

Évaluation de l'utilisation de la spectroscopie dans le proche infrarouge (SPIR) pour l'estimation de l'évolution de la qualité du régime alimentaire du mouflon

Daniel Maillard, Denis Bastianelli*, Marina Tronchot, Laurent Bonnal*, Jean-Marc Cugnasse, Éric Marty & Mathieu Garel**

* CIRAD-département d'élevage et de médecine vétérinaire, Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex

** CNRS-UMR 5558, Laboratoire de biométrie et biologie évolutive, Université de Lyon 1, 69622 Villeurbanne Cedex

Contexte de l'étude

Le massif du Caroux-Espinouse, vaste plateau surélevé et entaillé de gorges profondes du sud de la France (Hérault), subit trois influences climatiques : méditerranéenne, atlantique et montagnarde. Il est traversé par la limite de partage des eaux des bassins atlantique et méditerranéen. Du fait de ces influences climatiques mais aussi de la topographie et des activités humaines (pastorales et forestières), trois étages bioclimatiques sont présents sur le secteur avec une grande diversité de milieux (Auvray 1982).

Ce contraste biogéographique entre influence méditerranéenne, atlantique et montagnarde pourrait être, au moins en partie, à l'origine de la structuration spatiale de la population de mouflon présente sur le massif. Cette dernière, issue de l'introduction de 19 individus (9 mâles et 10 femelles) entre 1956 et 1960, a principalement étendu son aire vitale dans la zone sous influence méditerranéenne.

L'un des objectifs du travail présenté ici est de rechercher une méthode simple et peu coûteuse qui puisse nous donner un indice de qualité du régime alimentaire du mouflon pour nous permettre, entre autres, d'expliquer cette répartition spatiale. Plus généralement l'objectif est de pouvoir associer cet indice aux paramètres démographiques et spatiaux ainsi qu'aux indices de condition de la population. Cet indice pourrait ainsi devenir un indicateur de la relation population-environnement, à prendre en compte pour la gestion et l'amélioration des habitats en faveur du mouflon.

Des études préliminaires menées sur le cerf en Nouvelle-Calédonie (De Garine-Wichatitsky *et al.*, 2002) et sur le bouquetin (Lembke *et al.*, 2005) ont montré que la méthode d'analyse par la spectrométrie dans le proche infrarouge (SPIR, voir encadré) était fiable pour l'analyse des paramètres fécaux et permettait d'obtenir une quantité importante d'informations. C'est donc cette méthode que nous avons testée dans le cas du mouflon.

Matériels et méthodes

Deux fois par mois, de juin 2003 à décembre 2005, au moins 30 tas de fèces ont été récoltés sur les deux étages biogéographiques les plus contrastés : étage supra-méditerranéen, nommé par la suite « versant méditerranéen » (FM) et étage montagnard sub-atlantique, nommé « versant atlantique » (FA). Les 1 800 échantillons ont été congelés à - 18 °C en attendant d'être séchés à l'étuve à 60 °C pendant 72 h, puis broyés avant analyse au laboratoire.

Analyses spectroscopiques

La prise de spectre SPIR s'est faite sur les poudres, présentées en coupelles (diamètre = 40 mm) en réflexion diffuse entre 400 et 2 500 nm à l'aide d'un spectromètre FOSS 6 500 (Foss NIRSystems, Silver Spring, MD, USA). Deux spectres de chacun des échantillons ont été collectés, moyennés et traités mathématiquement.

Puis les équations de calibration ont été développées en utilisant des techniques de régression aux moindres carrés partiels (PLS). Les longueurs d'onde visibles (400-800 nm) n'ont pas été

utilisées dans les calibrations car elles introduisaient une variabilité spectrale non reliée à la composition chimique.

Analyses chimiques de référence au laboratoire

Parmi les 1 800 spectres obtenus, un sous groupe représentatif a été sélectionné pour être analysé au laboratoire. Le choix a été fait en sélectionnant les échantillons d'après leur spectre, ce qui a permis de s'assurer que les échantillons étaient représentatifs de la variation observée.

Les analyses de laboratoire ont été réalisées dans le Laboratoire d'alimentation

animale du CIRAD-Emvt à Montpellier. Au total, environ 120 analyses chimiques de référence ont été réalisées.

Les paramètres mesurés ont été les suivants : matière sèche (MS, séchage à l'étuve à 103 °C) ; matières minérales totales (MM, minéralisation à 550 °C) ; azote total (N, méthode de Kjeldahl) et fibres, fractionnées selon la méthode de Van Soest : fibres totales (NDF), ligno-cellulose (ADF) et lignine (ADL) (Van Soest *et al.*, 1991)

Spectres obtenus

L'ensemble des spectres SPIR de la population d'échantillons est assez homogène pour pouvoir travailler avec des calibrations couvrant la totalité du groupe. La figure 1 est la représentation de l'analyse en composantes principales (ACP ; axes 1, 2 et 4 représentant 76,5 % de la variabilité spectrale) de la population spectrale. Parmi les 1800 spectres des fèces, on a distingué ceux provenant des fèces récoltées sur les versants atlantiques (FA, en bleu) et méditerranéens (FM, en rouge). Ces groupes sont bien individualisés, bien que formant ensemble un nuage cohérent.

Équations de calibration

Les performances des équations de calibration SPIR obtenues sont données dans le tableau 1.

La précision de l'équation pour N est satisfaisante, avec une précision (Écart type résiduel, SECV) de 0,20 %. L'équation pour la lignine est un peu moins précise ($R^2 = 0,74$) mais permet une prédiction correcte des valeurs de composition chimique.

Pour l'interprétation des résultats, on a choisi d'exprimer les valeurs selon un indice de composition plutôt qu'en valeur absolue. Pour cela, on a divisé chaque résultat par la valeur maximale du critère dans la population. Cela revient à donner la valeur 100 à l'échantillon le plus haut, et exprimer les autres échantillons en pourcentage de celui-ci. Ainsi tous les critères sont rapportés à une base 100 et leur variabilité est facilement comparable. Un autre avantage de ce mode d'expression est qu'il n'est pas sensible à d'éventuels biais dans la valeur prédite.

Tableau 1 : Performances des équations de calibration SPIR.

Constituant	Nombre	Moyenne	Écart Type	R ²	SECV	RPD
N	111	2,25	0,56	0,92	0,20	2,8
Lignine	110	19,6	5,20	0,74	2,92	1,8

Nombre, moyenne et écart-type = population de référence
R², SECV = qualité de l'ajustement de la prédiction
Critère de qualité de la calibration : RPD = Écart Type/SECV

Ainsi dans l'ensemble de l'étude, on parlera en terme d'indice (Base 100) et non de valeur absolue, pour tous les critères considérés.

Résultats

De fortes différences de composition chimique des fèces sont retrouvées entre les deux zones biogéographiques, pour l'ensemble des paramètres mesurés. Au-delà de cette simple constatation, l'intérêt d'une collecte très large comme celle réalisée ici est de pouvoir suivre les variations dans le temps. Nous ne retiendrons ici que les résultats de l'azote et de la lignine qui sont les paramètres essentiels pour l'interprétation de la valeur alimentaire.

Cas de la teneur en azote (N)

Les valeurs de N enregistrées sur les trois années de suivi dépendent de l'étage biogéographique (ANOVA, $F_{1,1795} = 29,0$, $P < 0,001$) et varient fortement avec la date d'échantillonnage (ANOVA, $F_{30,1766} = 61,9$, $P < 0,001$). Bien que les variations dans le temps diffèrent significativement suivant le versant (ANOVA, interaction date*versant, $F_{28,1764} = 9,4$, $P < 0,001$), les courbes (figure 2) présentent malgré tout la même tendance générale ($R^2 = 0,82$, $P < 0,001$) entre les 2 versants avec une variabilité plus importante pour les fèces FA (CV = 29,2 %) que FM (CV = 23,2 %). On constate aussi une importante variabilité interannuelle, avec des valeurs bien plus élevées en 2005 qu'en 2004 sur les deux versants (ANOVA sans l'année 2003 (incomplète), $F_{1,1370} = 206,8$, $P < 0,001$).

Cas de la teneur en lignine (ADL)

Comme pour N, il existe des différences importantes de teneur en lignine en fonction du versant (ANOVA, $F_{1,1795} = 16,9$, $P < 0,001$) et de la date d'échantillonnage (ANOVA, $F_{30,1766} = 21,0$, $P < 0,001$), et

ces variations temporelles ne sont pas non plus les mêmes suivant le versant considéré ($F_{28,1764} = 13,9$, $P < 0,001$; figure 3). Sur le versant atlantique (FA), le taux de lignine est globalement au-dessous de celui observé sur le versant méditerranéen (FM), et est surtout beaucoup plus variable (CV = 18,5 % pour FA contre CV = 12,4 % pour FM). Cela traduit clairement une alimentation plus variée sur le versant atlantique (FA), avec notamment des ressources moins ligneuses pendant la plupart de l'année et des valeurs comparables au versant méditerranéen (FM) pendant les mois d'hiver (figure 4). La teneur en lignine des fèces FM est beaucoup plus constante. Bien qu'étant plus faible que celle de l'azote, on constate aussi une différence significative entre 2004 et 2005 (ANOVA, $F_1 = 17,4$, $P < 0,001$).

Conclusions et perspectives

Ces résultats préliminaires tendent à montrer que la méthode de prédiction par SPIR donne des résultats intéressants pour estimer l'évolution de la diversité et de la qualité du régime alimentaire des ongulés sauvages et semble prometteuse pour répondre à d'autres problématiques de gestion. Le rapport lignine/azote,

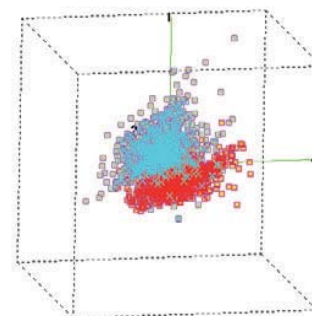


Figure 1 : Analyse en Composantes Principales réalisée sur les spectres des fèces récoltées en versant atlantique (FA, bleu) et méditerranéen (FM, rouge).

qui est un critère synthétique de la valeur alimentaire variant de valeurs très faibles pour des fourrages verts non lignifiés à des valeurs très fortes pour des fourrages lignifiés pauvres en azote, pourrait être un indicateur d'équilibre population/environnement.

La mise au point des équations de prédiction SPIR de la composition chimique des fèces permettra de travailler plus facilement et à moindre coût dans le futur. L'hétérogénéité des échantillons obligera bien sûr à des mises à jour des équations de calibration, mais ce travail sera d'une ampleur moindre que dans le présent projet. Il permettra en outre le traitement de nombreux échantillons afin d'approfondir la connaissance de l'évolution de l'alimentation des animaux dans l'espace et dans le temps.

Cette méthode est aussi utilisée sur le massif du Caroux, d'une part pour estimer la valeur alimentaire de la végétation disponible dans les différents faciès fréquentés par les mouflons suivis par GPS (étude de la stratégie d'occupation et d'utilisation de l'espace) et, d'autre part, pour valider le bénéfice en termes de qualité sur des expérimentations d'amélioration des habitats par gyrobroyage et brûlages contrôlés.

Cette méthode devrait aussi permettre de comparer la qualité des régimes alimentaires de différentes espèces d'ongulés vivant en sympatrie et de comparer les résultats avec les données de sélection d'habitat obtenues par le suivi individuel de quelques individus (GPS). Cette recherche est en cours sur le massif des Bauges.

Enfin, cette méthode pourrait servir à identifier l'espèce animale prédatrice de telle ou telle essence forestière (essences économiques) sans passer par une analyse contraignante et coûteuse du régime alimentaire nécessitant le prélèvement des animaux, limité en quantité et aux seules périodes où ils sont autorisés.

BIBLIOGRAPHIE

- Auvray F. (1982) – Le massif du Caroux-Espinouse. Bulletin Mensuel de l'ONC, 59 : 10-14
- Garine-Wichatitsky (de) M., Lecomte P., Soubeyran Y., Guérin H., Maillard D., Duncan P. & B. Toutain (2002) – Régime alimentaire et profils nutritionnels fécaux : mises au point méthodologiques pour le suivi du comportement alimentaire des ruminants sauvages et domestiques de Nouvelle Calédonie. *Colloque 3R, INRA, Paris* (poster). Renc. Rech. Ruminants, 9 : 306
- Lembke M., Bastianelli D., Maillard D., Lecomte P. & A. Cavallero (2005) – Faecal predictions by NIRS for Ibox : overcoming the problem of sample quantities. 12th international conference on Near Infrared spectroscopy, 10-15 avril 2005, Auckland, NZ
- Soest (Van) P.J., Robertson J.B. & B.A. Lewis (1991) – Methods for dietary fiber, neutral detergent fibre and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition, *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597

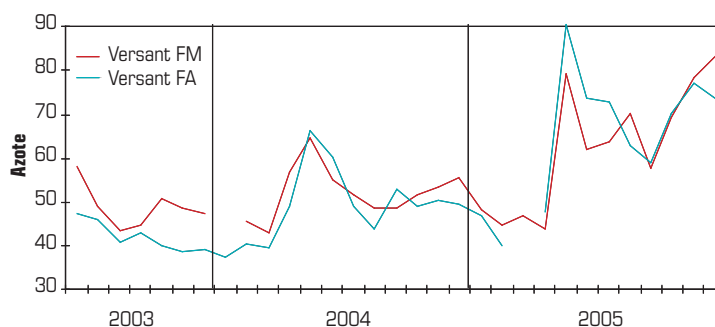


Figure 2 : Courbes de l'évolution de l'azote (N) au cours du temps sur les 2 versants biogéographiques du massif du Caroux-Espinouse.

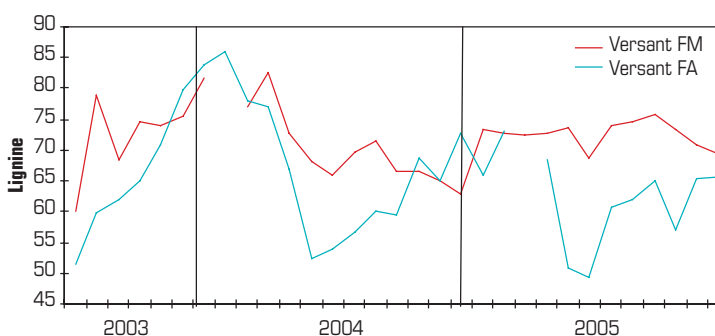


Figure 3 : Courbes de l'évolution de lignine (ADL) au cours du temps sur les 2 versants biogéographiques du massif du Caroux-Espinouse.

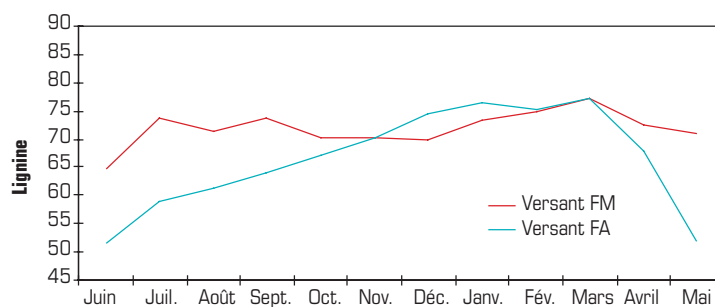


Figure 4 : Courbes de l'évolution de lignine (ADL) en fonction du mois (moyenne sur les 3 années d'études) sur les 2 versants biogéographiques du massif du Caroux-Espinouse.

La spectroscopie dans le proche infrarouge (SPIR) est une technique analytique basée sur le principe d'absorption des rayonnements (infrarouges) par la matière organique. Cette absorption étant liée à la composition chimique des échantillons, on peut estimer cette dernière par la simple mesure de l'absorption de lumière par l'échantillon.

La SPIR nécessite une phase d'étalonnage (ou « calibration ») basée sur des mesures de référence obtenues au laboratoire (composition chimique, valeur alimentaire, etc.) et l'établissement des modèles mathématiques qui permettront de relier le spectre infrarouge au résultat de ces mesures.

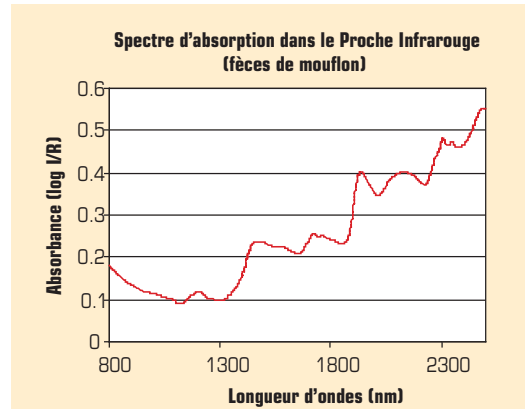
Cette technique a de nombreux avantages :

- elle est rapide : quelques minutes suffisent pour recueillir le spectre d'absorption d'un échantillon, qui servira à la prédiction de sa composition ;
- elle est non destructive : l'échantillon est récupéré intact après analyse ; cette propriété est particulièrement importante pour des échantillons très peu abondants ou que l'on doit conserver pour des analyses ultérieures ;
- elle ne nécessite pas une grande quantité d'échantillons : quelques grammes suffisent ; dans certaines conditions on peut même réaliser des spectres sur des quantités extrêmement faibles : moins d'un gramme d'échantillon ;
- elle est peu onéreuse : hormis l'investissement initial dans l'appareil et la constitution des « calibrations » pour chaque produit, le coût de passage des échantillons est très faible.

Cependant il faut savoir :

- que la SPIR ne peut généralement pas être utilisée pour estimer les substances minérales, puisqu'elle est basée sur l'absorption du rayonnement par les molécules organiques ;
- que dans la plupart des cas les substances présentes à l'état de traces dans les échantillons ne peuvent pas être prédites par la technique car le signal leur correspondant est trop faible.

Outre la prédiction de la composition chimique des échantillons, les spectres SPIR peuvent servir à classer des individus, discriminer des catégories, choisir des échantillons représentatifs de la population, etc. La possibilité d'obtenir facilement des informations sur un nombre important d'échantillons (plusieurs centaines, voir milliers) est particulièrement intéressante pour des suivis dans l'espace et dans le temps comme ceux qui sont nécessaires dans l'étude de l'alimentation de la faune sauvage.



ABSTRACT

Assessment of the use of near-infrared spectrometry (SPIR) to estimate the variations in the quality of the mouflon diet

Daniel Maillard, Denis Bastianelli, Marina Tronchet, Laurent Bonnal, Jean-Marc Cugnasse, Éric Marty & Mathieu Garel

■ The Caroux-Espinouse massif is a contrasted habitat with a strong opposition between its southern (Mediterranean influence) and northern (Atlantic influence) parts. Such a contrast might have shaped the spatial distribution of the mouflons released on the massif from 1956 to 1960, which mainly colonized the southern part. Our aim here was to assess the spatio-temporal variations in the diet of mouflons in relation to this environmental contrast. We took advantage of a new method based on near-infrared spectrometry (SPIR) to assess the nitrogen and lignine contents of 1800 feces collected bi-monthly since 2003 on each part of the massif. Our results showed large differences in the mouflon diet between the northern and the southern parts as well as large inter-annual variations. For instance, animals feeding on the northern part showed a larger diversity in their diet than the southern sub-populations. The next step of this study will be to link these spatio-temporal variations with the demographic performances and the habitat characteristics of each sub-population. We discuss several other applications of this method in a wildlife management context.