif est de communiquer avec les ancêtres en vue de résoudre des problèmes ou guérir des maladies, l'écorce est utilisé pour fabriquer le rhum local. Grâce à son bois dur et imputrescible, le bois est appelé « palissandre blanc » sur les marchés locaux et pourrait être une espèce de substitution aux espèces de *Dalbergia* (Ravaoherinavalona, 2011; Cazan-Beyret, 2013).

L'écorce de *Cedrelopsis microfolialata* sert à traiter les maux de ventre et est utilisée comme tonifiant pour soulager la fatigue. Le bois est utilisé pour la construction et le chauffage (Rakotondrafara, 2010).

Les études écologiques ont permis de catégoriser les deux espèces vulnérable B2b (ii, iii) dans la liste rouge de l'UICN (Rabarison et *al.*, 2010) à cause des menaces qui pèsent sur leur habitat et malgré la surexploitation de leur écorce, elles ne sont pas encore inscrites dans les Annexes de la CITES.

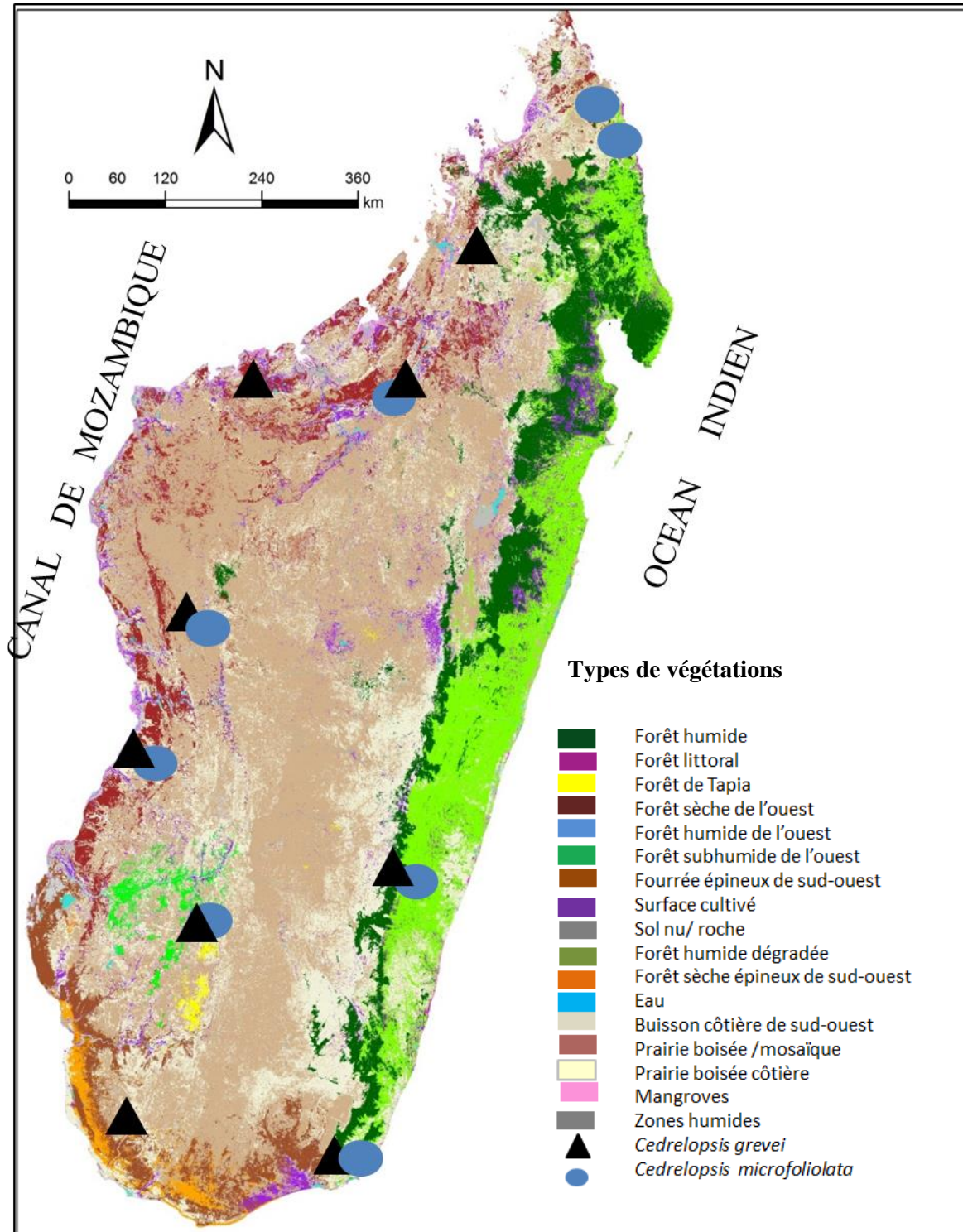
I-1-4- Rôles de l'écorce

L'écorce est le revêtement extérieur du tronc, des branches et des racines des arbres. Elle joue des rôles de protection, conduction et stockage. Elle protège la plante contre la variation de la température, les maladies et les agressions et attaques provoqués par les animaux. Elle assure la conduction de la sève élaborée grâce à la présence d'un tissu conducteur qui est phloème. Elle peut stocker aussi des composés chimiques, des éléments minéraux comme les cristaux dans les cellules de parenchyme et les poils.

I-1-5-Aire de répartition

Cedrelopsis grevei fait partie d'une des composantes floristiques importantes de l'Ouest et du Sud-Ouest de Madagascar. Elle se rencontre dans les forêts denses sèches caducifoliées et les fourrés xérophiles. Ainsi que dans les formations savanicoles sur différents types de substrats (karst, sable, calcaire, sol ferrugineux, sol alluvionnaire) sous une diversité des conditions écologique remarquables. La surface de distribution probable de cette espèce est d'environ 436 505 km² (zone d'occurrence) avec une aire d'occupation de 873 km² (Rabarison et *al.*, 2010)

Cedrelopsis microfoliolata se rencontre dans différents types de végétation tels que les forêts denses sèches caducifoliées et les fourrés xérophiles. La zone d'occurrence de cette espèce est d'environ 330 339 km² tandis que l'aire d'occupation est de 243 km² (Rabarison et *al.*, 2010).



Source fond de carte : Atlas de la Végétation de Madagascar (Moat & Smith, 2007)

Carte 1 : Distribution géographique de *Cedrelopsis grevei* et *Cedrelopsis microfoliolata*

I-1-5- Données sur l'exportation

Les données sur l'exploitation et la recette sur l'exportation des trois dernières années de *Cedrelopsis grevei* ont été recueillies auprès du service de la promotion de la valorisation des produits forestiers à la Direction Génération des Eaux et Forêts (DGEF) à Nanisana Antananarivo (Tableau 2). Depuis 2014, 1,16 tonnes d'écorce de *Cedrelopsis grevei* ont été exploités dans les Sud et Sud -Est de l'Ile pour la production d'huiles essentielles. La filière Katrafay apporte une redevance non négligeable d'environ 3 à 14 millions d'Ariary à l'économie nationale.

Tableau 2 : Données sur l'exploitation de *Cedrelopsis grevei*

Année	Quantité		Redevance
	Ecorce brute (kg)	Huile essentielle (ml)	Ariary
2013	175,17	9 600	317 400
2014	338,12	1 200	3 547 306
2015	1 163,78	5 960	14 694 048

(Source DGEF, 2016)

I -2-Milieu d'étude

I-2-1- Localisation géographique

Cedrelopsis grevei est une espèce caractéristique de sud-ouest de Madagascar. La collecte d'échantillon a été effectuée à Morondava, région de Menabe, dans les fokontany d'Andranomena, Marofandilia et de Kirindy (Carte 2, page 10). La forêt de Morondava se situe entre 44°14' de longitude Est et 20° 17' de latitude Sud.

I-2-2-Climat

Le climat de la région de Morondava est de type tropical sec avec deux types de saison bien marqués : une saison chaude et pluvieuse et une saison sèche (Moat et Smith, 2007). Les données climatiques des cinq dernières années de Morondava ont été recueillies auprès de la station météorologique d'Ampantrianomby Antananarivo (annexe 1, page 45).

a) Précipitation

La précipitation moyenne annuelle est de 750 mm. La période de pluie est entre novembre et mars mais les mois les plus arrosés sont les mois de janvier et février.

b) Température

La température moyenne annuelle à Morondava est de 25,04 °C. Les mois de novembre à mars sont les plus chauds avec un maximum de 32°C et les mois de juin à octobre sont les plus frais avec un minimum de 15,84 °C.

c) Diagramme ombrothermique

Le diagramme ombrothermique permet de déterminer le nombre de mois pluvieux et de mois écossecs. Il a été élaboré selon le principe de la méthode de Gaussen (1955):

$$P = 2T$$

P: précipitation (mm)

T: température (°C)

Le diagramme ombrothermique (Figure 1) établi à partir des données climatiques des cinq dernières années, montre une saison sèche ($P < 2T$) de 7 mois, d'avril à octobre et une saison humide du mois, de novembre à mars.

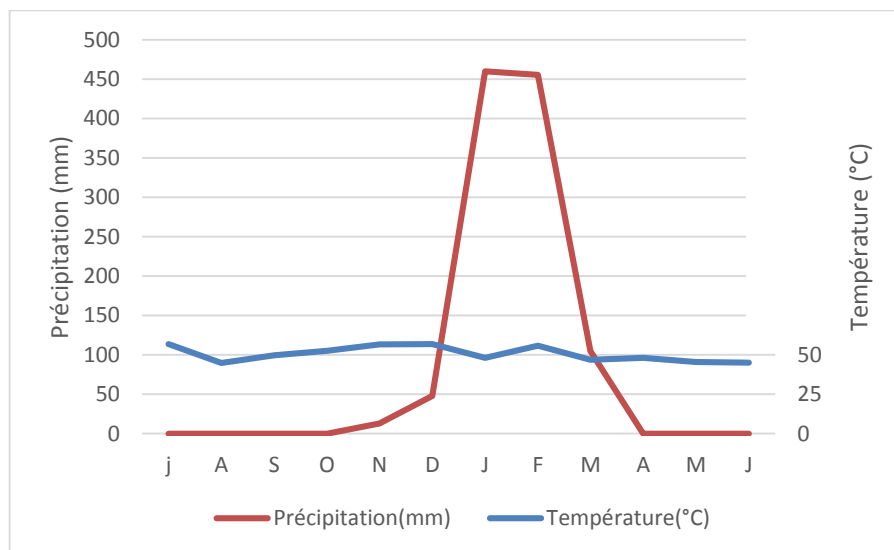
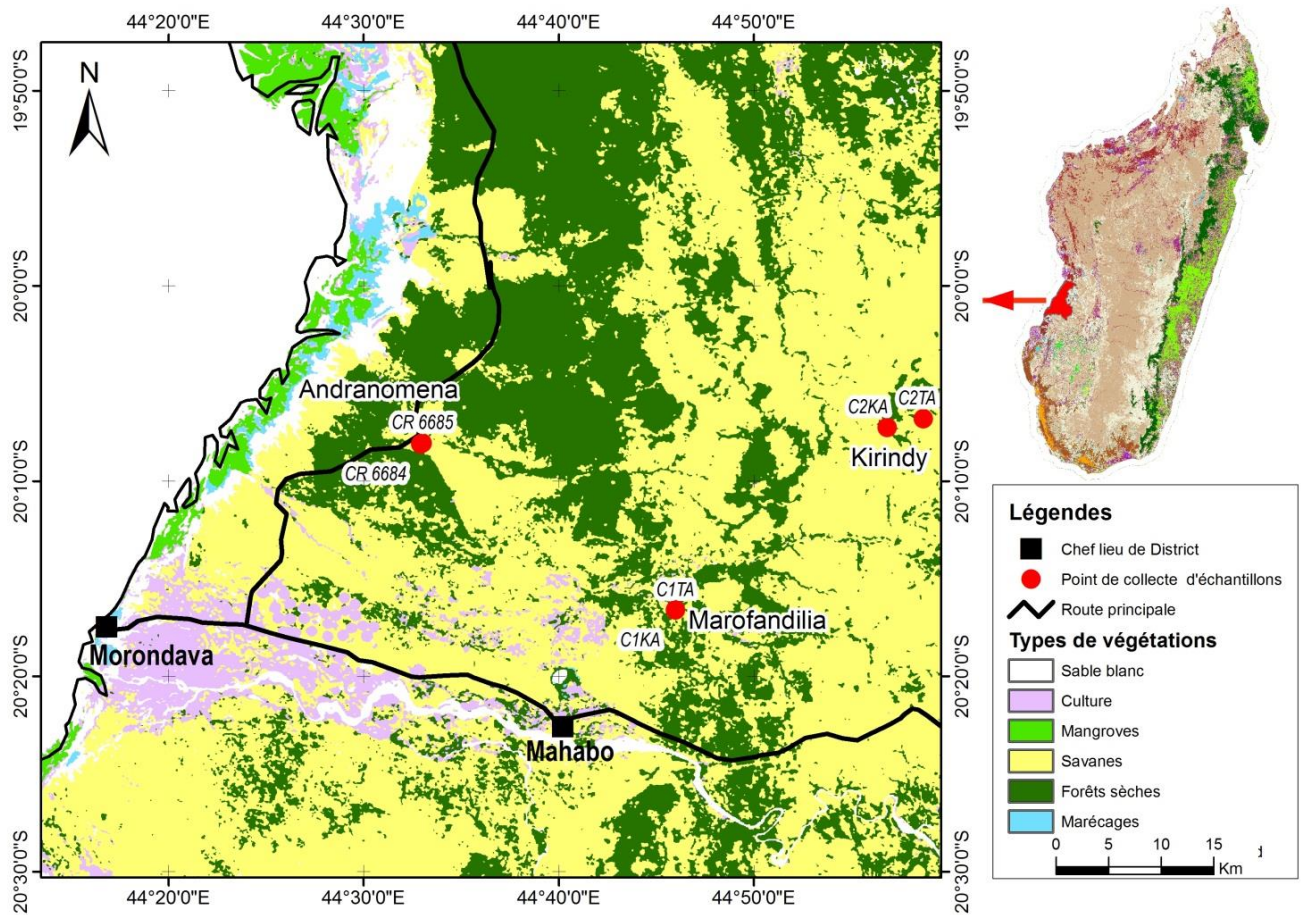


Figure 1: Diagramme ombrothermique de Morondava (2010-2015)



Source fond de carte : Atlas de la Végétation de Madagascar (Moat & Smith, 2007)

Carte 2: Localisation des sites d'étude

II-MATERIELS ET METHODES

II-1-Matériels d'étude

Deux espèces du genre *Cedrelopsis* ont été choisies pour cette étude : *Cedrelopsis grevei* Baillon et *Cedrelopsis microfoliolata* Leroy. Les principaux caractères de distinction des espèces étudiées sont résumés dans le tableau 1, page 5 (Schatz, 2001; Rabarison et *al.*, 2010 ; Rakotondrafara, 2010).

II-1-1-Collecte et préparation des échantillons

Des échantillons de micro-carottes du tronc de 6 x 6 x 6 cm (Planche 1, Photo 5; page 14) c'est-à-dire un bloc contenant l'écorce, le cambium et le bois des deux espèces cibles ont été collectés. Les micro-carottes ont été conservées dans des sachets plastiques contenant de l'alcool 30% sur le terrain (Planche 2, photo: 6; page 15) pour maintenir l'ensemble de la structure Ecorce-bois. Trois individus de chaque espèce ont fait l'objet de cette étude, collectés en 2013 et 2016 à Andranomena, Kirindy, Marofandilia. Les informations relatives à ces six individus sont données dans le tableau 3. La description macroscopique de l'écorce a été effectuée à partir de ces micro-carottes.

Tableau 3: Matériels d'études

Espèce	Code de l'échantillon	Circonférence (cm)	Site	Coordonnées géographiques
<i>Cedrelopsis grevei</i>	CR 6684	55	Andranomena	S 20° 08' 05,6 '' E 44° 32' 55 ,2''
	CR 6685	61	Andranomena	S 20° 08' 02,9'' E 44° 32' 59 ,6''
	C1KA	19	Marofandilia	S 20° 16' 36,2'' E 44° 45' 58,4''
	C2KA	21	Kirindy	S 20° 07' 15,6'' E 44° 56' 48,7''
<i>Cedrelopsis microfoliolata</i>	C1TA	17	Marofandilia	S 20° 16' 36,2'' E 44° 45' 58,4''
	C2TA	19	Kirindy	S 20° 06' 48,06'' E 44° 58' 41,28''

II-2-Méthodes d'étude anatomique

II-2-1- Etude macroscopique

II-2-2-1-Préparation

Le bloc de micro-carotte du tronc de 6 x 6 x 6 cm, contenant l'ensemble écorce – cambium - bois, est séché à l'air libre puis poncé avec des disques de ponçage à grains différents (50, 100, 120, 220, 320 et 400) (Planche 1 : photos 1 et 2 ; page 14)

II-2-2-2-Observation

La surface polie est observée à l'aide d'une loupe (DIGITAL caméra), 500X (Planche 1 : Photos 3 et 4 ; page 14). La coupe transversale est prise en photo. La couleur de chaque partie de l'écorce est notée. Les observations des différents tissus ont été visibles macroscopiquement.

II-2-2- Description microscopique

II-2-2-1-Confection des coupes

Un cube de 1cm³ a été prélevé à partir du bloc de micro-carotte de 6x6x6cm (Planche 2 : photo 7, page 15). Le cube a été mis dans un mélange d'alcool et de glycérine afin de le ramollir. Des coupes minces ont été effectuées à l'aide d'un microtome à glissière de type G.S.L. (Planche 2 : photo 8 ; page 15). Des coupes transversale, longitudinale radiale et longitudinale tangentielle ont été confectionnées. L'épaisseur varie entre 18 à 20µm. Les coupes fines ainsi obtenues ont été d'abord blanchies dans de l'eau de Javel à 10% pendant environ 20 à 40 minutes, puis rincées trois fois dans de l'eau distillée avant de passer 3 minutes dans l'acide acétique. Ensuite, elles ont été doublement colorées avec du Safranine O et de l'Alcian Blue (Schmitz, 2006) (Annexe 2, page 45) La coloration à la Safranine permet la mise en relief des cellules à parois lignifiées. L'intensité de la coloration rose (due au complexe Safranine-Lignine) est fonction de l'épaisseur des parois par suite de dépôt de lignine. Et ensuite déshydratées dans une série d'alcool à 50 %, 75 %, à 96 % et à 100 % (Annexe 3, page 45). Enfin, le montage entre lame et lamelle se fait dans l'Euparal. Les coupes sont ensuite séchées dans l'étuve à 56° pendant 2 à 3 jours.

II-2-2-2-Macération

Cette méthode est utilisée pour séparer les éléments de l'écorce dans le but de voir le type, la taille, la forme des cellules et de les mesurer. De petits morceaux de l'écorce auprès

de la zone cambiale ont été prélevés à partir de l'écorce préalablement préparés. Ils sont ensuite mis dans une solution contenant 5 parts d'acide acétique glacial 100%, 4parts d'eau distillée et une part d'eau oxygénée et mis dans l'étuve à 56 °C pendant 7jours environ. Quand les morceaux deviennent blanche, ils sont désagregés et la solution devient transparente, on procède au rinçage avec l'eau distillée, à la coloration avec du safranine O et au montage entre lame et lamelle avec de l'eau glycinée (Ruzin, 1999).

II-2-2-3-Observations, mesures et interprétations

Les observations ont été effectuées à l'aide d'un microscope optique OLYMPUS BX43. Les mesures ont été réalisées avec le logiciel « Image J » (Abramoff et *al.*, 2004). Toutes les mesures et les nombres sont présentés par la moyenne de trente mesures minimum.

Planche 1: Préparation de l'échantillon pour l'observation macroscopique



Photo 1 : Ponçage de la micro-carotte



Photo 2 : Polissage de la surface



Photo 3 : Loupe (DIGITAL camera, 200X)



Photo 4 : Observation macroscopique de l'échantillon avec le digital camera

Planche 2 : Préparation des échantillons et microtomie

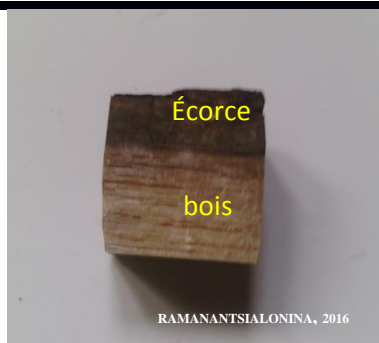


Photo 5 : Blocs constitués d'écorce, et de bois



Photo 6 : Blocs conservés dans de l'alcool 30 %



Photo 7 : Préparation des cubes de 1cm³ à la scierie



Photo 8: Confection des coupes au microtome de type G.S.L.

Les paramètres suivants ont été étudiés :

- En coupe transversale :
 - Identification des tissus
 - Mode d'arrangement de certains tissus
 - Forme des cellules
 - Epaisseur de l'écorce
 - Epaisseur de l'épiderme
 - Nombre de couches de cellules formant le périoderme
 - Diamètre tangentiel des tubes criblés
 - Diamètre tangentiel des fibres
 - Epaisseur de la paroi des fibres
 - Diamètre radial et tangentiel des vaisseaux
- En coupe longitudinale tangentielle :

- Type des rayons (unisériés ou multi sériés)
- Hauteur des rayons en μm
 - En coupe longitudinale radiale :
- Structure des rayons (homocellulaires ou hétérocellulaires)
- Type de crible des tubes criblés
 - Après macération :
- Longueur des fibres

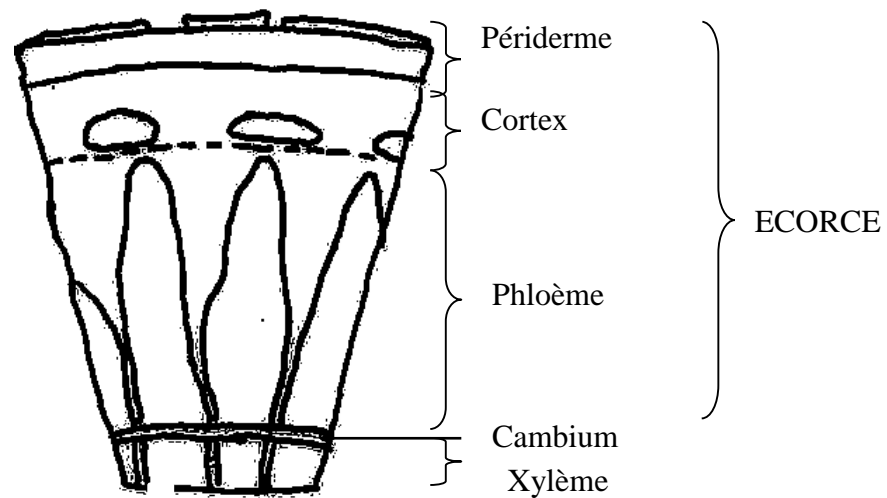


Figure 2 : Termes suggérés pour l'observation et interprétations des différentes zones de tissus dans l'écorce selon Trocnkenbrodt (1990)

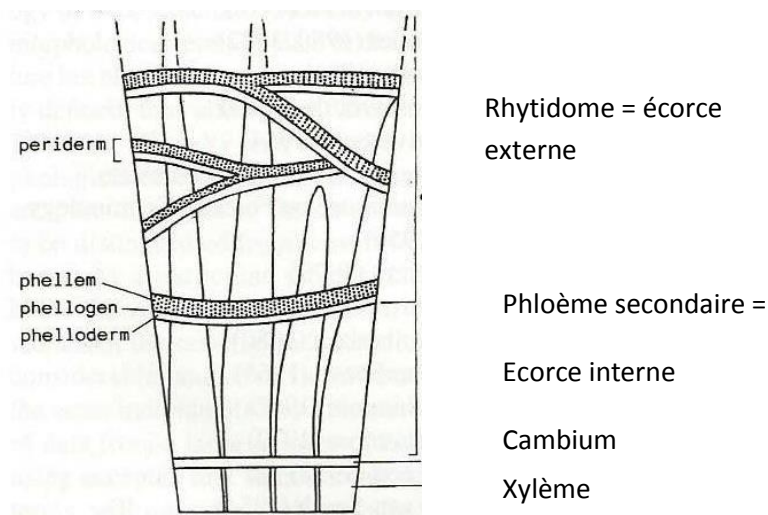


Figure 3 : Terme suggérés pour l'observation et interprétations des zones de tissus après une formation de rhytidome selon Junnika (1994) pour

II-2-2-4- Terminologie de l'écorce

Comme la terminologie internationale de l'écorce n'existe pas encore, les terminologies de quelques auteurs ont été utilisées dans cette étude :

* Wyatt-Smith 1954a proposé de considérer l'écorce externe : périderme et rhytidome comme mince s'il est inférieur à 2,5mm et épais s'il est supérieur à 6mm ; de même pour l'écorce vivante (cortex et phloème). Au total une écorce est considérée comme mince si l'épaisseur totale est inférieur à 5mm et épaisse si elle est supérieur à 12 mm ;

* Wheeler et *al.*, 1989 a été utilisé pour la mesure de la paroi et la longueur des fibres ;

* Junnika (1994), Crivellaro & Schweingruber (2015) pour mesurer l'écorce externe (périderme et rhytidome) ;

* Trockenbrodt (1994) pour mesurer l'écorce moyenne et l'écorce interne.

II-2-2-5-Analyse des données

Les paramètres usuels (minimum, moyenne, maximum) de statistique sont utilisés pour présenter les résultats. Des analyses de variance ANOVA ont été réalisées pour connaître s'il y a une différence significative entre les valeurs obtenues (longueur, diamètre, pourcentage)

Le seuil critique et au-delà duquel on observe la différence significative entre la moyenne est fixé et codé :

- La différence n'est pas significative (NS), si $p > 0,05$
- La différence est significative (S) si : $*p \leq 0,05$, $**p \leq 0,01$, $***p \leq 0,001$

II-2-3- Localisation anatomique des principes actifs

Des coupes fines en section transversale de *Cedrelopsis grevei* ont été confectionnées à partir de l'écorce du tronc et d'une jeune tige. Le réactif 2-4-Dinitrophénylhydrazine dans l'acide chlorhydrique HCL 0,1% a été utilisé pour détecter la présence de monoterpène et l'acide sulfurique concentré H_2SO_4 pour le sesquiterpène (Cappelletti et *al.* 1986, Christodoulakis et *al.* 2009). Deux à 3 gouttes de ces réactifs ont été séparément versées sur les coupes minces et laissées pendant 5mn. Le montage entre lame et lamelle est effectué avec de l'eau glycinée. Après 5mn, des variations de couleur des cellules sécrétrices sont observées : brun orangé pour la présence de monoterpène et brun vert pour le sesquiterpène

III-RESULTATS ET INTERPRETATIONS

III-1- Description macroscopique

L'écorce du genre *Cedrelopsis* a une surface de couleur grisâtre. Il est possible de distinguer macroscopiquement sur une section transversale les différentes parties de l'écorce de l'extérieur jusqu'à la zone cambiale grâce à la variation de couleurs (Planche 3 : Photos 9 et 10 ; page 20).

- Le périderme de couleur marron claire,
- Le cortex marron foncé,
- Le phloème II de couleur beige.

L'épaisseur moyenne de l'écorce totale des deux espèces étudiées est de 3 à 5 mm, constituée de périderme mince de 0,5 à 1 mm, de cortex très mince d'environ 0,5 mm et du phloème plus épais de 2 à 3,5 mm.

Le phloème II est caractérisé par une alternance de bandes de fibre chez toutes les espèces (Planche 3 : Photos 9, 10 ; page 20). Les canaux sécréteurs de couleur marron et jaunes sont bien visibles dans le cortex et le phloème chez *Cedrelopsis microfoliolata* (Planche 3 : Photo 10 ; page 20).

III-2-Description microscopique de l'écorce

De l'extérieur vers l'intérieur, l'écorce des 2 espèces présente une structure microscopique identique, constituée par trois parties (Planche 4 : Photo 11 et 12 ; page 22):

- L'écorce externe constituée par le périderme et le rhytidome ;
- L'écorce moyenne ou cortex ;
- L'écorce interne ou écorce vivante constituée par le phloème II qui est à son tour divisé en deux parties bien distinctes :
 - une partie oblitérée constituée par des tubes criblés accompagnés de cellules compagnes et quelques fois des cellules du parenchyme comprimées ;
 - une partie non oblitérée constituée par des cellules non comprimées.

Planche 3 : Vue macroscopique de l'écorce de *Cedrelopsis grevei* et *C. microfoliolata*

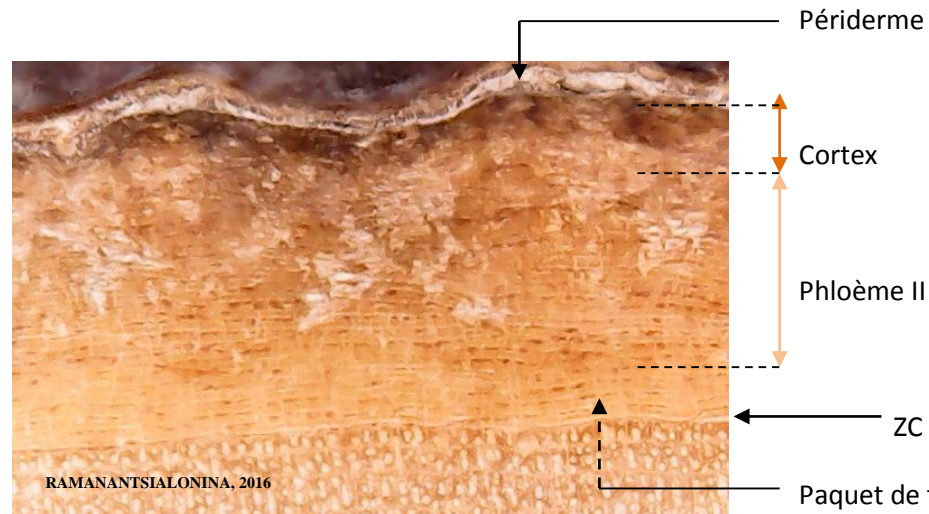


Photo 9 : Vue macroscopique de l'écorce de *Cedrelopsis grevei* (CT x 500)

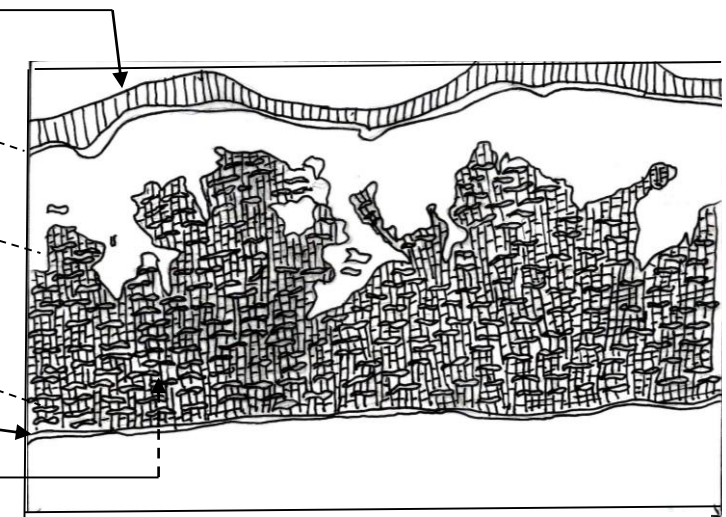


Figure 4 : Dessin d'une section transversale de l'écorce de *Cedrelopsis grevei* (CT x 500)

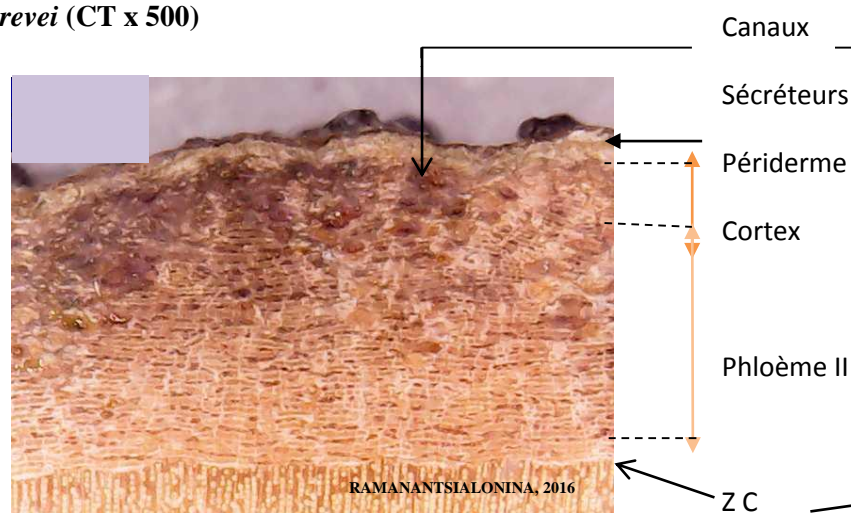


Photo 10: Vue macroscopique de l'écorce de *Cedrelopsis microfoliolata* (CT X 500)

ZC : Zone Cambiale

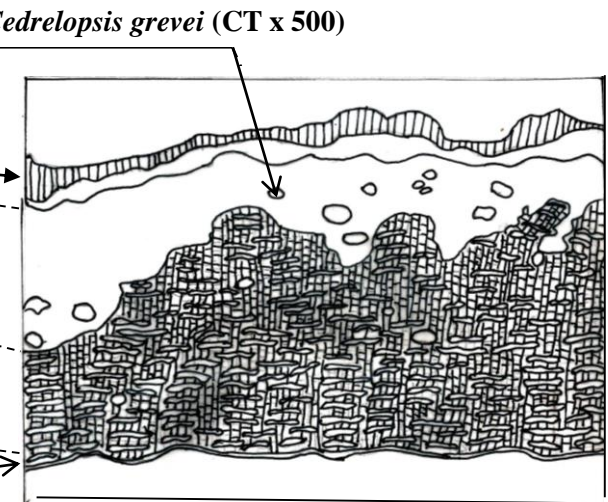


Figure 5 : Dessin d'une section transversale de l'écorce de *Cedrelopsis microfoliolata* (CT X 500)

Les mesures des différents tissus visibles de l'écorce sont résumées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Mesures des différentes parties de l'écorce des 2 espèces de *Cedrelopsis*

	CR6685	C6684	C1KA	C2KA	C1TA	C1TA
Rhytidome	1077,81	504,89	277,06	289,36	288,23	207,63
	18,85%	9,66%	9,48%	9,23%	9,61%	7,63%
Suber	259,27	120,51	103,60	137,38	62,26	99,84
(µm)	4,53%	2,30%	3,88%	4,38%	2,07%	3,66%
Phelloderme	89,74	46,71	69,73	60,57	35,62	33,91
(µm)	1,53%	0,89%	2,28%	1,93%	1,18%	1,24%
Cortex µm	1781,08	1968	1271,17	1076,90	871,10	711,95
	31,16%	37,66%	46,87%	34%	29,07%	26,16%
Phloème II	2956	2752,76	1372	1767,18	1837,14	1801,44
(µm)	51,72%	52,67%	43,52%	56,39%	61,31%	66,2%
Ecorce totale µm	5714,89	5225,65	2920,88	3133,44	2996,47	2721,01

Remarque : Le pourcentage de chaque partie de l'écorce est calculé par rapport à l'écorce totale de chaque individu.

L'épaisseur de l'écorce totale de *Cedrelopsis grevei* et *Cedrelopsis microfoliolata* est mince inférieure à 5 mm (2,72 à 3,31 mm) sauf sur l'individu CR 6684 et CR 6685 (5,26 à 5,71 mm). Leur rhytidome est aussi mince inférieur à 2,5 mm (0,02 mm à 1,07 mm) et l'écorce interne (cortex et phloème II) est épais supérieure à 2,5 mm (2,51 à 4,72 mm) pour tous les individus de *Cedrelopsis grevei* et *Cedrelopsis microfoliolata*.

III-2-1- Périderme et rhytidome

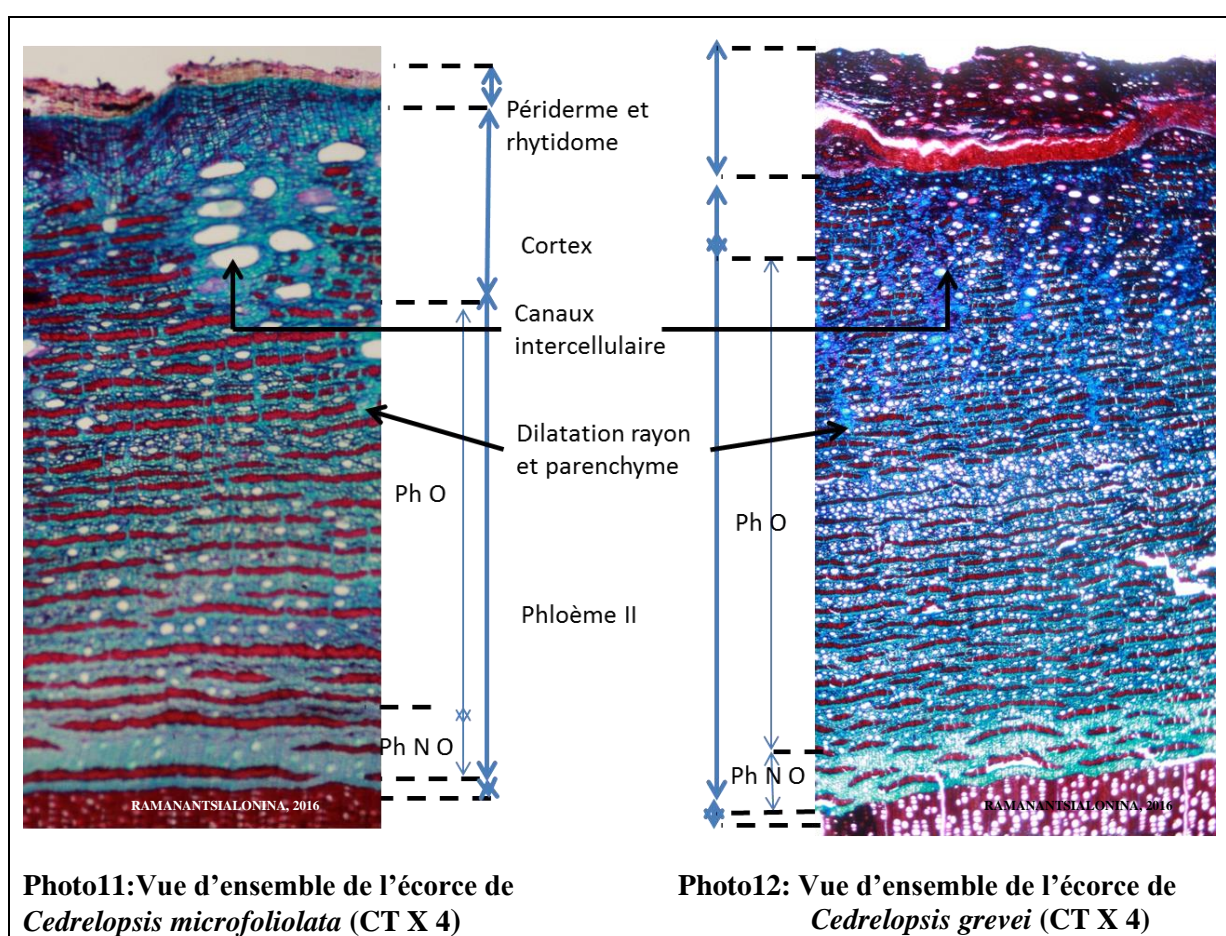
Le périderme est constitué de l'extérieur vers l'intérieur par le suber, le phellogène et le phelloderme. Chaque périderme ainsi produit est repoussé peu à peu vers l'extérieur et contribue à l'édification d'un rhytidome ou empilement en écailles. Le rhytidome présente des tissus suberifiés, très sclérifié et morte, le phelloderme est écrasé et en général et réduit en épaisseur ou même invisible. Le rhytidome de *Cedrelopsis grevei* est donc constitué par 3 couches de périderme alterné par des phloèmes oblitérés avec des groupes de sclerites. Il a une épaisseur moyenne de 537,28 µm (277,09 - 1077,81 µm) (Planche 5 : Photo 13, page 24) chez *C. grevei* et 247,9 µm (207,62 - 288,23 µm) (Planche 6 : Photo 14, page 25) chez *C. microfoliolata* (Tableau 4). *C. grevei* possède un périderme et un rhytidome plus épais que *C. microfoliolata*.

III-2-1-1- Suber

Des multicouches de suber sont observés, c'est-à-dire les couches du suber sont alternés par des couches de phloème oblitéré contenant parfois des sclerites (Planche 5 :

Photos 13, page 24). La première couche de périderme la plus interne est considérée pour la mesure du suber. Il est constitué de 8 à 18 couches de cellules chez *C. grevei* tandis que 6 à 14 couches de cellules rectangulaires, à paroi mince et subérisée chez *C. microfoliolata*. Il est constitué par des cellules de grande taille plus ou moins rectangulaires, à paroi mince et subérisée. Son épaisseur moyenne est de 120,84 μm (103,51 - 259,27 μm) et présente 2,30 à 4,53 % de l'écorce totale chez *C. grevei* et 81,05 μm (62,26 - 99,84 μm) soit 2,07 à 3,66 % de l'écorce totale chez *C. microfoliolata* (Tableau 4 ; page 21).

Planche 4 : Vue d'ensemble de l'écorce de *Cedrelopsis microfoliolata* et *C. grevei*



Ph O : Phloème Oblitéré, **Ph N O**:Phloème non oblitéré

III-2-1-2-Phellogène

Le phellogène n'est pas très distinct, il est comprimé entre le suber et le phelloderme chez les deux espèces. Il est formé par 1 à 2 couches de cellules.

III-2-1-3-Phelloderme

Le phelloderme est homogène chez les deux espèces. Il est formé par 5 à 8 couches de cellules chez *Cedrelopsis grevei* (Planche 5 : Photo 13) et 2 à 5 couches chez *C. microfoliolata* (Planche 6 : Photo 14). Il est constitué par des cellules rectangulaires plus petites que les cellules du suber, à paroi mince et de nature cellulosique avec une épaisseur moyenne de 66,68 μm (46,7-89,74 μm) et présente 0,89 à 2,28% de l'écorce totale chez *C. grevei* et 34,76 μm (35,62 - 33,91 μm) chez *C. microfoliolata* soit 1,18 à 1,24 % de l'écorce totale (Tableau 4, page 21). En général, le suber est plus épais que le phelloderme chez les deux espèces. Une différence significative est constatée au niveau des individus, l'individu CR 6685 a une épaisseur de 259,27 μm nettement supérieure par rapport aux restes des individus aux alentours de 100 μm . L'épaisseur du phelloderme n'a pas de différence significative pour les deux espèces (Figure 6).

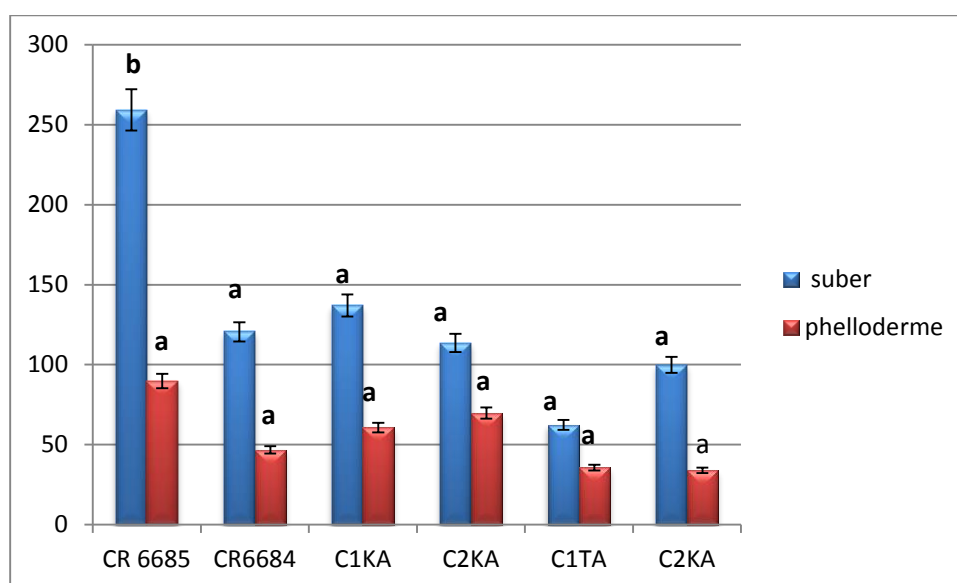
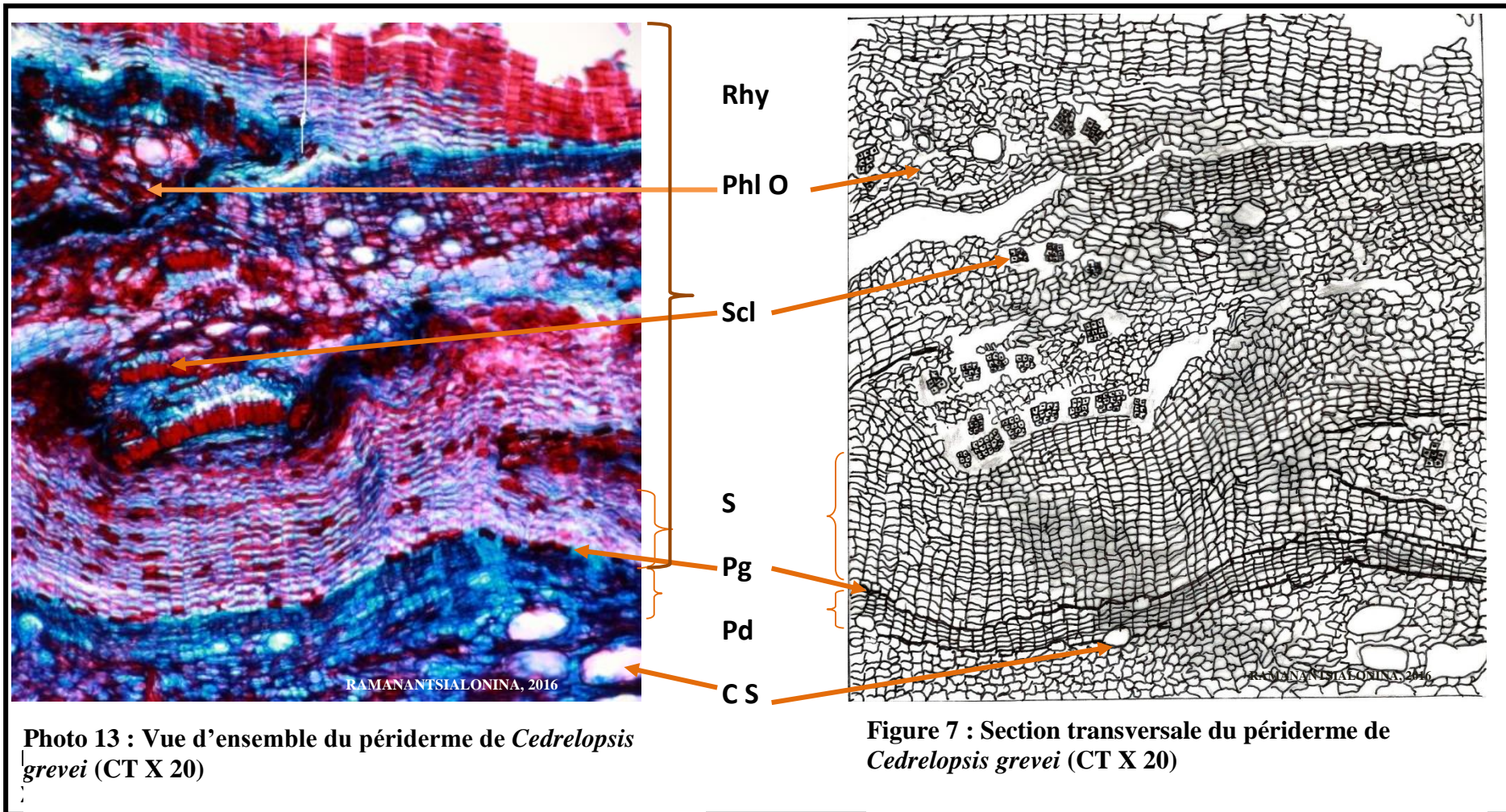


Figure 6 : Comparaison de l'épaisseur du suber et du phelloderme de l'écorce *Cedrelopsis grevei* et *C. microfoliolata*

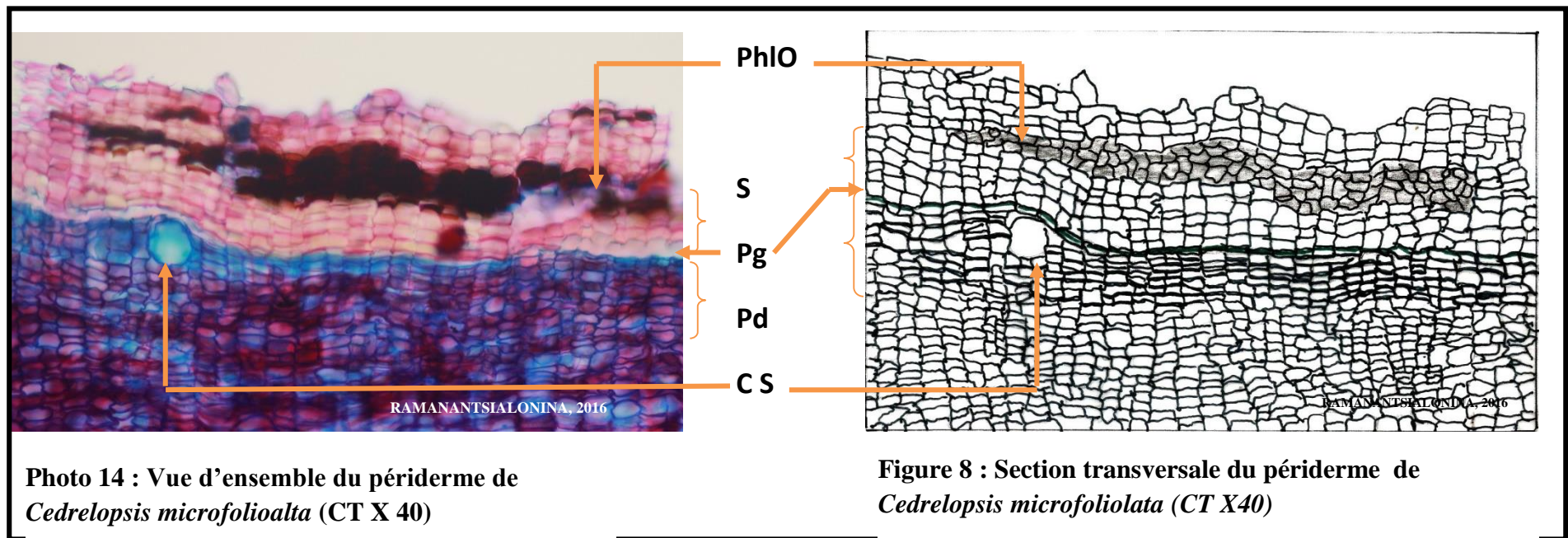
Remarque : Les petites lettres identiques indiquent les individus n'ayant pas de différence significative de l'épaisseur du suber et du phelloderme d'après l'analyse de variance.

Planche 5: Photo et figure mettant en évidence le périoderme et le rhytidome de *Cedrelopsis grevei*



Rhy: rhytidome, **Phl O**: phloem oblitéré, **Scl**: sclérite, **S**: suber, **Pg**: phellogène, **Pd**: phelloderme, **C S**: canaux sécréteurs

Planche 6 : Photo et figure mettant en évidence le périderme et le rhytidome de *Cedrelopsis microfoliolata*

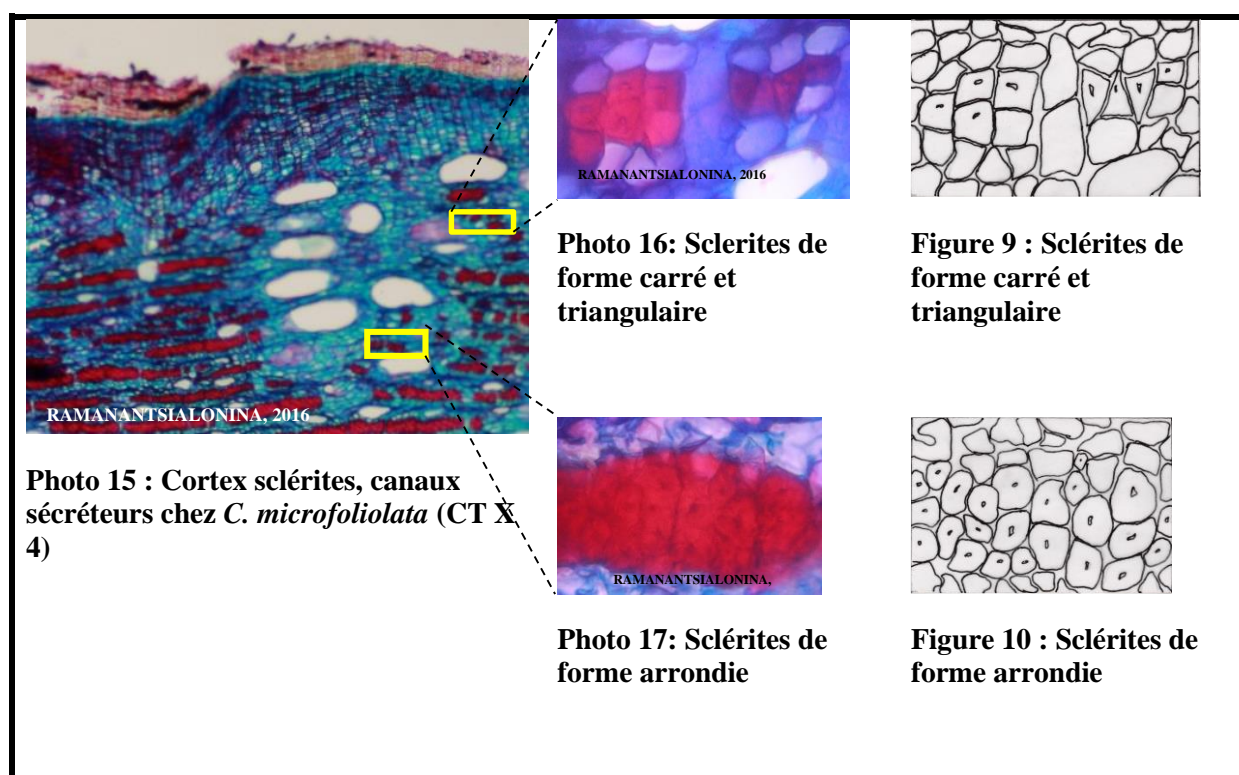


Rhy: rhytidome, Phl O: phloème oblitéré, S: suber, Pg: phellogène, Pd: phelloderme, CS: canaux sécréteurs

III-2-2- Cortex

Le cortex désigne la partie entre le périderme et le phloème secondaire (Planche 4 : Photos 11, 12, page 22). Il est dominé par des tissus parenchymateux avec des cellules de forme arrondie et ovale. Des sclérites groupés sont observés dans le cortex et ils sont dispersés irrégulièrement. Ils ont des formes triangulaires, carrées et arrondies (Planche 7 : Photos 16,17), et à paroi polylamellaire. Certaines cellules de parenchymes sont en cours de sclérification. L'élargissement des rayons sont observés et sont constitués des cellules parenchymateuses. Des canaux sécréteurs sont présents dans le cortex (Planche 7 : Photos 15). Le cortex a une épaisseur moyenne de 1722,06µm (1372 – 1968µm) chez *Cedrelopsis grevei* et 791,52 µm (711,95 - 871,10 µm) chez *C. microfoliolata*. La proportion du cortex dans tous les individus a été comparée. *Cedrelopsis grevei* présente 34 à 46,87% de l'écorce totale et chez *C. microfoliolata* 26,16 à 29,07 % (Tableau 4 ; page 21).

Planche 7: Photos illustrant la vue d'ensemble du cortex et des différentes formes de sclérite



III-2-3- Phloème II

Le phloème II désigne la partie entre le cambium et le cortex (Planche 4 : Photos 11 et 12, page 22). Il est constitué par le phloème non oblitéré fonctionnel et le phloème oblitéré non fonctionnel (Planche 8 : Photo 18, page 28). Le phloème non-oblitéré est visiblement formé par des tubes criblés, des cellules compagnes, des cellules de parenchyme, des fibres phloémiennes (Planche 8 : Photo 19, page 28) et des rayons tandis que le phloème oblitéré présente des cellules comprimées et non différenciées (Planche 8 : Photo 20, page 28). L'épaisseur du phloème secondaire *Cedrelopsis grevei* varie entre 1372 à 2752,76 µm et 1801,44 à 1837,40µm pour *C. microfoliolata*.

La proportion de phloème II chez les individus a été comparée. En général, la proportion de phloème II est plus élevée dans toute l'écorce. *Cedrelopsis microfoliolata* présente 63,13 à 67,48 %) de l'écorce totale et chez *Cedrelopsis grevei* de 37,31 à 60,10 % (tableau 4, page 21).

III-2-3-1- Tubes criblés

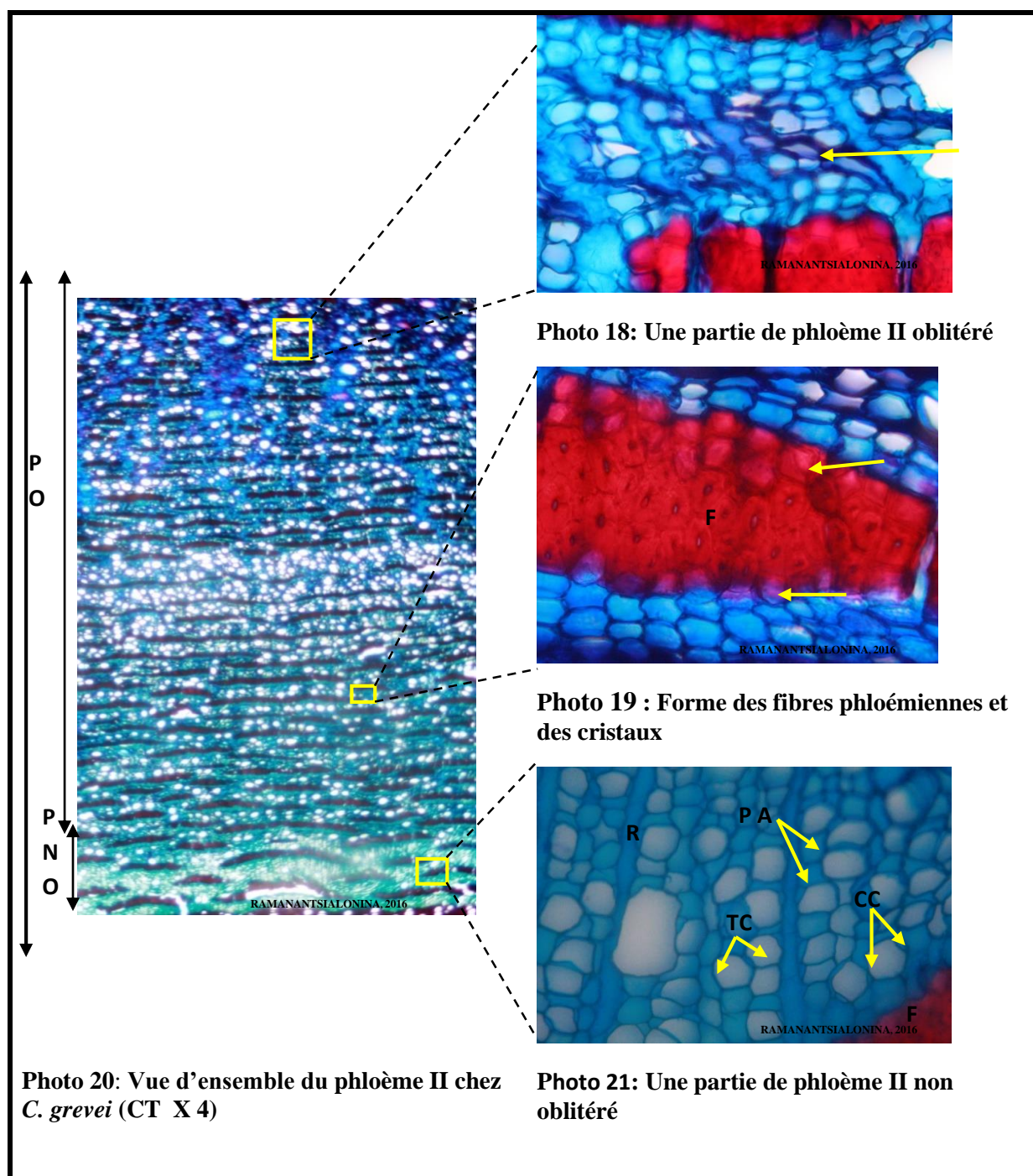
Les tubes criblés sont des cellules vivantes, de forme polygonale à arrondie en coupe transversale, à paroi cellulosique. Ils ont un diamètre moyen de 30,82µm (13,57-48,08µm) chez *C. grevei* et 18,7 µm (9,67-27,73 µm) chez *C. microfoliolata*. Chaque élément du tube criblé est associé à une ou deux petites cellules compagnes. Ces dernières sont des cellules vivantes à parois mince et ont une forme plus ou moins triangulaire en coupes transversale (Planche 8 : Photo 19 ; page 28)

III-2-3-2- Fibres phloémiennes

Le diamètre moyen des fibres est de 15,84 µm (5,52 - 23,65 µm) pour *C. grevei* et 14,55 µm (11,77-19,07 µm) pour *C. microfoliolata*. La longueur moyenne des fibres est 779,89 µm (474,57 - 1491,64 µm) pour *C. grevei* et 803,31µm (456,23-1024,62µm) pour *C. microfoliolata*. L'épaisseur moyenne de la paroi des fibres phloémiennes est de 6,92 µm (3,7 - 11,12 µm) pour *C. grevei* et 7,95µm (3,42- 12,55 µm) pour *C. microfoliolata*. Certaines fibres sont pourvues des cristaux prismatiques (Planche 8 : Photo 20, page 28).

La paroi de la fibre est moyenne chez les 2 espèces, c'est-à-dire le lumen de la fibre est inférieur à trois fois l'épaisseur de la double paroi et est distinctement ouvert. D'après les analyses, aucune différence significative n'a été observée entre les diamètres des fibres des individus pour les deux espèces (Figure 11 ; page 29).

Planche 8 : Photos illustrant le phloème II



R : Rayons ; **F** : Fibres phloémiennes ; **CC** : Cellules Compagnes ; **TC** : Tubes criblés ; **PA** : Parenchymes axiaux ; **PNO** : Phloème II non oblitéré ; **PO** : Phloème II oblitéré.

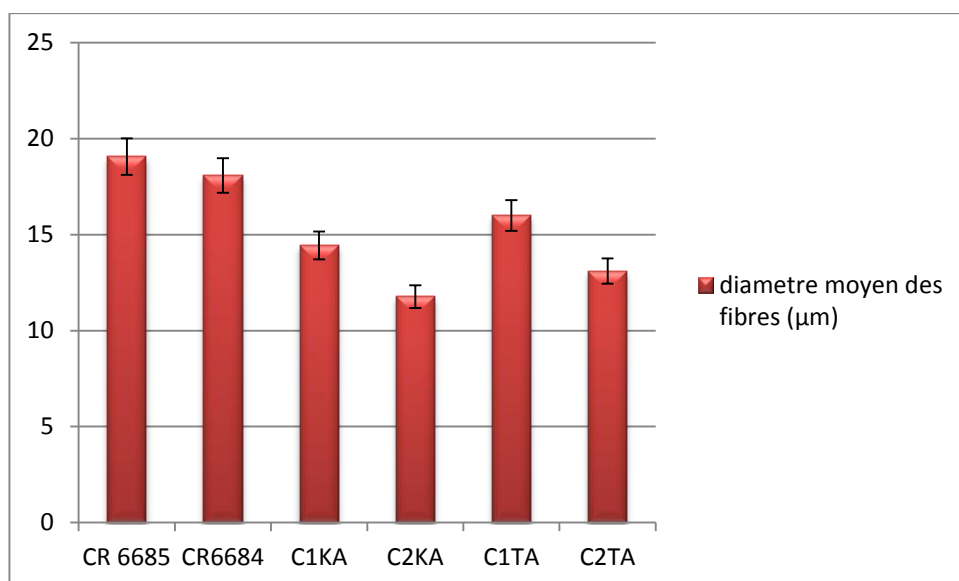


Figure 11 : Comparaison des diamètres des fibres du phloème II de l'écorce

I-2-3-3-Parenchyme

Selon la structure des cellules de parenchyme, on distingue : le parenchyme vertical ou parenchyme axial: cellules disposées en files longitudinales parallèles aux éléments conducteurs secondaires, tissu d'origine primaire.

a- Parenchymes axiaux

Dans le phloème II non oblitéré, les cellules de parenchymes phloémiens sont alignées verticalement, autres que les cellules compagnes qui sont appelées parenchymes axiaux (Planche 8 : Photo 19, page 28 et Planche 9 : Photo 22, page 31). La distribution du parenchyme axial peut être variée: parenchyme axial mélangé avec le tube criblé dans le phloème II non oblitéré (Planche 8 : Photo 19, page 26) et en bande tangentiel au niveau du phloème oblitéré (Planche 8 : Photo 20, page 28). Les parenchymes axiaux sont arrondis à rectangulaires en coupe transversale et à parois mince. Vers la partiedu phloème II oblitéré, ces cellules s'élargissent et se dilatent.

b- Rayons phloémiens

Les cellules de rayons sont de petites tailles avec une hauteur moyenne de 121,41 μm (45,64 -187,69 μm) chez *Cedrelopsis grevei* et 135 μm (47,5-220,49 μm) chez *C. microfoliolata*. Ils sont unisériés et bisériés avec prédominance des rayons unisériés (Planche 9 : Photo 22, page 31). Le nombre de cellules suivant la hauteur des rayons est de 4 à 18 chez les deux espèces. Ils sont homogènes (Planche 9 : Photo 24, page 31), composés seulement des cellules couchées chez *C. grevei* tandis qu'ils sont hétérocellulaires, composés de cellules couchées et carrées chez *C. microfoliolata* (Planche 9 : Photo 25, page 31)

III-2-4- Cambium

La zone cambiale est constituée par des cellules de forme rectangulaire, à paroi mince et de nature cellulosique. Elle est formée de 3 à 9 couches de cellule chez *C. grevei* et 3 à 5 chez *C. microfoliolata* (Planche 10 : Photos 28, 29, page 32). Cette différence en nombre peut être expliquée par la saison pendant laquelle l'échantillon a été collecté. Comme le nombre des cellules cambiales est influencé par les précipitations, les individus CR 6684 et CR 6685 ayant 5 à 9 cellules, ont été collectés pendant la saison de pluie tandis que les individus restants ayant 3 à 5 cellules pendant la saison sèche (Figure 1, page 9).

III-2-5- Canaux sécréteurs

Les canaux sécréteurs sont observés dans le phloème II oblitéré et le cortex. Ils sont beaucoup plus nombreux et plus grands au niveau du cortex qu'au niveau phloème II. Ils sont entourés par des cellules parenchymateuses. Le diamètre moyen des canaux sécréteurs de *C. grevei* est de 112,47 μm (20,17 - 231,81 μm), plus petit que chez *C. microfoliolata* 135,75 μm (51,9-252,81 μm) (Planche 10 : Photos 30 et 31, page 32).

III-2-6-Cristaux

L'écorce de *Cedrelopsis grevei* et *C. microfoliolata* contient des cristaux prismatiques (Planche 8 : Photo 21, page 28). Ces derniers se rencontrent au niveau des parenchymes du phloème II. Ainsi, ils entourent les fibres phloémiennes en section transversale (Planche 8 : Photo 21). Des cellules parenchymateuses cristallisantes sont observées après macération (Planche 10 : Photo 32, page 32).

Planche 9 : Photos mettant en évidences les Parenchymes et les rayons

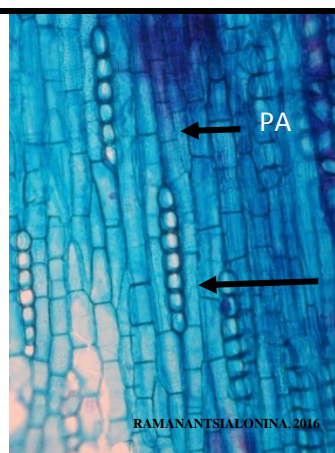


Photo 22 : Rayons unisériés chez *C. Grevei* (CLTg X 20)

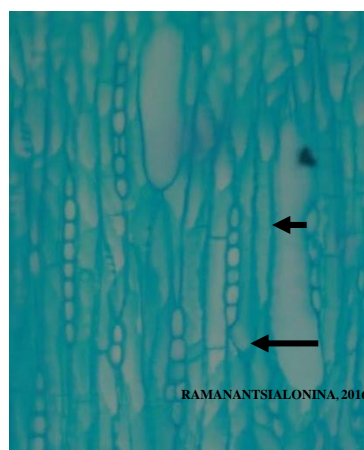


Photo 23 : Rayons unisériés(a) et bisériés (b) chez *C. microfoliolata* (CLTg X 20)

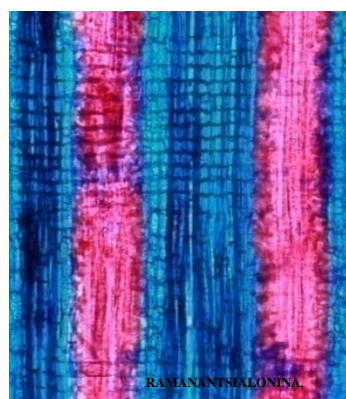


Photo 24 : Rayons homocellulaires chez *C. grevei* (CLR X20)

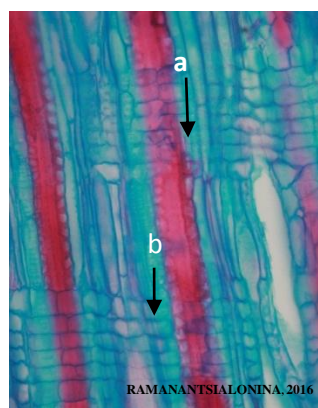


Photo 25 : Rayons hétérocellulaires : cellules carrées (a) et couchées (b) chez *C. microfoliolata* (CLR X 20)

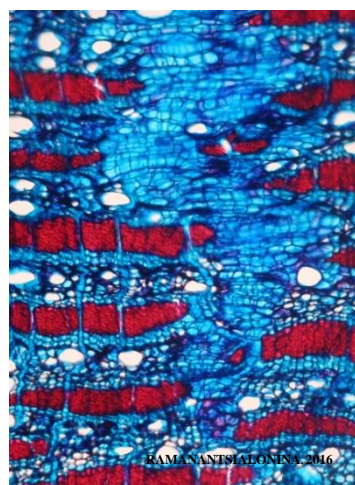


Photo 26 : Dilatation des rayons et parenchyme en section transversale (CT X 20)

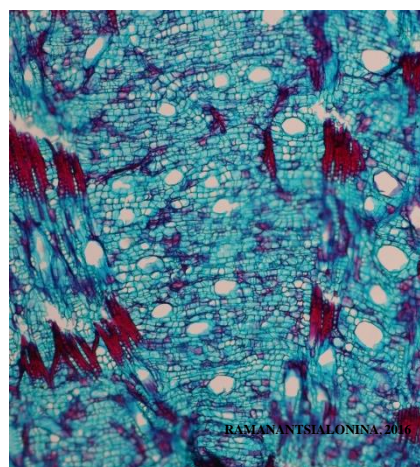


Photo 27 : Dilatation des rayons et parenchyme en section longitudinale (CLTg X 20)

Planche 10 : Photos mettant en évidences les zones cambiales, canaux sécréteurs et cristaux

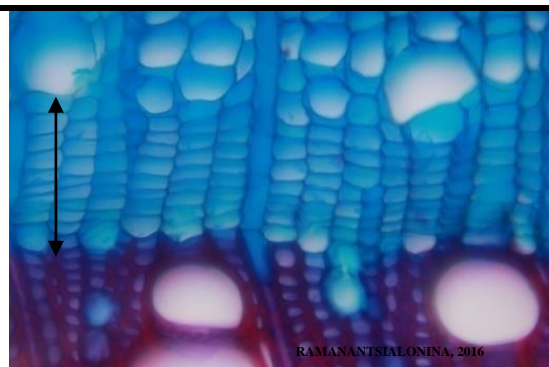


Photo 28: Zone cambiale chez *C. grevei* (CT X 100)



Photo 29: Zone cambiale chez *C. microfoliolata* (CT X 100)

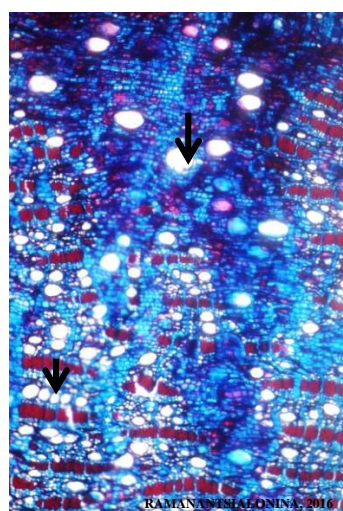


Photo 30 : Canaux sécréteurs chez *C. grevei* (CT X 20)

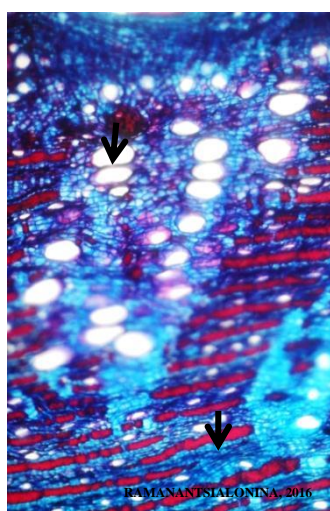


Photo 31: Canaux sécréteurs chez *C. microfoliolata* (CT X 20)

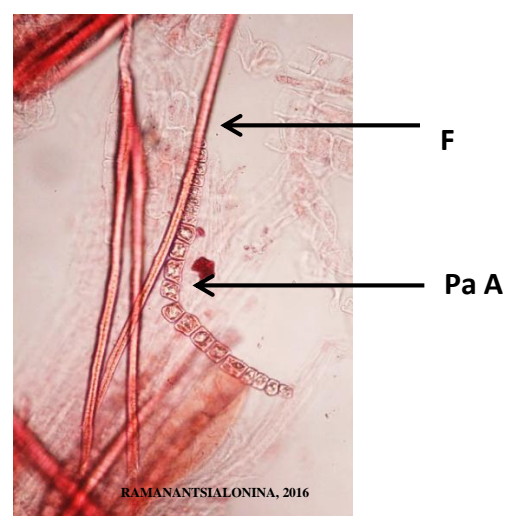


Photo 32: Cristaux dans les parenchymes axiaux (Pa A) et fibre (F)

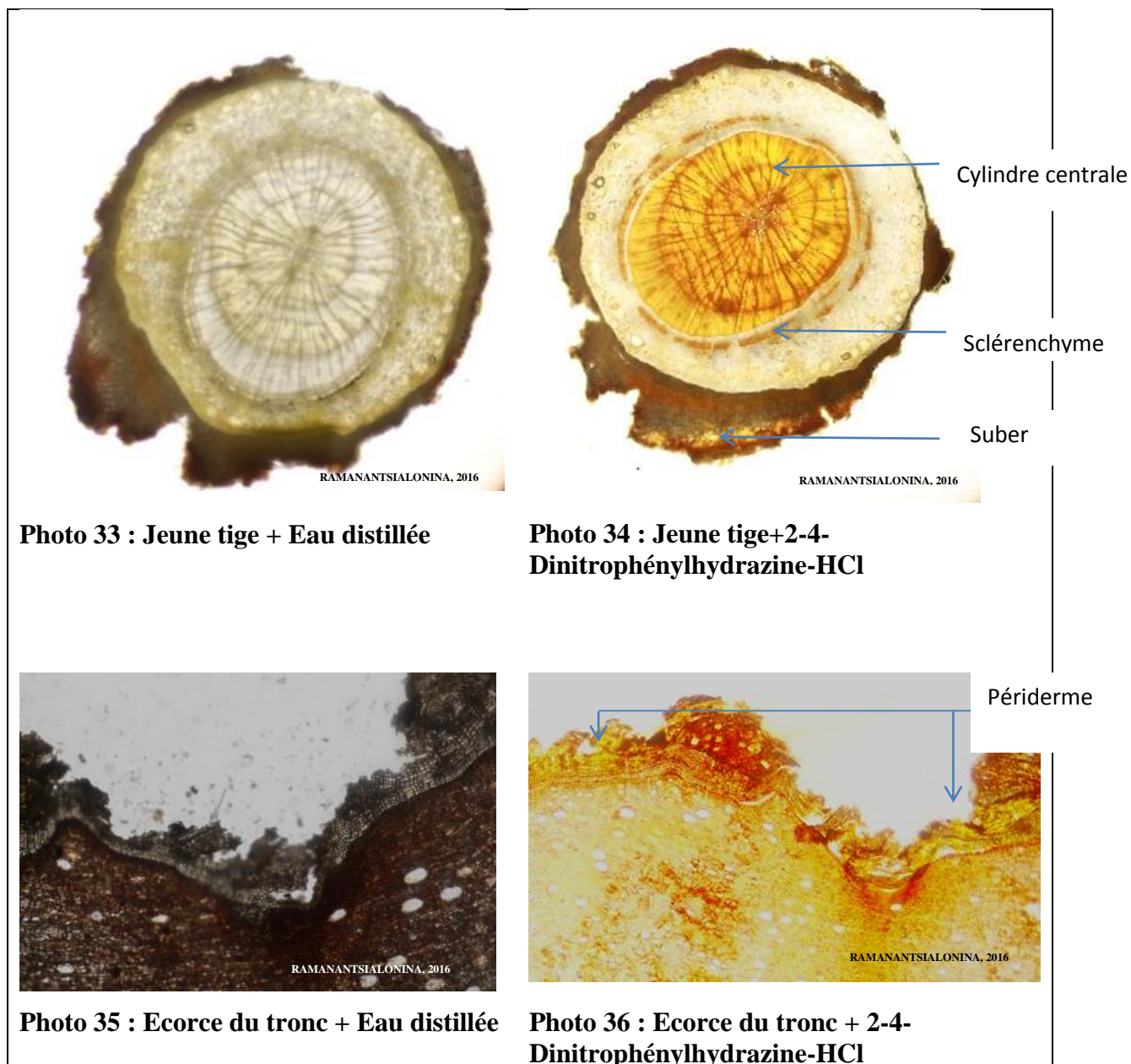
III-3- Localisation anatomique des principes actifs

Deux espèces de *Cedrelopsis* ont été étudiées lors de cette étude : *Cedrelopsis grevei* et *C. microfoliolata* mais seule *Cedrelopsis grevei* a fait l'objet d'analyse dans cette partie. Parmi les huit espèces du genre, *Cedrelopsis grevei* est l'espèce la plus exploitée et fortement recherchée pour son écorce. Les études antérieures ont montré la présence des principes actifs qui sont principalement des monoterpènes et des sesquiterpènes dans les feuilles, la tige et l'écorce. Le monoterpène et le sesquiterpène sont des composés terpeniques classés comme hydrocarbures naturels, qui lui confèrent des activités thérapeutiques.

Pour savoir dans quels tissus ou canaux sécréteurs sont produits ces principes actifs, les changements de couleurs en brune orangé indique la présence de monoterpène et en brune vert pour sesquiterpène. Les analyses ont été effectuées à deux niveaux : sur une jeune tige et sur une écorce du tronc.

Les résultats sur la jeune tige ont révélé la présence de monoterpène dans le cylindre central et au suber tandis que le sesquiterpène dans le sclérenchyme seulement. (Planches 11 et 12 : Photos 34 et 38; pages 34 et 35). Il est à noter que le monoterpène est responsable de la propriété odoriférante de l'espèce. Sur l'écorce du tronc, le monoterpène se trouve uniquement dans le périderme tandis que le sesquiterpène se trouve aussi bien dans le périderme que dans les canaux sécréteurs (Planches 11 et 12 : Photos 36 et 40 ; pages 34 et 35)

Planche 11 : Localisation de monoterpène colorée en brun orangé dans *Cedrelopsis grevei*



Présence de monoterpène

Planche 12 : Localisation de sesquiterpène colorée en brun vert dans *Cedrelopsis grevei*



Photo 37 : Jeune tige + Eau distillée

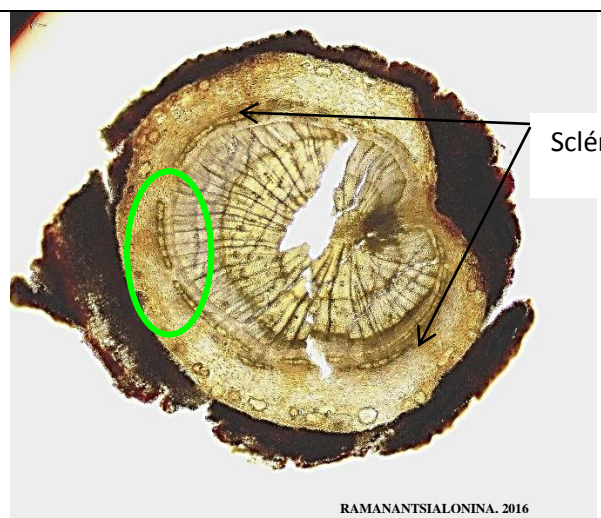


Photo 38 : Jeune tige + H₂SO₄

Sclérenchymes



Photo 39 : Ecorce du tronc + Eau distillée

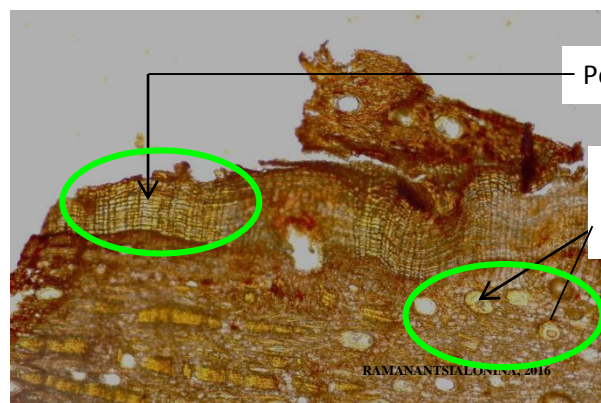


Photo 40 : Ecorce du tronc + H₂SO₄

Périderme

Canaux
sécréteurs



Présence de sesquiterpène

IV-DISCUSSIONS

Le genre *Cedrelopsis* a été récemment classé dans la famille des Rutaceae après des analyses moléculaires. D'après les études de Crivellaro et Shweingruber (2015), les espèces de cette famille telles que *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium*, *Citrus limon* et *Ruta chalepensis* présentent des groupes de fibre arrangés tangentielllement, des cristaux prismatiques et des canaux sécréteurs au niveau du cortex et du phloème II. Les mêmes caractéristiques sont observées dans l'écorce des deux espèces de *Cedrelopsis* étudiées permettant ainsi de confirmer l'appartenance de ces espèces à la famille des Rutaceae.

L'étude anatomique du bois effectuée par Ravaoherinavalona (2011) a révélé que toutes les espèces de *Cedrelopsis* présentent des rayons exclusivement unisériés et homocellulaires. Toutefois, les résultats obtenus sur l'étude anatomique de l'écorce lors de cette étude ont révélé la présence des rayons unisériés et bisériés et le type de rayon est hétérocellulaire, constitué des cellules couchées et dressées chez *Cedrelopsis microfoliolata*.

Les composés chimiques, les monoterpènes et les sesquiterpènes sont présents dans l'écorce de *Cedrelopsis* (Gauvin, 2004 ; Rakotobe, 2013 et Andrianoelisoa, 2013). Les taux des composés chimiques enregistrés sont différents dans l'écorce du tronc et dans la jeune tige. Premièrement au niveau de l'écorce du tronc, Andrianoelisoa, 2013 a observé que le taux de monoterpène est faible de l'ordre de 3,6 à 3,8 %. D'après cette étude, ce faible taux de monoterpène s'explique par la seule localisation de ce composé chimique observé uniquement au niveau du périoderme. Pourtant, une teneur élevée de 39,2 à 50,4 % est observée quant au sesquiterpène par le même auteur du fait que ce dernier se trouve à la fois au niveau du périoderme et des canaux sécréteurs (Planches 11 et 12 : Photo 38 et 40). Deuxièmement, la jeune tige, le sesquiterpène présente un taux de 26,2 à 48,4 %, plus élevé que le monoterpène 12 à 16,9 %. Anatomiquement, le monoterpène se trouve dans le bois et le sesquiterpène dans le sclérenchyme (Planches 11 et 12 : Photos 34 et 38).

V-CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail, les objectifs de décrire les caractéristiques anatomiques de l'écorce du tronc, de déterminer les tissus sécréteurs et de comparer les structures anatomiques des deux espèces cibles, ont été atteints. Les deux hypothèses fixées au début ont été vérifiées : une différence anatomique existe entre les deux espèces appartenant au même genre *Cedrelopsis* et les deux espèces étudiées présentent des canaux sécréteurs contenant les principes actifs.

L'étude macroscopique nous a permis de distinguer les différents tissus visibles par leur couleur. L'anatomie de l'écorce du tronc nous a permis d'identifier une structure commune et/ou propre à chaque espèce. En général, l'écorce du genre *Cedrelopsis* est constituée par trois parties: le périderme et rhytidome, le cortex et le phloème secondaire. Le rhytidome est formé par deux à trois couches de péridermes alternés avec des phloèmes II oblitérés. Le cortex est dominé par la présence des tissus parenchymateux et des sclérites. Le phloème II est divisé en deux : une partie oblitérée et une non oblitérée qui est constituée par des cellules de parenchymes, des fibres, des rayons et des tubes criblés. Les cristaux sont trouvés autour des fibres et des sclérites. Des canaux sécréteurs sont présents au niveau du cortex et du phloème II. Le monoterpène se trouve uniquement dans le périderme tandis que le sesquiterpène se trouve aussi bien dans le périderme que dans les canaux sécréteurs.

Tout comme la plupart des Produits Forestiers non ligneux (PFNL), la surexploitation de *Cedrelopsis*, provient du fait que l'écorce est exploitée sans une connaissance appropriée d'une part de la technique d'écorçage qui permet la survie de l'arbre et d'autre part du temps nécessaire à la cicatrisation de l'écorce avant qu'un deuxième prélèvement puisse être effectué. De ce fait, une étude approfondie sur le mécanisme de régénération de l'écorce de *Cedrelopsis* s'avère nécessaire pour assurer la gestion durable de la filière.

Les plantes médicinales comme *Cedrelopsis* offrent un intérêt primordial aussi bien au niveau du village pour les soins de santé primaire, qu'à un niveau international par le biais de la recherche de principes actifs qui rentrent dans la composition de nombreux médicaments.

L'importance économique et l'augmentation sans cesse de la demande sur le marché international de cette espèce nous a obligé à vouloir mieux la connaître biologiquement.

VI-REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABRAMOFF, M. D., MAGELHAES, P. J., & RAMS, J. 2004.** Image processing with Image J. *Biophotonics International* 11: 36- 42.
- APG. 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161 (2), pp;105-121
- ANDRIANOELISOA, H. 2013.** La valorisation et l'exploitation non destructive des écorces de *Cedrelopsis grevei*. Madagascar. 8p. CIRAD-000933941.
- BAILLON, H. 1893.** Grandidier Hist. Phys. Madagascar 34: Atlas 2, 257p.
- BOTSALAHY, J. L. 2007.** Valorisation des plantes médicinales. Mémoire de master I. Université de Mahajanga Valorisation de la biodiversité végétale. 46p.
- CAPPELLETTI, E. M., CARIATO & APPENDINO, G. 1986.** Localization of cytotoxic hydroperoxy-eudesmanolides. *Biochemical Systematics and Ecology*: 14, 183-190.
- CAVALLI, J. F., TOMI, F., BERNARDINI, A. F., CASANOVA, J. 2003.** Composition and chemical variability of the bark oil of *Cedrelopsis grevei* H. Baillon from Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal* 18, 532-538.
- CAZAN-BETRET, N. 2013.** Prise en charge des douleurs articulaire par aromathérapie et Phytothérapie. Thèse. Univ Toulouse III Paul SABATIER. 195p
- CHRISTODOULAKIS, N. S, LAMPRI, P. N., & FANEAS, C. 2009.** Structural and cytochemical investigation on the leaf of silver leaf night shades (*Solanum eleagnifolium*) a drought resistant alien weed of the Greek Flora. *Aust. J. bot.* 57, 432-438.
- CRIVELLARO, A. & SCHWEINGRUBER, F. H. 2013.** Atlas of wood, bark and pith anatomy of eastern Mediterranean trees and shrubs .Special focus on Cyprus. 583p.
- DELVAUX, C., SINSIN, B., DARCHAMBEAU, F., & VAN DAMME, P. 2009.** Recovery from bark harvesting of 12 medicinal tree species in Benin, West Africa. *Journal of Applied Ecology* 46: 703-12.
- GAUVIN, A., RAVAOMANARIVO, B. H., & SMADJA, J. 2004.** Comparative analysis by gas chromatography-mass spectrometry of the essential oils from bark and leaves of *Cedrelopsis grevei* Baillon, an aromatic and medicinal plant from Madagascar. *Journal of Chromatography A*, 1029, 279-282
- JUNIKKA, L. 1994.** Survey of English macroscopic bark terminology. *IAWA journal* 15: 3-45.

- MOAT, J. & SMITH, P. 2007.** Atlas of the vegetation of Madagascar, Kew publishing.
- Harper, G. J., Steininger, M. K., Tucker, C., Juhn, D. & Hawkins, F. 2007. Fifty years of deforestation and forest fragmentation in Madagascar, *Environmental Conservation*, 34 (4): 325-333.
- PENNIGTON, T.D. & STYLES, B.T.; 1975.** A generic monograph of the Meliaceae. *Blumea* 22: 419 – 540.
- RABARISON, H., RAKOTONDRAFARA, A., RAZAFIMANDIMBISON, S. G., RAKOTONANDRASANA, S. R., RAJERARISON, C., & RANDRIANARIVELO, M. 2010.** *Ecologie de Cedrelopsis ou Katrafay, plantes à usage multiples de Madagascar*. 41p.
- RABARISON, H., RAKOTONDRAFARA, A., RAZAFIMANDIMBISON, S. G., RAKOTONANDRASANA, S. R., RAJERARISON, C., & RANDRIANARIVELO, M. 2013.** Evaluation du risqué extinction des *Cedrelopsis* (Rutaceae) de Madagascar. *Scripta Botanica & Belgica* 50 :41- 49.
- RAKOTONDRAFARA, A. 2010.** *Etude écologique, ethnobotanique et évaluation des statuts des huit espèces du genre Cedrelopsis endémique de Madagascar (RUTACEAE)*. Mémoire de DEA. Ecologie Végétale. Université d'Antananarivo. 99p.
- RAKOTOBE, M., MENUT, C., ANDRIANOELISOA, H. S., RAHAJANIRINA, V., CHANTELPERRON, P., ROGER, E., & DANTHU, P. 2008.** The bark essential oil composition and chemotaxonomical appraisal of *Cedrelopsis grevei* H. Baillon from Madagascar. *Natural Product Communication* 3(7):1145-1150.
- RAIVOARISOA, M. J. F, 1999.** *Etude de l'espèce Cedrelopsis grevei H. Baillon dans la région Morondava : biologie, écologie, régénération naturelle et aspect socio-économique*. Mémoire DEA Ecologie végétale, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo. Madagascar. 77pp.
- RANDIMBIARIVELO, R. H. 2008.** *Usages des plantes médicinales par les hommes*. Université de Mahajanga .Valorisation de la biodiversité végétale. 29p.
- RANDRIAMIHARISOA, T. N. M. 2010.** *Etude ethnobotanique et evaluation du statut de conservation des plantes médicinales de la région Analamanga*. Mémoire DEA. Ecologie végétale. Université d'Antananarivo. 69p.
- RAOELIARISOA, M.1995.** *Comportement sylvicole du Cedrelopsis grevei Baillon (Katrafay) à travers la régénération naturelle*. Mémoire de fin d'étude. ESSA Agronomiques, Département Eaux et Forêts.Univ. : Antananarivo.93p

RAVAOHERINAVALONA, R. 2011. *Ecologie, anatomie et dendrochronologie de cinq espèces de Cedrelopsis (RUTACEAE) des forêts sèches de Madagascar (Tsaramandroso et Morondava).* Mémoire DEA. Ecologie Végétale. Université d'Antananarivo. 77p.

RAVAOMANALINA, B. H. 2013. *Anatomie et dynamique de croissance des espèces d'Adansonia (baobab) de Madagascar.* Thèse de Doctorat, Ecologie Végétale. Université d'Antananarivo. 135p.

ROLLET, B. 1982. Intérêt de l'étude des écorces dans la détermination des arbres tropicaux sur pied conservateur des Eaux et Forêt O-M. *Revue Bois et Forêt des tropiques* : 195.

RUZIN, S. E. 1999. *Plant microtechnique and microscopy.* Oxford University Press, New York.

SAMISOA, G. 1998. *Contribution à l'étude de la dynamique de population de Cedrelopsisgrevei H. Baillon dans la forêt de Zombitse et sa régénération artificielle.* Mémoire DEA Physiologie végétale, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo. Madagascar. 61pp.

SCHATZ, G. 2001. *Flore générique des arbres de Madagascar.* Royal Botanique Garden, Kew & Missouri Botanical Garden. Grande Bretagne. 501p.

SCHMITZ, N., VERHEYDEN, A., KAIRO, J. G., BEECKMAN, H. & KOEDAM, N. 2006. Influence of a salinity gradient on the vessel characters of the mangrove species *Rhizophora mucronata*. *Annals of Botany*, 98: 1321-1330.

TROCKENBRODT, M. 1990. Survey and discussion of the terminology used in bark anatomy. *Iawa Bulletin* 11(2): 141-66.

WHEELER, E. A., BAAS. P. & GASSON. P.E. (eds.) 1989. IAWA List of microscopic features for hardwood identification. *IAWA Bull.* 10(3): 219-332.

WYATT-SMITH 1954. Suggest definition of field character for use in the identification of tropical forest trees, in *Malaya. Malaya For.* 17 170-183.

WEBOGRAPHIE

[http:// database. Protat.org/recherche.htm](http://database.Protat.org/recherche.htm) du mars 2016

<http://www.Fao.org/forestry/nwfp/6388/fr> définition du PFNL (1999). Consulté le janvier 2016

<http://www.Fao.org/docrep/003/y1457f12.htm> classification du PFNL (2006). Consulté le janvier 2016

ANNEXES

Annexe 1 : Données climatiques de Morondava (Année 2010-2015)

Mois	Janv	Févr	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Sept	Oct	Nov	Dec
P°	460	455,3	104,8	0	0	0	0	0	0	0	13	48,4
T°moy	28,2	24,1	27,9	26,7	24,2	22,7	22,4	22,2	21,9	24,9	26,3	28,3
T° max	31,3	24,5	31,5	31,1	30,2	28,6	29,2	28,8	28,2	30,4	30,8	32
T°min	25,1	23,7	24,4	22,4	18,2	16,9	15,8	15,6	16,6	19,5	21,8	24,6

Annexe 2 : Préparation d'un mélange de Safranine O et d'Alcian blue (Nele Schmitz, 2006) :

- Préparation d'un mélange de Safranine O et d'Alician blue et processus de coloration 5mn
- 35ml d'alcool 50% est versée dans le bécher contenant 0,35g de Safranine O, puis agiter
- 65ml d'eau distillée est ensuite versée dans un autre récipient contenant 0,65g d'Alcian blue et agiter aussi

Annexe 3: Procédure de coloration des coupes

	Solution	Durée
1	Eau javel	5mn
2	Eau distillée	5mn
3	Acide acétique	5mn
4	Eau distillé	5mn
5	Alcool 50%	5mn
6	Safanine O +Alcian blue	5mn
7	Alcool 75%	5mn
8	Alcool 96%	5mn
9	Alcool 100%	5mn

Title: Bark anatomy of *Cedrelopsis grevei* (Baillon) and *C. microfoliolata* (Leroy) medicinal plants exploited for their bark (MORONDAVA, region MENABE)

Author: Ravo Nantenaina RAMANANTSIALONINA

ABSTRACT

The species of *Cedrelopsis* (Katrafay) are medicinal species exploited for their bark. Nevertheless few elements about the bark anatomical structure and tissues the responsible for the chemical composition are available. Bark macroscopic and microscopic analyses of both species *Cedrelopsis grevei* and *C. microfoliolata* show that the bark consists of three elements: the periderme, the rhytidome, the cortex and the secondary phloem. The rhytidome is formed by two or three layers of periderm alternated with obliterated phloem II. The cortex is dominated by the presence of parenchyma tissues and sclerids. The secondary phloem is divided in two parts: not obliterated and obliterated which consists of parenchyma, fibres, rays and sieves elements accompanied by small companion cells. Crystals are found around the fibres and the sclerids. Secretory canals are present in the cortex and the phloem. Rays are heterocellular for *Cedrelopsis microfoliolata* while homocellular for *C. grevei*. The monoterpene is present only in the periderme whereas the sesquiterpene is found in the periderm as well as is in the secretory canals. Monoterpene and sesquiterpene can be used in malagasy pharmacopeia. The results of this study will contribute to a better knowledge of the species and will serve as basic elements to insure its sustainable exploitation and management.

Key words: Anatomy, bark, medicinal plants, monoterpene, sesquiterpène, *Cedrelopsis*, Madagascar

Advisor: Dr. Bako Harisoa RAVAOMANALINA

Titre : Anatomie de l'écorce de *Cedrelopsis grevei* (Baillon) et de *C. microfoliolata* (Leroy)
plantes médicinales exploitées pour leur écorce (MORONDAVA, région MENABE)

Auteur : Ravo Nantenaina RAMANANTSIALONINA

RESUME

Les espèces de *Cedrelopsis* (Katrafay) sont des espèces médicinales recherchées pour leur écorce. Pourtant très peu d'éléments sur la structure anatomique et les tissus responsables de la sécrétion des principes actifs utiles dans l'écorce sont disponibles. Les analyses macroscopique et microscopique de l'écorce de deux espèces *Cedrelopsis grevei* et *C. microfoliolata* ont montré que l'écorce est constituée par trois parties: le périderme et rhytidome, le cortex et le phloème secondaire. Le rhytidome est formé par deux à trois couches de péridermes alternés avec des phloèmes II oblitérés. Le cortex est dominé par la présence des tissus parenchymateux et des sclérites. Le phloème II est divisé en deux : une partie oblitérée et, une non oblitérée qui est constituée par des parenchymes, des fibres, des rayons, des tubes criblés et des cellules compagnes. Les cristaux sont trouvés autour des fibres et des sclérites. Des canaux sécréteurs sont présents au niveau du cortex et du phloème II. *Cedrelopsis microfoliolata* possède des rayons hétérocellulaire tandis que homocellulaire pour *Cedrelopsis grevei*. Le monoterpène se trouve uniquement dans le périderme tandis que le sesquiterpène se trouve aussi bien dans le périderme que dans les canaux sécréteurs. Les monoterpène et sesquiterpène peuvent être utilisés en pharmacopée malgache. Les résultats de cette étude contribueront à une meilleure connaissance de l'espèce et serviront d'éléments de base pour assurer l'exploitation et la gestion durable de la filière.

Mots clés : Anatomie, écorce, plante médicinale, monoterpène, sesquiterpène, *Cedrelopsis*, Madagascar

Rapporteur : Dr. Bako Harisoa RAVAOMANALINA