

INFORMATION TO USERS

This manuscript has been reproduced from the microfilm master. UMI films the text directly from the original or copy submitted. Thus, some thesis and dissertation copies are in typewriter face, while others may be from any type of computer printer.

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted. Broken or indistinct print, colored or poor quality illustrations and photographs, print bleedthrough, substandard margins, and improper alignment can adversely affect reproduction.

In the unlikely event that the author did not send UMI a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if unauthorized copyright material had to be removed, a note will indicate the deletion.

Oversize materials (e.g., maps, drawings, charts) are reproduced by sectioning the original, beginning at the upper left-hand corner and continuing from left to right in equal sections with small overlaps. Each original is also photographed in one exposure and is included in reduced form at the back of the book.

Photographs included in the original manuscript have been reproduced xerographically in this copy. Higher quality 6" x 9" black and white photographic prints are available for any photographs or illustrations appearing in this copy for an additional charge. Contact UMI directly to order.

UMI

A Bell & Howell Information Company
300 North Zeeb Road, Ann Arbor MI 48106-1346 USA
313/761-4700 800/521-0600



Université d'Ottawa • University of Ottawa

Université d'Ottawa

Écologie chimique et ethnobotanique de *Momordica charantia* L.

(Cucurbitaceae) au Togo, Afrique de l'Ouest

Thèse présentée

comme exigence partielle

de la maîtrise en biologie

par

© Nadine Beloin

10 décembre 1998



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions et
services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-36659-6

L'Humanité célèbre, en ce 10 décembre 1998, le 50ième anniversaire de la Déclaration Universelle des Droits de l'Homme. Je tiens à souligner cet événement en favorisant la diffusion de ce texte majeur, grandiose et simple à la fois, en citant un de ses 30 articles.

"L'article 27.

1. Toute personne a le droit de prendre part librement à la vie culturelle de la communauté, de jouir des arts et de participer au progrès scientifique et aux bienfaits qui en résultent.
2. Chacun a droit à la protection des intérêts moraux et matériels découlant de toute production scientifique, littéraire ou artistique dont il est l'auteur."

Aux Togolais

À votre sagesse

À votre patience

À votre pacifisme

À votre futur

Mi a do go

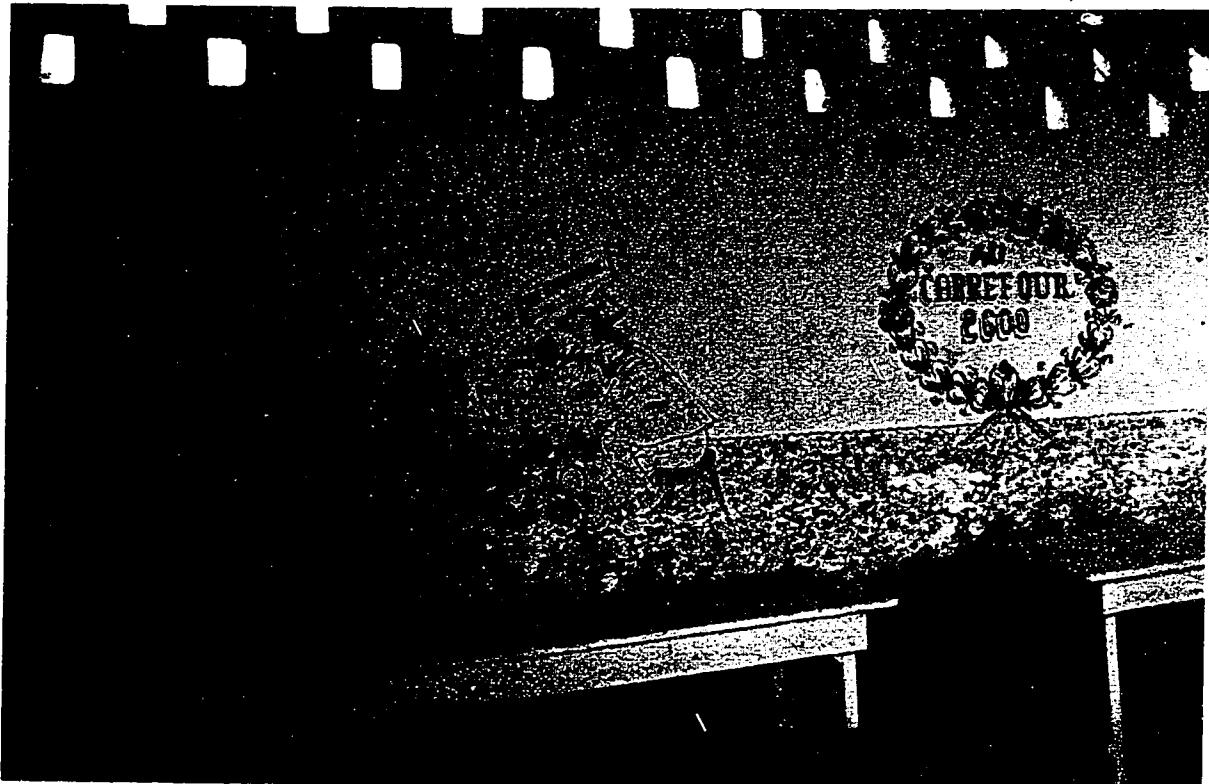


TABLE DES MATIÈRES

Liste des figures	XII
Liste des tableaux	XIII
Remerciements	XV
Abbréviations	XVII
Résumé	XIX
Abstract	XX
Chapitre 1. Introduction	1
1. 1. Écologie chimique	3
1. 1. 1. Théories récentes	3
1. 1. 2. Impact de l'écologie chimique sur la vie des humains	6
1. 2. Ethnobotanique	9
1. 2. 1. Importance des études ethnobotaniques	10
1. 2. 2. Importance de l'approche anthropologique	12
1. 2. 3. Études ethnobotaniques qualitatives et quantitatives	13

1. 3. <i>Momordica charantia</i> L.	16
1. 3. 1. Botanique et distribution	16
1. 3. 2. Diversité génétique et agriculture	17
1. 3. 3. Utilisations traditionnelles courantes	18
1. 3. 4. Activités biologiques testées	19
 Chapitre 2. HPLC methods and quantitative determination of momordicins	20
2. 1. Introduction	21
2. 2. Experimental	23
2. 2. 1. Plant Collection	23
2. 2. 2. Momordicin Extraction	23
2. 2. 3. HPLC analysis	24
2. 2. 4. Standards	25
2. 2. 5. Recovery of momordicins	26
2. 3. Results and Discussion	27

Chapitre 3. Chemical ecology of momordicins in <i>Momordica charantia</i> from Togo	33
3. 1. Introduction	34
3. 1. 1. Chemical ecology theories	34
3. 1. 2. <i>Momordica charantia</i> L.	35
3. 1. 3. Momordicins	36
3. 1. 4. Objectives and hypotheses	37
3. 2. Material and methods	38
3. 2. 1. Study site	38
3. 2. 2. Climatological data	38
3. 2. 3. Collection of plants and environmental factors	41
3. 2. 4. Soil nitrogen analysis	42
3. 2. 5. Greenhouse experiment	42
3. 2. 6. Momordicin analysis	43
3. 2. 7. Statistical analyses	44
3. 3. Results	45
3. 3. 1. Phenotypic effects on momordicin contents	45
3. 3. 1. 1. Climatological factors	45

3. 3. 1. 2. Geographical factors	49
3. 3. 1. 3. Edaphic factors	49
3. 3. 1. 4. Ecological factors	50
3. 3. 1. 5. Multiple linear regression model	54
3. 3. 1. 6. Relative proportion of momordicins I and II	54
3. 3. 2. Genotypic effects on momordicin contents in plants from greenhouse trials	57
3. 4. Discussion	60
3. 4. 1. Individual momordicins	60
3. 4. 1. 1. Phenotypic effects on momordicin I and II contents	61
3. 4. 1. 2. Conversion between momordicins I and II	62
3. 4. 2. Total momordicins	65
3. 4. 2. 1. Phenotypic effects on total momordicins	65
3. 4. 2. 2. Linear model of total momordicins variability	67
3. 4. 3. Genotypic effects	68
3. 5. Conclusion	70

Chapitre 4. Ethnobotanique et bioactivités de <i>Momordica charantia</i> au Togo	71
4. 1. Introduction	72
4. 1. 1. <i>Momordica charantia</i> L.	73
4. 1. 2. Utilisations traditionnelles de par le monde	73
4. 1. 3. Activités biologiques établies	75
4. 1. 4. Importance de l'ethnomédecine	76
4. 1. 5. Buts et Hypothèses	77
4. 2. Méthodologie	78
4. 2. 1. Zone d'étude	78
4. 2. 2. Données ethnobotaniques	78
4. 2. 3. Récolte des plantes, extraction et analyses chimiques	80
4. 2. 4. Bioessais antiviraux	80
4. 2. 5. Bioessais anthelminthiques	81
4. 2. 6. Données bibliographiques NAPRALERT	83
4. 2. 7. Données climatologiques	83
4. 3. Résultats	85
4. 3. 1. Utilisations populaires de <i>Momordica charantia</i> L. au Togo	85

4. 3. 1. 1. Enquêtes lors des récoltes sur le terrain	85
4. 3. 1. 2. Précisions quant au statut des répondants	88
4. 3. 2. Connaissances traditionnelles d'ethnomédecins togolais	89
4. 3. 2. 1. Utilisations médicinales de <i>Momordica charantia</i> L.	90
4. 3. 2. 2. Critères de récolte des plantes	91
4. 3. 3. Utilisations médico-magiques	91
4. 3. 4. Activité antivirale de <i>Momordica charantia</i> L.	95
4. 3. 5. Activité anthelminthique de <i>Momordica charantia</i> L.	97
4. 3. 6. Effets environnementaux sur le contenu en momordicines	97
4. 4. Discussion	102
4. 4. 1. Utilisations de <i>Momordica charantia</i> au Togo	102
4. 4. 1. 1. Consensus entre population locale et ethnomédecins ...	102
4. 4. 1. 2. Consensus entre ethnies du Togo	103
4. 4. 1. 3. Consensus à travers le monde	104
4. 4. 2. Connaissances traditionnelles en tant que compréhension de l'écologie chimique	107
4. 4. 2. 1. Évaluation de l'activité biologique des feuilles de <i>Momordica charantia</i>	107

4. 4. 2. 1. 1. Activités antivirales	107
4. 4. 2. 1. 3. Activités anthelminthiques	110
4. 4. 2. 1. 4. Activités antibactériennes	111
4. 4. 2. 1. 5. Autres activités biologiques établies	112
4. 4. 2. 2. Évaluation des critères de récolte des ethnomédecins ...	115
4. 4. 2. 3. Importance des différences culturelles: rites et protocoles .	118
4. 5. Conclusion	120
Conclusion générale	121
Références	124
Annexes	144

LISTE DES FIGURES

Figure 2. 1. Representative chromatograms of momordicins I and II and ethanolic extracts of leaves and stems of <i>Momordica charantia</i> L.	28
Figure 2. 2. Linearity of HPLC response to increasing concentrations of standards of momordicins I and II.	29
Figure 3. 1. Concentration of total momordicins in leaves and stems of <i>M. charantia</i> from Togo according to ecological factors of the collecting sites	52
Figure 3. 2. Proportional relationship between momordicin I and II concentrations from leaves and stems of <i>M. charantia</i>	56
Figure 3. 3. Momordicin concentrations in leaves and stems of <i>M. charantia</i> from field in Togo and from greenhouse, according to their ecological zone of origin	59
Figure 3. 4. Interconversion and synthesis of momordicins I and II	63
Figure 4. 1. Utilisations courantes de <i>M. charantia</i> au Togo par la population locale, selon la provenance des ethnies et selon certains ethnomédecins	87
Figure 4. 2. Fête traditionnelle des Gěs à Glidji Kpodji et utilisation médico-magique de <i>M. charantia</i>	94

LISTE DES TABLEAUX

Table 2. 1. Recovery analysis of momordicins I and II from freeze-dried ethanolic extract of <i>Momordica charantia</i> L.	30
Table 2. 2. Descriptive statistics of momordicin concentrations in leaves and stems of <i>M. charantia</i> collected in West Africa	31
Table 3. 1. Correlation between momordicin content in leaves and stems of <i>M. charantia</i> collected in Togo and some climatological, geographical and edaphic factors of the corresponding sites	46
Table 3. 2. Non-parametric analysis of variance of momordicin concentrations in leaves and stems of <i>M. charantia</i> collected in Togo with respect to ecological factors or physical aspects of the plants	51
Table 3. 3. Multiple linear regression model for total momordicin concentration	55
Table 3. 4. Table of analyses of variance of total momordicin content between <i>M. charantia</i> plants grown in greenhouse when compared from site origin or ecological zone origin	58
Tableau 4. 1. Critères utilisés ou préférés pour la récolte des plantes selon 19 ethnomédecins du Togo	92
Tableau 4. 2. Activités antivirales de <i>M. charantia</i> contre les virus membranaires HSV-1 et SINV	96

Tableau 4. 3. Activités anthelminthiques de <i>M. charantia</i> contre <i>Caenorhabditis elegans</i>	98
Tableau 4. 4. Corrélations entre la concentration en momordicines des tiges feuillées de <i>M. charantia</i> récoltées au Togo et certains facteurs liés au climat ou à la récolte des plantes	100
Tableau 4. 5. Nombre de pays où <i>M. charantia</i> est utilisée traditionnellement pour différents usages	105
Tableau 4. 6. Pourcentage d'expériences dans la littérature scientifique considérées positives quant à l'activité biologique de <i>M. charantia</i> envers différents organismes ou pathologies	109
Tableau 4. 7. Pourcentage d'expériences dans la littérature considérées positives quant à l'activité antibactérienne de <i>M. charantia</i>	113

REMERCIEMENTS

Je souhaite remercier le Dr. Arnason pour m'avoir permis de découvrir l'Afrique à ma façon. Pour faire confiance à deux jeunes fous inconnus comme Luc et moi, vous avez vraiment du flair. Merci à toute l'équipe du laboratoire, particulièrement Chantale Bergeron et John Livesey qui m'ont aidé à surmonter la montagne technique.

Toute notre reconnaissance envers le Dr. Gbeassor pour toutes les portes qu'il nous a ouvertes, au Dr. Akpagana pour son savoir inestimable de la végétation togolaise et de la sous-région, à M. Kaman pour son aide primordiale sur le terrain au Togo, aux (très) nombreux collègues de l'Université du Bénin à Lomé pour leur appui, à M. Hunlede pour la traduction et l'amitié, à Koami et Catherine pour le travail d'équipe.

Un remerciement tout spécial à tous ces Togolais rencontrés dans la brousse ou dans les villes et qui ont partagé avec nous leur savoir de la nature et particulièrement aux ethnomédecins qui nous ont fait confiance au nom de l'avancement de la science et du développement au Togo.

Merci à Dre. Christiane Charest et Dr. Myron Smith pour leur appui au sein du comité de supervision de la thèse et de celui de la défense auquel s'est joint le Dr. Bernard Philogène. Merci aux autres professeurs en biologie qui m'ont donné un coup de main à un moment ou à un autre. Toute mon admiration à M. Brugginck qui s'occupe des serres de Carleton et ses locataires de façon remarquable. Longue vie aux Serres!

Nous remercions également Dr. H. Okabe pour le don du standard de momordicine I, Mme. H. Yasui pour celui du standard de momordicine II, le Dr. Jim Hudson et son équipe pour le travail capital en virologie, Dr. Baluo Ma et Mme. Vivianne Deslauriers pour les analyses de sol, Dr. G. Bélair et M. Potter pour leur aide en nématologie, tous quatre à Agriculture et Agroalimentaire Canada, aussi à Mme. Stiermer du Caenorhabditis Genetic Center.

Cette étude a été financée par le FCAR (Fonds pour les Chercheurs et l'Aide à la Recherche) et par l'ACDI (Agence canadienne de développement international), ainsi que par l'EUMC (Entraide Universitaire Mondiale du Canada) qui a également fourni une aide logistique précieuse pour l'organisation du voyage de terrain en Afrique.

Conservant le meilleur pour la fin, j'ai une très chaleureuse et aimante pensée pour toute ma famille et mes amis qui m'ont appuyée splendidement durant ce projet plutôt périlleux. Même si je n'ai pas tellement été présente au cours des trois dernières années, votre support moral et affectif demeuraient toujours en moi et ont été essentiels à l'accomplissement de mon projet. Comme toujours, Patricia, tu m'as laissée faire des choses qui t'ont sûrement donné quelques soucis. J'en ressors évidemment grandie et cela fait de toi, une fois de plus, mon idéal. Je t'adore.

Merci me semble bien banal pour te rendre tous les efforts, la compréhension et l'aide que tu m'as apportés, Luc. La découverte de l'Afrique à tes côtés a été une expérience extra-ordinaire, "boulohouesque". L'achèvement de la thèse a été un autre périple, beaucoup plus épuisant, dont je vous félicite. Ton aide technique et, surtout, scientifique m'ont vraiment aidée, plus que tu ne le penses. Je dois maintenant l'admettre, your kung-fu is the best!

ABBREVIATIONS

ADN	acides désoxyribonucléiques
ARN	acides ribonucléiques
ANOVA	analyse de variance; analysis of variance
AU	absorption unit (of peak area); (unité d'absorption)
°C	degré Celsius; Celsius degree
CL ₅₀	concentration létale tuant 50% des organismes testés
CNB	équilibre carbone/nutriment; carbon/nutrient balance
df	degré de liberté; degree of freedom
ETM	erreur-type de la moyenne
EtOH	éthanol; ethanol
GDB	équilibre croissance-différenciation; growth-differentiation balance
H ₂ O	eau; water
HPLC	chromatographie liquide à haute pression; high pressure liquid chromatography
HSV-1	virus herpès simplex de type 1
MeCN	acetonitrile; (acétonitrile)
MeOH	methanol; (méthanol)
month PET	mean monthly potential evapotranspiration at month of collection; (évapotranspiration potentielle mensuelle moyenne au mois de récolte)
month TMP	mean monthly temperature at month of collection; (température mensuelle moyenne au mois de récolte)

n	nombre d'unités; number of units
NAPRALERT	NATural PROduct ALERT
NGM	milieu de croissance pour nématodes; nematode growth medium
PET	potential evapotranspiration; (évapotranspiration potentielle)
pfu	plaque-forming unit; (unité en forme de plaque)
PRIMTAF	Projet de Renforcement Institutionnel, Matériel et Technique en Afrique Francophone
PTFE	Teflon
RH	relative humidity; (humidité relative)
RSD	relative standard deviation; (écart-type relatif)
SD	mean standard deviation; (écart-type de la moyenne)
SE	erreur-type de la moyenne; standard error of mean
SINV	virus Sinbis
TMP	temperature; (température)
VPET	annual variability of potential evapotranspiration; (variabilité annuelle de l'évapotranspiration potentielle)
Vprecipitation	variabilité annuelle des précipitations; annual variability of precipitation
W B	water balance; (équilibre hydrique)
w/dry w	weight on dry weight; (poids sur poids sec)
X	mean; (moyenne)

RÉSUMÉ

Momordica charantia L. (Cucurbitaceae), plante médicinale traditionnelle, a été le sujet d'études en écologie chimique et en ethnobotanique au Togo, Afrique de l'Ouest. Les momordicines I et II des feuilles ont été quantifiées grâce à une nouvelle méthode chromatographique (HPLC). Parmi les facteurs environnementaux corrélés significativement avec les concentrations de momordicines, l'intensité lumineuse et les paramètres liés aux habitats plus arides le sont positivement. Ces résultats sont conformes aux théories de l'équilibre croissance-différenciation et de l'équilibre carbone/azote. La variation génotypique est significative. Les Togolais utilisent *M. charantia* surtout contre les maux de ventre, la varicelle et la rougeole. Un consensus d'utilisation existe entre les groupes ethniques et aussi entre la population et les ethnomédecins. Les connaissances traditionnelles de l'activité biologique de la plante sont confirmées par une activité antivirale et anthelminthique des extraits éthanoliques des feuilles. De plus, les critères de récolte des plantes par les ethnomédecins suggèrent une certaine compréhension de l'écologie chimique des milieux naturels.

ABSTRACT

Momordica charantia L. (Cucurbitaceae), a traditionally used medicinal plant, was the subject of chemical ecology and ethnobotany studies in Togo, West Africa. Momordicins I and II present in leaves were quantified with a novel HPLC method. Environmental factors which are significantly and positively correlated to momordicin content include light intensity and parameters related to drier habitats. These results are consistent with growth-differentiation balance and carbon/nutrient balance theories. Genotypic variation is significant. The Togolese population use *M. charantia* mainly for stomach aches, chickenpox and measles. Utilization consensus exists between ethnic groups and also between the population and traditional healers. Traditional knowledge of biological activities is confirmed by positive antiviral and anthelmintic activities of leaf ethanolic extracts. Moreover, harvesting criteria used by traditional healers suggest evidence of a certain comprehension of the plant natural chemical ecology.

CHAPITRE 1. INTRODUCTION

Un projet de recherche original unissant l'Université du Bénin à Lomé, au Togo (Afrique de l'Ouest), et l'Université d'Ottawa, au Canada, a vu le jour en 1995. Les chercheurs togolais du Centre de Recherche et de Formation sur les PLAntes Médicinales (CERFOPLAM), en collaboration avec certains chercheurs canadiens, poursuivent une étude exhaustive des plantes médicinales utilisées couramment par la population togolaise (Gbeassor *et al.* 1997). Financé par le Programme de Renforcement Institutionnel Matériel et Technique en Afrique Francophone (PRIMTAF) de l'Agence Canadienne de Développement International (ACDI), ce projet comporte des études ethnobotaniques, taxonomiques, phytochimiques, microbiologiques, toxicologiques et pharmacologiques. Il vise une mise en marché de produits transformés fabriqués à partir de matériel végétal local afin d'approvisionner la population togolaise en phytomédicaments locaux, standardisés et de qualité, donc peu dispendieux et sécuritaires.

La présente thèse s'inscrit dans le cadre des efforts de recherche de cette collaboration scientifique. *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), une plante médicinale très importante au Togo, mais aussi à travers le monde, a été choisie parmi les espèces-cibles du

CERFOPLAM. La thèse comporte deux axes de recherche distincts et complémentaires: l'un, plus théorique, est celui de l'écologie chimique de l'espèce et est abordé au chapitre 3; l'autre, plus appliqué, est l'ethnobotanique de la plante, abordée au chapitre 4. Ces deux études requérant la quantification de certains composés chimiques issus du métabolisme secondaire de la plante, une méthode d'analyse a dû être élaborée et fait l'objet du chapitre 2.

Cette thèse de maîtrise est donc divisée en quatre chapitres. Le premier est une introduction générale traitant des sujets abordés tout au long de la thèse. Les trois autres chapitres prennent la forme d'articles scientifiques. Chacun de ces trois articles sera soumis à une revue scientifique spécifique après l'acceptation de la présente thèse et l'approbation des coauteurs. Le français ou l'anglais est utilisé pour la rédaction des articles selon les exigences des revues désignées.

1. 1. ÉCOLOGIE CHIMIQUE

L'écologie chimique est un domaine d'étude qui traite de la variation qualitative et quantitative de certains composés chimiques dans l'environnement et de leur impact sur les différents niveaux trophiques. Le métabolisme secondaire fait opposition au métabolisme primaire qui assure les fonctions de croissance, d'entretien des cellules et des tissus ainsi que de reproduction. Bien que les animaux produisent une grande variété de métabolites secondaires, les plantes demeurent le sujet d'étude par excellence en écologie chimique vu l'immense diversité des métabolites secondaires qu'elles produisent, au delà de 20 000 ayant été découverts à ce jour (Harborne 1993).

Il est généralement admis que les métabolites secondaires des végétaux ont un rôle important à jouer dans leur résistance face à l'herbivorie (Fraenkel 1959, Swain 1977, Harbone 1989, 1990). De plus, leur grande diversité serait le résultat d'une longue relation de coévolution entre les végétaux et les herbivores (Ehrlich et Raven 1964, Berenbaum 1983, Williams 1989).

1. 1. 1. Théories récentes

On a observé depuis longtemps que certains facteurs biotiques (Rhoades et Cates 1976, Bernays et Graham 1988) et abiotiques (Bryant *et al.* 1983, Coley *et al.* 1985, Iason et Hester 1993) semblent avoir une influence sur la variation qualitative et quantitative de ces composés de défense. Durant les 20 dernières années, plusieurs hypothèses ont

été proposées afin de comprendre ces variations (Feeny 1976, Rhoades et Cates 1976, Bryant *et al.* 1983, Coley *et al.* 1985, Tuomi *et al.* 1990, Herms et Mattson 1992).

Deux théories mettent en relief l'importance du milieu abiotique. Celle de l'équilibre carbone/nutriment ("carbon/nutrient balance", CNB) a été proposée par Bryant, Chapin et Klein (1983). On y explique que, d'une part, dans un sol pauvre en nutriments, la croissance étant toujours plus affectée que la photosynthèse, les photosynthétats s'accumulent rapidement dans les tissus végétaux. La plante aura avantage à protéger ses "précieux" nutriments à l'aide de métabolites de défense carbonés, tels les phénols ou les terpènes. D'autre part, si la photosynthèse est grandement affectée par un manque de lumière, l'accumulation des photosynthétats en sera d'autant diminuée et, dans un milieu riche en nutriments, la croissance sera plus affectée que l'absorption des nutriments. La plante aura avantage à synthétiser des composés de défense azotés tels les alcaloïdes et les glycosides cyanogéniques, l'azote se trouvant en excès dans les tissus.

Ainsi, des conditions environnementales constantes influenceront à long terme le génotype des espèces végétales s'y retrouvant. Cependant, les variations abiotiques à l'intérieur d'un même milieu pourraient avoir également un effet sur le phénotype de la plante. Suivant le même raisonnement, une plante ayant une photosynthèse élevée et synthétisant ordinairement des composés de défense carbonés en produira donc davantage si le sol est pauvre. Par contre, dans un milieu riche en nutriments, la croissance ne sera pas affectée et la plante n'aura pas ou peu besoin de se défendre chimiquement, puisqu'elle pourra tolérer une certaine herbivorie grâce à sa croissance excédentaire.

La deuxième théorie mettant l'emphasis sur le milieu abiotique est celle de la disponibilité des ressources avancée par Coley, Bryant et Chapin (1985). Ils avancent que l'investissement optimal dans la défense de la plante est inversement corrélé avec son

taux de croissance potentiel. Il y aurait donc un lien de causalité entre la croissance et les stratégies antiherbivores développées par la plante.

Cette hypothèse est appuyée par un modèle mathématique définissant le taux net de croissance d'une espèce comme une fonction des coûts inhérents à la défense de la plante et des profits acquis par une stratégie de protection efficace contre les herbivores. Ce modèle dépend cependant de la prémisse que les herbivores mis en cause consomment une quantité fixe de tissus végétaux plutôt qu'un pourcentage de la productivité de la plante.

Plusieurs expériences supportent ces deux théories. Un sol pauvre en azote favorise effectivement l'accumulation des composés allélochimiques carbonés chez certaines espèces (del Moral 1972, McKey *et al.* 1978, Reader 1979, Waring *et al.* 1985). Par exemple, l'asteracée *Heterotheca subaxillaris* croissant en sol limitant en azote possède une plus grande concentration foliaire en terpènes volatiles (Mihaliak *et al.* 1987). À l'opposé, un sol riche en azote (par fertilisation) augmente la concentration foliaire en azote et diminue l'accumulation des hydrates de carbone et/ou en phénols chez d'autres espèces, telles que *Salix aquatica* et *S. alaxensis* (Waring *et al.* 1985, Bryant 1987). Un environnement peu ensoleillé diminuant la photosynthèse favorise l'accumulation de l'azote dans les tissus végétaux et diminue drastiquement la concentration en hydrates de carbone et en phénols (Bryant 1987, Iason et Hester 1993).

Herms et Mattson (1992) mettent en parallèle les pressions biotiques et abiotiques dans leur théorie de l'équilibre croissance/différenciation ("growth-differentiation balance", GDB). Selon eux, la plante fait face à un dilemme puisqu'elle doit croître rapidement afin de bien compétitionner envers les autres plantes, et donc acquérir le plus de ressources

disponibles, et doit aussi investir dans son métabolisme secondaire afin de s'affranchir d'une pression d'herbivorie élevée.

Leur théorie est appuyée par un modèle mécanistique présentant les différents modèles d'allocation des ressources de la plante dans différents milieux. Leur modèle implique un choix exclusif: croître ou se défendre, ce qui définit l'herbivorie comme étant inversement corrélée à la compétition. Ces pressions biotiques sont mis en parallèle aux pressions abiotiques du milieu (conditions de croissance des végétaux) à la lumière de la théorie de l'allocation des ressources tel que décrit par Grime (1977) qui prédit que les capacités compétitives des plantes sont positivement liées à la disponibilité des ressources. Si celles-ci augmentent, la compétition surpassera l'herbivorie en importance et l'investissement dans la défense sera moindre.

Beaucoup d'expériences tentant de prouver ou de réfuter ces théories ont été effectuées dans des milieux boréaux ou tempérés (Davies *et al.* 1964, Bryant et Kuropat 1980, Shultz et Baldwin 1982, Redak et Cates 1984, Haukioja *et al.* 1985, Whitham et Mopper 1985, Iason et Hester 1993). Peu ont été faites en milieu tropical (Janzen 1966, Coley 1983, Kimura et Wada 1989), encore moins en Afrique (McKey *et al.* 1978). Ces théories sont peut-être préférentiellement applicables aux milieux plus tempérés. L'étude de l'écologie chimique d'une espèce tropicale présentée dans cette thèse constitue un exercice original quant à la validité de ces théories en milieu tropical.

1. 1. 2. Impact de l'écologie chimique sur la vie des humains

Les humains ont depuis longtemps tirés profit de cette lutte à la survie que mènent les végétaux. Les métabolites secondaires présentant une activité biologique contre les

herbivores sont très souvent ceux qui sont actifs au niveau pharmacologique (Johns 1990). Des preuves archéologiques révèlent une utilisation médicinale des végétaux depuis au moins 60 000 ans (Leroi-Gourhan 1975 voir Johns 1990). Aujourd'hui, on peut estimer qu'environ 25% des produits pharmaceutiques actuels sont des extraits végétaux ou des principes actifs isolés des plantes (Farnsworth *et al.* 1985).

L'utilisation médicinale des végétaux est une pratique quotidienne à travers la planète, particulièrement dans les pays en voie de développement. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS/WHO) estime que plus de 80% de la population mondiale en dépendrait. L'inaccessibilité et le coût élevé des médicaments "occidentaux" de synthèse influencent à coup sûr cette situation. Mais, plus encore, le respect des traditions et la confiance des gens envers les phytomédicaments et les ethnomédecins favorisent cette utilisation courante (Iwu 1993).

La grande majorité des connaissances en ethnomédecine sont issues d'un long processus d'apprentissage par essais et erreurs, et sont transmises d'un guérisseur à l'autre surtout oralement, du moins en Afrique. Ne s'improvise pas ethnomédecin qui le veut. L'ensemble des informations botaniques accumulées depuis des décennies, voir des siècles, comprend l'identification des espèces, les techniques de récolte et de conservation, et les modes de préparation des phytomédicaments. Certaines espèces ont même été sélectionnées génétiquement afin d'obtenir un phytomédicament plus efficace. Le pavot, *Papaver somniferum* L., constitue un exemple intéressant. Les variétés productrices d'opium, sélectionnées comme médicament sédatif, contiennent une concentration élevée en morphine. Par contre, les variétés sélectionnées pour la production de graines de pavot, un aliment commun en Inde, contiennent une très faible concentration de ce même alcaloïde (Johns 1990).

Les ethnomédecins, à travers tout ce bagage d'informations, possèdent fort probablement des connaissances traditionnelles sur l'écologie chimique des végétaux. Si la synthèse de certains produits allélochimiques est prévisible en fonction des conditions environnementales, il est tout à fait plausible que ces variations puissent avoir été observées et intégrées à travers le temps et qu'elles soient utilisées à ce jour. Ces connaissances écologiques devraient surtout avoir influencé l'étape où l'ethnomédecin est en contact direct avec l'environnement, c.-à-d. la récolte des plantes servant à la fabrication des phytomédicaments. C'est pourquoi la présente étude se penchera, entre autres, sur les critères de récolte de certains ethnomédecins togolais et leurs liens avec la composition chimique d'une plante médicinale populaire au Togo, *Momordica charantia* L.

1. 2. ETHNOBOTANIQUE

On constate, dans la littérature scientifique, que la majorité des études ethnobotaniques s'intéresse principalement à l'aspect médicinal des plantes utilisées traditionnellement par certains peuples. Par définition, l'ethnobotanique se penche sur tous les emplois traditionnels possibles et aussi, par extension, sur la perception qu'ont les peuples de ces espèces et de la végétation en général. Les botanistes et, plus précisément, les taxonomistes, écologistes et phytochimistes, prédominent dans ce domaine, mais nombreux également sont les anthropologues, les linguistes et les gestionnaires des ressources naturelles (Martin 1995).

Les chercheurs oeuvrant en ethnobotanique s'intéressent à la perception de la connaissance culturelle et scientifique par des populations locales; en bref, comment d'autres personnes qu'eux voient et comprennent le monde (Martin 1995). Ce préfixe, "ethno", et d'autres termes tels "ethnies", "tribus", "traditionnel", "habitant", "local", peuvent parfois être perçus comme ayant une connotation péjorative à cause de leur utilisation dans d'autres contextes. Ces termes sont couramment employés en ethnobotanique, sans préjugé et avec leur étymologie la plus stricte. Le savoir traditionnel est celui des peuples ayant un mode de vie non ou peu lié à l'industrialisation. Ce savoir découle de leur observation empirique de la nature et de la communication de ce savoir entre les membres de leur culture. Les habitants ou les populations locales représentent les personnes ou les groupes de personnes occupant le territoire d'un pays ou d'une région donnée. Dans le même ordre d'idée, Iwu (1993) explique de façon intéressante la différence entre la médecine (occidentale) et l'ethnomédecine (africaine):

“L'utilisation du mot “ethnomédecine” décrivant la médecine africaine implique effectivement un certain jugement de valeur; cela est correct et délibéré, l'idée étant de mettre l'emphasis sur le fait que la médecine occidentale n'est pas spécifiquement culturelle et que la médecine moderne orthodoxe est le produit de la synthèse ou, plus exactement, la fusion de plusieurs systèmes ethnomédicaux et développements scientifiques”.

1. 2. 1. Importance des études ethnobotaniques

Tant au niveau local que pour l'ensemble de la population mondiale, les études ethnobotaniques se révèlent d'une très grande importance. Face aux pressions naturellement assimilatrices des autres cultures les entourant, les traditions de peuples minoritaires sont toujours menacées. Cela ne veut pas dire que les peuples ayant un mode de vie traditionnel ne peuvent pas s'adapter et que leur culture est fixe, interchangeable. Au contraire, toute culture “en santé” doit faire preuve de dynamisme et d'adaptation. Cependant, la rapidité des changements affectant le monde actuel bouscule ces transformations et expédie trop facilement les anciennes habitudes et connaissances aux oubliettes. De plus, à la suite d'un développement soutenu, la disparition graduelle, mais constante, de plusieurs écosystèmes et l'uniformisation des habitats accélèrent cette perte des connaissances traditionnelles. Il est difficile de communiquer aux siens l'utilisation d'une plante qui n'existe plus. Le simple fait de répertorier et, surtout, d'écrire toutes ces connaissances traditionnelles permettront à ces différentes cultures, souvent de traditions orales, de survivre; au mieux, concrètement, au moins, à l'Histoire.

Les études ethnobotaniques servent surtout à la communauté étudiée. En connaissant mieux comment leurs habitants utilisent la végétation, les autorités et organismes gérant les ressources naturelles, l'agriculture, la santé et le développement d'un

pays peuvent sûrement mieux évaluer les besoins de leur population. Par exemple, certaines études en botanique économique s'intéressent à la gestion des ressources naturelles (Balick et Mendelsohn 1991). Celles-ci tentent d'estimer les rendements économiques de la strate arborée comme source de bois d'oeuvre, mais aussi d'autres matières forestières exploitables par certaines populations locales. Ces études donnent plus de poids aux différentes mesures de conservation et de développement durable, afin que ces populations puissent conserver une certaine autonomie. D'autres types d'études visent l'amélioration du système de santé d'un pays. Le partenariat entre l'Université du Bénin à Lomé et l'Université d'Ottawa mentionné plus tôt en est un parfait exemple. Dans les Caraïbes, un projet similaire nommé TRAMIL est en cours depuis 1983 et semble donner de très bons résultats (Weniger 1991, Martin 1995).

La possibilité de découvrir de nouvelles substances pharmacologiques actives constitue un moteur important pour de nombreuses recherches ethnobotaniques. L'extraordinaire biodiversité des espèces végétales et celle, encore plus grande, de leur composés secondaires sont une source inépuisable de découvertes scientifiques. Cette infinité de possibilités peut cependant s'avérer une véritable loterie pour les phytochimistes recherchant des composés d'activité particulière (Balick 1990). Les connaissances empiriques des différents systèmes d'ethnomédecine, souvent accumulées au cours de dizaines et même de certaines d'années, sont une source d'information non négligeables et peuvent aider, entre autres, à réduire significativement le temps et l'énergie consacrés à la recherche de principes actifs (Trotter *et al.* 1983, Labadie *et al.* 1989, Grosvenor *et al.* 1995, Leaman 1996).

Les études ethnobotaniques et les analyses scientifiques qui en découlent peuvent être perçues comme une volonté d'approuver ou de désapprouver les connaissances traditionnelles en utilisant des critères occidentaux. Les risques de juger les choses hors

contexte sont effectivement élevés, mais le chercheur "étranger" a l'avantage de pouvoir observer les faits de façon plus objective. C'est pourquoi il est important que les études ethnobotaniques se fassent en collaboration avec les chercheurs nationaux, les ethnomédecins et les autorités locales et, si possible, au sein de projets à moyen et à long termes, toujours dans le but d'améliorer la qualité de vie de la population. Une fois de plus, les écrits de Iwu (1993), un médecin africain, parlent franchement:

"Il existe un besoin d'étude et d'analyse des méthodes traditionnelles de guérison par la médecine moderne orthodoxe et une réorientation de l'ethnomédecin afin qu'il réalise ses propres limites et qu'il bénéficie des connaissances d'autres cultures et civilisations".

1. 2. 2. Importance de l'approche anthropologique

Bien que des analyses scientifiques poussées (phytochimie, pharmacognosie, taxonomie, etc.), soient essentielles à une meilleure compréhension des utilisations traditionnelles des phytomédicaments, des résultats jugés "négatifs" ou "non significatifs" ne doivent pas automatiquement mener à la conclusion que les connaissances traditionnelles étudiées sont non fondées. L'approche anthropologique est en ce sens primordial (Martin 1995). Des erreurs linguistiques ou culturelles au niveau de l'entrevue ethnobotanique, une mauvaise identification de l'espèce, l'omission des méthodes de récolte ou de préparation du phytomédicament, peuvent expliquer en partie certains résultats moins probants.

Même si ces problèmes sont résolus et que le phytomédicament est véritablement inefficace contre la pathologie mentionnée, tout l'aspect psychothérapeutique ne peut être mis de côté, c.-à-d. l'effet positif de suggestivité du thérapeute et de réceptivité du patient (Moerman 1979). Certains l'appelleront "effet placebo", mais cette problématique est

beaucoup plus large. En effet, dans toutes les systèmes de santé, peu importe le niveau de développement industriel et social de la population, l'impact psychothérapeutique est toujours considérable. Certains l'ont chiffré jusqu'à 60% des effets positifs observés en "Occident" (Frank 1975). La réalité se situe probablement entre 20% à 40%, selon les pathologies traitées, ce qui demeure un pourcentage considérable (Materson 1990, McQuay *et al.* 1996, Ilnyckyj 1997). Ainsi, une partie de l'efficacité de tout traitement réside en la confiance du patient envers les soins et, nécessairement, envers le médecin traitant. Tous les médecins, modernes ou traditionnels, doivent avoir confiance en leurs méthodes de traitement s'ils veulent guérir leurs patients. Aucune culture n'échappe à la règle. Les ethnomédecins peuvent donc parfois utiliser des phytomédicaments non efficaces ou prononcer des incantations qui nous semblent superflues, mais leur utilisation peut quand même favoriser la guérison du patient, ce qui est, de toute façon, le but ultime de leur profession (Iwu 1993).

1. 2. 3. Études ethnobotaniques qualitatives et quantitatives

Les ethnobotanistes décrivent depuis longtemps les différentes utilisations des espèces végétales à l'intérieur des nombreux systèmes de médecine traditionnelle présents à travers le monde. Certaines études qualitatives représentent bien l'époque florissante du naturalisme (Descourtilz 1829, Dymock 1891, Kirtikar 1918, Burkill 1935). L'accent est mis sur la quantité d'informations recueillies, puisque chaque donnée constitue en elle-même une découverte, n'ayant jamais été divulguée à la communauté scientifique. Le grand volume d'informations recensées n'enlève rien à la précision de l'identification des espèces et à la véracité des faits. Ces études qualitatives sont très courantes dans la littérature scientifique ethnobotanique et sont toujours effectuées et publiées de nos jours,

certaines constituant d'excellents ouvrages exhaustifs (Stimson 1971, Wong 1976, Halberstein et Saunders 1978, Singh 1986, Le Grand 1989, Giron *et al.* 1991).

Depuis une dizaine d'années, plusieurs ethnobotanistes ont souligné l'importance d'effectuer davantage d'études quantitatives dans le domaine (Trotter et Logan 1986, Etkin 1988, Johns *et al.* 1990, Phillips et Gentry 1993). On remarque principalement que peu d'hypothèses aient été testées explicitement et que les résultats ethnobotaniques sont difficiles à répliquer et, donc, à comparer scientifiquement. Les études qualitatives tiennent rarement compte du nombre d'informateurs et de l'importance donnée aux espèces. De plus, il y a très peu d'uniformité quant aux méthodes de cueillette de l'information et de son analyse.

Plusieurs modèles et approches ont ainsi été proposés afin de mieux quantifier les données ethnobotaniques. Les méthodes dites "de consensus" tentent de quantifier l'utilisation courante d'un phytomédicament envers une pathologie particulière, le plus souvent à l'intérieur d'une même communauté ou d'un même peuple (Trotter et Logan 1986, Johns *et al.* 1990). La "comparaison interculturelle" est une autre méthode de consensus s'appuyant sur l'hypothèse suivante: si des populations culturellement et géographiquement distinctes, ayant accès aux mêmes espèces, utilisent celles-ci de façon similaire, ce parallèle doit impliquer une certaine activité biologique (Bye 1986, Trotter et Logan 1986, Johns *et al.* 1990). Dans le même ordre d'idée, la "persistance historique" suppose qu'une espèce employée dans le passé comme dans le présent contre une pathologie particulière présente probablement une efficacité biologique réelle.

Sans contredit, les études qualitatives et quantitatives sont toutes deux importantes et nécessaires, chacune apportant des informations complémentaires. Cependant, peu importe l'approche choisie, la plupart des études ethnobotaniques se penchent

simultanément sur plusieurs espèces végétales et ne permettent pas de recenser ou de publier beaucoup d'informations à propos de chaque espèce. Certaines monographies comblent bien cette lacune (Morton 1966, Anonyme 1989, Walters et Decker-Walters 1988, Yang et Walters 1992). Le présent ouvrage tentera de présenter différents aspects d'une espèce pantropicale commune, très utilisée à travers le monde. Les deux approches de recherche, qualitatives et quantitatives, seront explorées afin d'élucider différentes questions.

1. 3. *Momordica charantia* L.

1. 3. 1. Botanique et distribution

Momordica charantia L. est une herbacée annuelle à croissance rapide qui rampe sur le sol ou grimpe à n'importe quel support grâce à ses vrilles axillaires (Cogniaux 1881; appendice 1a). Espèce monoïque, elle possède des fleurs jaunes pentamères typiques de la famille des Cucurbitacées (Smith 1977). Les fleurs mâles solitaires apparaissent normalement avant les fleurs femelles et on peut les distinguer de celles-ci par la bractée foliacée se trouvant au milieu du pédoncule. La pollinisation est entomophile (Baniakina et al. 1993).

Les feuilles alternes 5-7-palmées (3-8 cm) présentent des lobes grossièrement dentées et sont cordées à la base. D'un vert clair intense, les feuilles ainsi que les tiges sont poilues et elles dégagent une forte odeur amère lorsqu'elles sont écrasées ou coupées (Baniakina et al. 1993). L'amertume est causée par la présence de momordicines, des triterpènes glycosidiques du groupe des cucurbitanes (Yasuda et al. 1984; Chandravadana 1987). Ces momordicines sont les composés secondaires étudiés dans la présente thèse (appendice 2).

Le fruit, un pépon, est couvert de petites protubérances formant des lignes longitudinales joignant les extrémités du fruit (appendice 1b). À maturité, le péricarpe orange se fend en trois parties à son extrémité distale. Apparaissent alors les graines dont le dur épicarpe est couvert d'un arille collant, sucré et d'un rouge carmin.

Espèce pantropicale, *M. charantia* se retrouve surtout en Afrique de l'Ouest, en Asie et en Océanie (Chakravarty 1959). Elle est aussi présente en Amérique Centrale et dans quelques pays de l'Amérique du Sud, voir même en Floride (Am. du Nord). L'espèce aurait été introduite au Nouveau-Monde il y a près de 500 ans lors du trafic d'esclaves en provenance de l'Afrique (Cogniaux et Harms 1924). *Momordica charantia* serait aussi cultivée comme plante ornementale en Europe (Morton 1966).

Le milieu naturel de *M. charantia* est une zone boisée de la forêt tropicale humide ou semi-humide (Burkill 1985). Cependant, la plante pousse très facilement dans toutes sortes de milieux en autant que l'humidité du sol soit suffisante. Une bonne fertilité du sol favorise une croissance abondante (Chakravarty 1968).

1. 3. 2. Diversité génétique et agriculture

L'origine biogéographique de l'espèce est incertaine, mais pourrait être l'Afrique vu le nombre élevé d'espèces de *Momordica* retrouvées en Afrique comparé à celles présentes en Asie (environ 50 vs 12; Williams et Ng 1976). *Momordica charantia* var. *abbreviata* Ser. est considérée comme la forme "sauvage" de l'espèce (Appendice 1b). Ses feuilles sont plus petites, ses lobes plus étroits et ses fruits plus petits, comparés aux autres variétés (Cogniaux 1881). Toutefois, il y aurait deux formes "sauvages" en Afrique de l'Ouest et les deux seraient cultivées (Roberty 1954).

On distingue, d'autre part, plusieurs variétés horticoles de *M. charantia* produisant généralement des fruits plus gros et moins amers (Chakravarty 1959). Les régions de l'Inde orientale et de la Chine septentrionale ont été suggérées comme centre de domestication (Walters et Decker-Walters 1988; Yang et Walters 1992). On y cultiverait

Momordica charantia depuis plus de 500 ans. Tout comme en Amérique centrale, on y consomme le fruit vert comme légume dans la cuisine locale. La préparation du fruit (trempage dans l'eau salée, blanchiment à l'eau bouillante, dégorgement) aide à réduire l'amertume du fruit, sans l'annihiler (Morton 1966).

Les flores tropicales décrivant l'espèce ou les inventaires mentionnant son utilisation traditionnelle par différents peuples précisent très rarement la variété de *M. charantia*. Ces imprécisions pourraient mener à des erreurs ou malentendus au niveau de l'étude de l'activité biologique de la plante ou de sa composition chimique.

1. 3. 3. Utilisations traditionnelles courantes

La distribution pantropicale de *M. charantia* explique en partie sa vaste et courante utilisation à travers le monde en tant que phytomédicament traditionnel. Les quatre continents traversés par les tropiques sont représentés dans la littérature scientifique ethnobotanique de cette espèce (NAPRALERT 1995). Peu importe le continent impliqué, les feuilles semblent autant utilisées que les fruits, quoique la culture horticole des fruits de *M. charantia* en Asie favorise l'utilisation préférentielle de cette partie de la plante. Les racines et les graines sont beaucoup moins utilisées.

Les utilisations traditionnelles de l'espèce sont surtout liées aux très divers problèmes de peau (infections parasitaires, galle, brûlures, hémorroïdes), aux troubles gastro-intestinaux (indigestions, maux de ventre, constipation, diarrhée, vers intestinaux), à certains cas liés à la gynécologie (avortement, contrôle des naissances, accouchement, dysménorrhée), à la fièvre, liée ou non au paludisme, et au traitement du diabète. Ces utilisations traditionnelles mondiales seront abordées dans l'introduction du chapitre 4.

1. 3. 4. Activités biologiques testées

L'utilisation courante de *M. charantia* dans plusieurs pays a suscité un grand intérêt scientifique envers cette plante. Des études de composition chimique et d'activités biologiques et pharmacologiques ont été entreprises dans plusieurs pays, ceux d'Asie constituant le pôle de recherche le plus important, particulièrement en ce qui a trait à l'activité antidiabétique et hypoglycémiante de la plante.

Les activités biologiques de cette espèce seront abordées lors de la discussion des résultats du chapitre 4. Les domaines de recherche importants sont les activités antitumorale, antibiotique, abortive, antidiabétique et hypoglycémiante (Morton 1966, Anonyme 1989, Hussain et Deeni 1991, Cunnick et Takemoto 1993, Marles et Farnsworth 1995, Raman et Lau 1996).

CHAPITRE 2

“HPLC METHODS AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF MOMORDICINS I AND II IN *Momordica charantia* L.”

2. 1. INTRODUCTION

The pantropical bitter gourd *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) has been widely studied for its utilization as a traditional phytomedicine (Bailey and Day 1989, Marles and Farnsworth 1995). In Asia, it is often used for the treatment of diabetes (Raman and Lau 1996). In Africa, the plant is a major medicinal plant used against several skin afflictions and gastro-intestinal problems and also as an abortifacient (Abbiw 1990). Some biological activities such as antiviral (Witkowski and Konopa 1981), antibacterial (Meir and Yaniv 1985, Hussain and Deeni 1991), anthelmintic (Sharma and Trivedi 1994), antidiabetic effects (Welihinda *et al.* 1986) and insect feeding deterrence (Sharma and Hall 1973, Chandravadana 1987, Yasui *et al.* 1998) have been demonstrated in this species.

The majority of the research reported on the biological activity of *M. charantia* has dealt with the unripe fruit which is consumed in Asia. Fewer investigations have focused on leaves and stems which are of interest in African traditional medicine (Anonymous 1989, Abbiw 1990). Momordicins are located in these plant parts (Yasuda *et al.* 1984, Fatope *et al.* 1990).

Momordicins I and II are oxygenated tetracyclic triterpenoids (Appendix 2) that have been identified by Yasuda and colleagues (1984). They are closely related to cucurbitacins, very bitter compounds characteristic of the Cucurbitaceae (Guha and Sen 1975). Momordicin II, the 23-O- β -glucopyranoside of 3,7,23-trihydroxycucurbita-5,24-dien-19-al, is thought to be more biologically active than momordicin I, the aglycone of momordicin II (Chandravadana 1987, Yasui *et al.* 1998). Momordicins are repellent to

many insects in the same way that cucurbitacins are (daCosta and Jones 1971, Tallamy 1985). However, unlike cucurbitacins which strongly attract cucumber beetles, momordicins are still very repellent to these pests of Cucurbitaceae plants (Sharma and Hall 1973, Chandravadana 1987).

Very few studies have attempted to separate and quantify momordicins (Yasuda *et al.* 1984, Chandravadana 1987, Fatope *et al.* 1990, Yasui *et al.* 1998) and no gradient HPLC method is available. We report here a fast, reliable gradient HPLC method developed for analyses of plants collected in Togo (West Africa) and the results of determination for 50 representative accessions from this area.

2. 2. EXPERIMENTAL

2. 2. 1. Plant Collection

Plants of *M. charantia* were collected from many localities in Togo, between latitudes 6°13'N to 11°07'N and between longitudes 0°07'W to 1°47'E (Appendix 3). The area covered 5 ecological zones (Em, 1979). As it is a major medicinal plant, the search method consisted mostly of asking local people if they knew that plant, by naming its vernacular name or by showing fresh or dry specimens. The majority of collecting sites were near homes since people grew them for medicinal purposes.

Fresh leaves and stems were weighed (50.0 g) on the spot and put in a polyethylene bottle containing 125 ml EtOH 95%. Specimens of the plant, usually three per site, were dried in a press for future species identification and observation of the morphotype. Occasionally, some fruits and roots were also harvested and placed in ethanol. Voucher specimens of the plant were deposited at the herbarium of Agriculture and Agri-food Canada (DAO) and the herbarium of the University of Ottawa (OTT), both in Ottawa, Canada.

2. 2. 2. Momordicin Extraction

Each ethanol extract was filtered and vacuum-evaporated at 40°C (Rotavapor, Büchi) and the excess of water withdrawn by freeze-drying for at least 24 hours. The dry extract formed a crystalized dark powder that was scraped out, weighed and stored in a glass

bottle at 4°C. The plant material left in the polyethylene bottle was taken out and completely dried at 70°C for at least 24 hrs, then weighed.

To prepare extracts for HPLC analysis, the freeze-dried extract (100 mg) was dissolved twice in 80% MeOH (2 x 10 ml) and allowed to stand in a 50°C water bath (2 x 30 min.) with shaking at intervals. After gravimetric filtration through Whatman paper filter #1, the combined methanolic extracts were evaporated to dryness and the residue scraped and dissolved in 8 ml of a mixture of HPLC-grade methanol and acetonitrile (1:1). After a 2 minute microcentrifugation, the solution was filtered through a PTFE syringe filter (0.45 µm) and kept refrigerated in a glass vial. A 5 µl sample of this filtered solution was injected in the HPLC system and analysed. Results of HPLC extracts prepared up to 6 months in advance showed no degradation of the compounds of interest.

A more rapid approach for analysis was evaluated using the following. One ml of the basic ethanolic extract of the plant was put in a 1.5 ml microtube and allowed to evaporate for two days under a fumehood in order to concentrate the final solution. One ml of a mixture of HPLC-grade methanol and acetonitrile (1:1) was added to the tube. After a 2 minute microcentrifugation, the solution was filtered through a 0.45 µm PTFE syringe filter. This solution was injected in the HPLC system and analysed. Results were similar to those obtained via the method described before. This method was simpler and faster, but recovery was slightly lower. This method was only used for the greenhouse study presented in Chapter 3.

2.2.3. HPLC analysis

The chromatographic system consisted of a Beckman System Gold, equipped with a solvent delivery system, Module 126, a photodiode array detection system, Module 168, and an auto-sampler, Module 502, with a 5 μ l sample loop (Beckman Instruments Inc., CA). An IBM compatible computer equipped with System GOLD software was used for data processing and chromatographic analysis. The instrument was certified by the manufacturers for analytical performance semiannually.

HPLC analyses were performed with a LichroSpher® RP-18e column (125 mm x 4 mm i.d., 3 μ m), fitted with a LichroSpher® RP-18e precolumn (4 mm x 4 mm i.d., 5 μ m). The mobile phase consisted of H₂O (A) and MeCN (B) flowing at a rate of 1.5 ml/min. Momordicins were eluted with a solvent gradient of 30%B to 50%B in 10 minutes, then 50%B to 80%B in 5 minutes. The column was flushed with 80% B for 5 minutes, returned to initial conditions in 1 minute and re-equilibrated for 9 minutes with 30% B. Detection of momordicins was achieved at 205 nm. Primary data are presented in the last three columns of Appendix 4.

Linearity was assessed by injecting standard solutions of momordicins I and II in a concentration range of 60 μ g to 960 μ g/ml.

2. 2. 4. Standards

Momordicin I was obtained from Dr. H. Okabe (Fukuoka University, Japan). Momordicin II was isolated at the National Institute of Sericultural and Entomological Science, Japan (Yasui *et al.* 1998). Momordicin I and II were prepared as pure standards at concentrations of 10-1000 μ g/ml in methanol. Analysis based on peak area (AU) were

performed and the response factors were continuously updated by bracketing standard mixture between a number of sample runs.

2. 2. 5. Recovery of momordicins

Replicate analyses were performed to assess recovery of momordicin I and II standards. Two equal weights of a particular freeze-dried extract were taken and one of the standard momordicins added to one of these. Analysis of the neat extract was followed by analysis of the standard containing extract. Recovery was determined from the difference between the total momordicins concentration (including added standard) and the detected momordicins (without the standard).

2. 3. RESULTS AND DISCUSSION

With the HPLC methodology developed, momordicin II had a retention time of 8 minutes (Figure 2.1a). Momordicin I which is less polar because of the lack of a glucose at C23 has a longer retention time of 14 minutes. Minor amounts of impurities found in the standards represented less than 5% and do not interfere with the momordicin peaks.

The linearity of the method was determined by plotting peak area against concentration in the range of 60 µg/ml to 960 µg/ml of momordicins (Figure 2.2). The correlation coefficient, R^2 , was 0.99 for both momordicins I and II. Method precision gave 15.83% RSD (relative standard deviation) for momordicin I and 10.02% RSD for momordicin II. Recovery was approximately 56% for momordicin I and 68% for momordicin II (Table 2.1).

In examining all the *M. charantia* leaf and stem samples collected in Togo, it was observed that field results range from 1.47 to 37.5 mg of total momordicins per g of dry plant or 0.15 to 3.75% (w/dry w) with a mean of 12.68 mg/g (SE = 0.16 mg/g) (Table 2.2). Individual momordicins are found in different proportions: average of 0.59% (w/dry w) of momordicin I ($X = 5.87$ mg/g, SD = 3.94 mg/g) and 0.68% (w/dry w) of momordicin II ($X = 6.82$ mg/g, SD = 7.98 mg/g). Another study found lower concentrations: 0.04% of momordicin I and 0.19% of momordicin II in dry plant of *M. charantia* L. collected in Nigeria (Fatope *et al.* 1990). When calculated per gram of freeze-dried extract, the range of momordicin concentrations for the present study is 7.97 to 197 mg/g. To improve reliability of quantification in the few samples with very high momordicin contents, the sample should

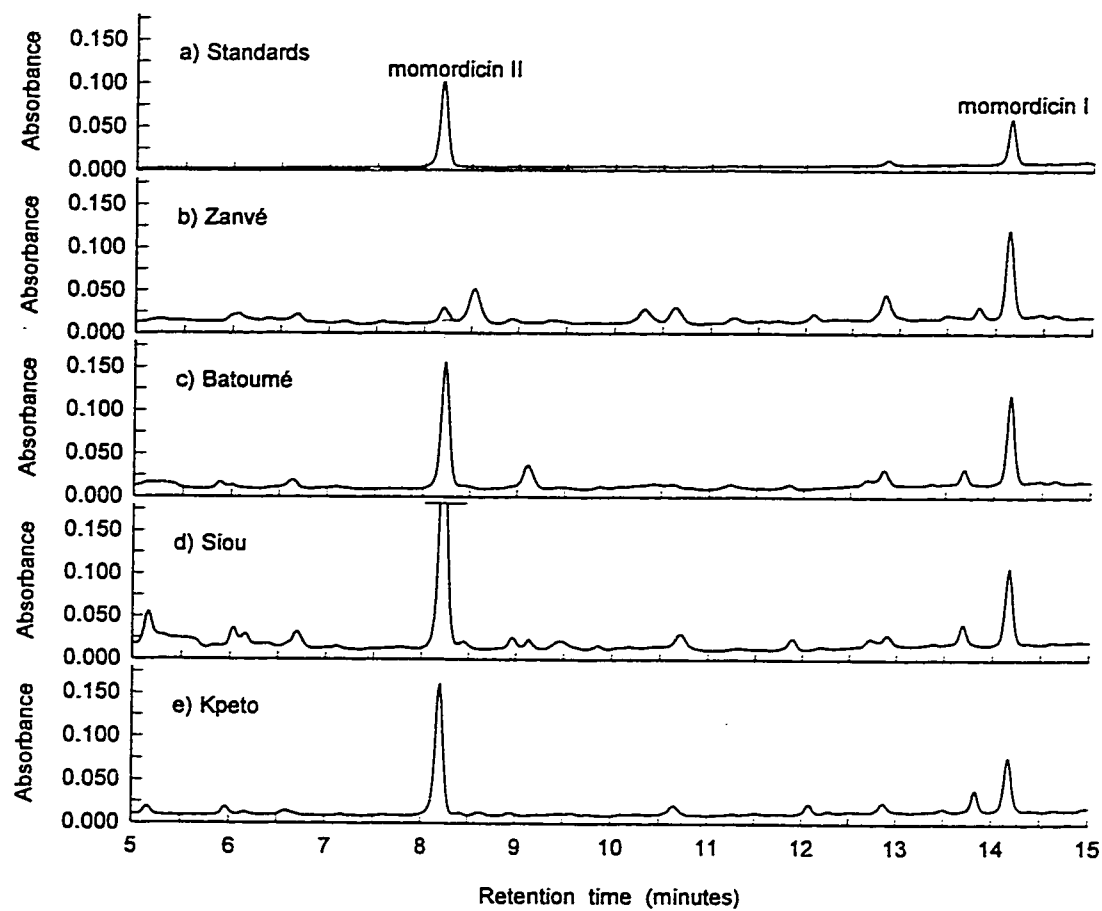


Figure 2.1. Representative chromatograms of *Momordica charantia* L. ethanolic extracts of leaves and stems from different locations (b-e) compared to standard of momordicin I & II (a). HPLC analysis was carried out on LichroSpher RP-18e column (125 mm x 4 mm i.d., 3 μ m), fitted with a LichroSpher RP-18e precolumn (4 mm x 4 mm i.d., 5 μ m), at a flow rate of 1.5 ml/min and using a gradient elution of H₂O:MeCN (30% of MeCN to 50% in 10 min., then 50% to 80% in 5 min.).

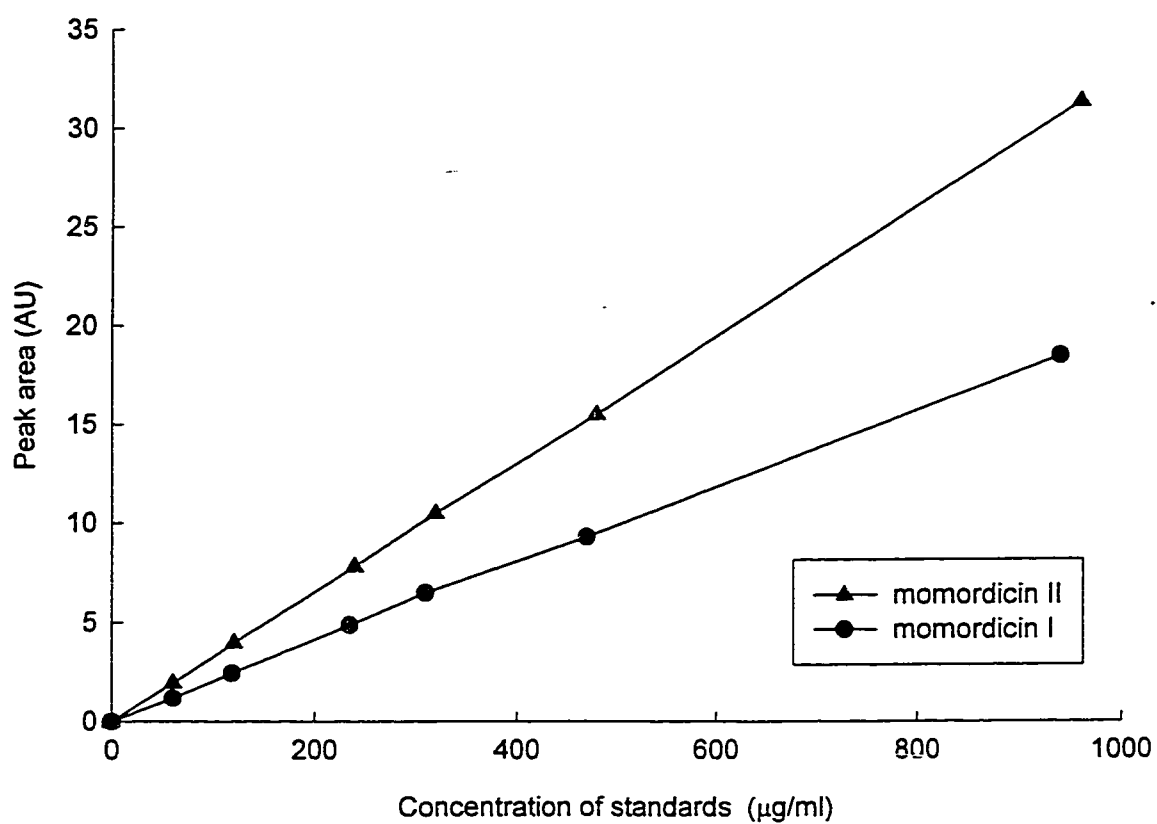


Figure 2.2. Linearity of HPLC response (peak area) to increasing concentrations of standards of momordicins I and II (µg/ml).

Table 2. 1. Recovery analysis of momordicins I and II from freeze-dried ethanolic extract of *Momordica charantia* L.

Added momordicin I or II ($\mu\text{g/ml}$)	Momordicin I determined ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	Momordicin II determined ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)
0.0	355	--	404	--
500	636	56.2	742	67.6

Table 2. 2. Descriptive statistics of momordicin concentrations in leaves and stems of *Momordica charantia* L. collected in West Africa from October 1996 to April 1997 between latitude 5°20'N and 11°07'N and longitude 1°23'W and 1°47'E.

Compound	Concentration (mg of momordicins/ g dry plant)				
	Mean	SD	Median	Range	n
momordicin I	5.87	3.94	4.98.	0.00 - 16.42	54
momordicin II	6.82	7.98	3.54	0.22 - 37.53	54
total momordicins	12.68	8.52	10.66	1.47 - 37.53	54

be diluted prior to HPLC analysis. Roots and ripe fruits of *M. charantia* showed no detectable levels of momordicin I or II.

The different locations show great variation in the momordicin content of *M. charantia* leaves and stems (Figure 2.1b-e). The sample collected in Zanvé (b), a village close to the coast, contains very little momordicin II which is usually predominant. However, the same sample contains large amounts of an unknown compound, eluting around 8 min. 30 sec., which was often been observed in several other samples. On the other hand, the plants collected in Siou (d), a northern village on the south side of the Atakora mountains, are very concentrated in momordicin II: 3.75 % w/dry w. Momordicin I concentration varied less between samples. It covaries with momordicin II concentration in a logarithmic way (see section 3. 3. 1. 6). When total momordicins in the sample do not exceed approximately 10 mg/g, the two compounds increase proportionally. At a higher total momordicin concentration, the relationship is no longer evident.

The HPLC method developed is suitable for further research or utilization of this plant in pharmacological research where confirmation of species identity and marker phytochemicals are desirable. Also, in agriculture, quantitative determination of the bitter principles is important for further studies on their feeding deterrence on pests.

CHAPITRE 3

“CHEMICAL ECOLOGY OF MOMORDICINS IN *Momordica charantia* L. FROM TOGO”

3. 1. INTRODUCTION

Secondary metabolites have an important role for the resistance of plants against herbivory and diseases. Within plant species, their presence in plants is not uniform through time and space. Biotic (Rhoades and Cates 1976, Bernays and Graham 1988) and abiotic factors (Bryant *et al.* 1983, Coley *et al.* 1985, Iason and Hester 1993) influence qualitatively and quantitatively the variation of defense compounds. During the last 20 years, many theories have been proposed in order to understand these variations (Feeny 1976, Rhoades and Cates 1976, Bryant *et al.* 1983, Coley *et al.* 1985, Tuomi *et al.* 1984, Herms et Mattson 1992).

3. 1. 1. Chemical ecology theories

The carbon/nutrient balance (CNB) hypothesis (Bryant *et al.* 1983) proposes that abiotic factors are a major determinant of secondary metabolite variation. Light and nutrient availability, in particular, greatly affect secondary metabolism. When carbon-based defense compounds are considered, their concentration in the plant should decrease if nutrient availability is high since plant growth will be favored to overcome competition. Secondary metabolite content in the plant should also be low in a low light regime since all photosynthates will mostly be allocated to primary metabolism (e.g. growth).

The resource availability theory (Coley *et al.* 1985) follows a similar concept to the CNB hypothesis, emphasizing that, generally, optimal investment in defense increases with decreasing potential growth rate of the plant.

The growth-differentiation balance (GDB) hypothesis (Herms and Mattson 1992) suggests that a plant with a fast growth rate can compete well to acquire more of the available resources without great investment in secondary metabolism, whereas a plant with a high level of cell differentiation has a very active secondary metabolism and can easily overcome herbivory. The plant allocation of photoassimilate would be a trade-off situation.

3. 1. 2. *Momordica charantia* L.

Momordica charantia L. is a cucurbit vine (Appendix 1) that grows naturally on the edge and in gaps of low land tropical forests, but can be found almost anywhere water and humidity are available (Burkill 1985). In a natural environment, it grows quickly at the beginning of the wet season, ahead of the tree leaves growing over it. The growth rate is very fast and flowers and fruits (pepo) appear very quickly, respectively around 20 and 40 days after germination, as it has been observed. They eventually die soon after the beginning of the dry season.

Momordica charantia is a pantropical species. Its centre of origin is not definitely known, but is possibly in Africa (Williams and Ng 1976). In West Africa, the plant is often sown near houses, mainly for use as a traditional medicine (Appendix 1c). The fruits are not consumed as vegetables as in Asia. Only the leafy stems are used as medicinals, mainly for skin problems, measles, chicken pox, stomach aches, anthelmintic and other gastro-

intestinal problems (Ayensu 1978, Burkill 1985, LeGrand 1989, Iwu 1993, Chapter 4 of the present thesis). The presence of *M. charantia* is often linked to human presence, but it cannot be concluded that the species is strictly cultivated. Wild populations still exist near forests and humid areas (Chakravarty 1968, Burkill 1985). It is very likely that genetic exchange occurs between the plants maintained by man and the wild population.

3. 1. 3. Momordicins

Momordicins are the characteristic secondary compounds in the leaves of *M. charantia* (Yasuda *et al.* 1984; Appendix 2). They consist in three bitter triterpenoids and can be found in an amount of approximately 0.3% of the leaves fresh weight (Chandravadana 1987, Yasui *et al.* 1998). Momordicins II and III have a sugar conjugated to the isoprenoid tail that makes them more hydrophilic than momordicin I (the aglycone).

Most of Cucurbitaceae species contain cucurbitacins, triterpenoids structurally very similar to momordicins. These bitter cucurbitacins, accumulating in seeds, fruits, roots and leaves, are repellent to many insects (Chambliss and Jones 1966, daCosta 1971, Tallamy and Krischik 1989), but attractant to some Cucurbitaceae-specific pests, like *Diabrotica* spp. and *Aulacophora* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae; Sinha and Krishna 1970, Sharma and Hall 1973, Deheer and Tallamy 1991). The leaves of *M. charantia* do not contain cucurbitacins. However, they do contain momordicin II which is repellent to the same insects attracted by cucurbitacins (Sharma and Hall 1973, Chandravada 1987, Yasui *et al.* 1998). Little evidence of herbivory can be seen on leaves of this plant.

3. 1. 4. Objectives and hypotheses

Specimens of *M. charantia* were collected in the steep environmental gradient in Togo (West Africa) in order to observe the possible impact of environmental factors on the secondary metabolism of this plant, specifically momordicin content in leaves and stems. According to chemical ecology predictions (Bryant *et al.* 1983, Coley *et al.* 1985, Herms and Mattson 1992), it is hypothesized that the concentration of momordicins in *M. charantia* leaves should be negatively correlated with increasingly favorable conditions for growth, i.e. mesic conditions and soil richness. In addition, a greenhouse experiment in which seeds from different collection sites were grown in a constant environment was undertaken to assess possible genotypic effect on the variation of momordicin contents.

Previous studies have focussed mainly on nutrients and light as key environmental parameters. This is one of the first studies to examine the effect of water availability as an additional principal factor on the expression of secondary metabolism. Moreover, since very few chemical ecology studies have been conducted in the tropics, the study of an annual tropical species constitutes an important and original test of the chemical ecology theories' predictions.

3. 2. MATERIAL AND METHODS

3. 2. 1. Study site

Togo occupies an area of 56 000 km² in the middle of tropical West Africa between latitude 0°09'W and 1°48'E and longitude 6°07'N and 11°09'N (Appendix 3). It is bordered by Ghana to the west, Burkina Faso to the north, Bénin to the east and the Bight of Benin to the south. A low mountain range, the Atakora (max. altitude of 986 m at Mt Agou), which crosses the country from south-west to north-east greatly influences the climate and the physiognomy of the area (Lamouroux 1960).

Togo has been divided in 5 ecological zones (Em 1979). Each zone is numbered in an ascending way from pole to equator. Near Burkina Faso, zone 1 is a sudanese savanna composed mainly of grasses and isolated trees and bushes. Zone 2 is composed of savannas and patchy forests near rivers in the northern Atakora. Zone 3 is a dry highland of guinean savanna. Zone 4 is a mountainous forest area, typically dry tropical forest (semi-deciduous). Zone 5, on the coast, is composed of several distinct and localized environments (mangroves, beaches, lagoons, estuaries, etc.). This ensemble is also named humid savanna.

3. 2. 2. Climatological data

The "Service météorologique du Togo" in Lomé provided meteorological data of Togo's climate, mainly precipitation, potential evapotranspiration and temperature. After

computation, several climatological variables were available for the present study (Appendix 5).

For each of the 17 stations (data from 1982 to 1996):

- mean annual precipitation ("Tprecipitation") = $\sum_{12}$ mean monthly precipitation (1)

It is calculated by this formula due to missing data.

- coefficient of variation of mean monthly precipitation ("Vprecipitation")
= $\frac{\text{SD of mean monthly precipitations}}{\text{mean annual precipitations}}$ (2)

(Norcliffe 1982).

- number of dry months per year ("dry months", < 50mm rain), (3)
(Nieuwolt 1977).

For 7 climatological stations (at least one per ecological zone; data from 1982 to 1992):

- mean annual potential evapotranspiration ("PET") = $\sum_{12}$ mean monthly PET (4)

It is calculated by this formula due to missing data. PET was calculated with Penman formula (Swami 1973).

- mean monthly potential evapotranspiration at month of collection
("month PET") (5)

- coefficient of variation of mean monthly PET ("VPET")
= $\frac{\text{SD of mean monthly PET}}{\text{mean annual PET}}$, (6)

(Norcliffe 1982)

- mean annual water balance ("WB")

$$= \sum_{12} (\text{mean monthly precipitation} - \text{mean monthly PET}), \quad (7)$$

(Swami 1973).

And finally, for 5 climatological stations (data from 1982 to 1996):

- mean daily temperature ("temperature") (8)

- mean daily temperature at month of collection ("month temperature") (9)

The five ecological zones correspond more or less to the climatological variables as follows. Zones 1 and 2 have the longest dry season (6 and 5 months respectively) and are at that time greatly affected by the harmattan airstream that blows from the desert. Annual precipitation is low, but it rains more in zone 2 ($X=1260$ mm) than in zone 1 ($X=996$ mm) because of the proximity of the Atakora mountains. There are only 3 to 4 months in the year where the water balance is positive. The annual temperature is higher in zone 1 (28.7°C) than in zone 2 (27.2°C). In zone 3, the total precipitation is not so high ($X=1212$ mm), but there are only 4 dry months during the year, the same count for months of positive water balance. The mountainous region of zone 4 is the wettest ($X=1447$ mm) but there are still 4 dry months during the year, except in one station (2 months). The positive water balance is the highest (5 months) and the annual temperature is the lowest (26.5°C). The coastal region of zone 5 has the lowest precipitation of all zones ($X=893$ mm). This peculiar situation is the consequence of the climatic anomaly called the "Ghana dry belt" or "Dahomey gap", a semi-arid littoral region that spreads from Ghana to the western border of Nigeria. This anomaly is caused by specific wind and water currents (Trewartha 1981).

For the same reasons, zone 5 has an average of 5 dry months and only 1 positive water balance month during the year. The annual temperature (27.4°C) is similar to that of zone 2.

3. 2. 3. Collection of plants and environmental factors

In 54 sites in all zones in Togo, 50 g of shoots from several intertwined *M. charantia* plants were preserved immediately after collection in 95% ethanol. Ecological factors were noted upon collection: date and hour of harvest, presence of village in close proximity, light intensity available daily to the plant, abundance of the plant, intensity of herbivory; the three last factors being evaluated with a pre-established scale. The light intensity variable has 3 categories: "low" where physical obstacles make shade on the plant for several hours per day; "mid" where physical obstacles make shade 1 to 3 hours per day; "high": no physical obstacle. The factor of plant abundance has 3 categories: "low", few individual plants present; "mid", several individual plants covering about 1m²; "high", several individual plants covering much more than 1m². The intensity of herbivory variable has 5 categories: "0", no herbivory; "1", localized punctures in leaves; "2", generalized punctures in leaves; "3", generalized punctures in leaves and localized severely grazed leaves; "4": generalized severely grazed leaves.

A sample of topsoil was also collected for almost each site and kept in a plastic bag until it was possible to dry it by transferring the sample in a paper bag (often after several days). Three plants were pressed for further identification or observation. When possible, seeds were collected. Mature ones were selected, washed, dried and stored at approximately 4°C. Latitude, longitude and altitude were estimated from topographical maps of 1:200 000 (IGN-France 1980, 1986a&b, 1989a&b). Field collections were made from October 1996 to April 1997. Primary data are presented in Appendix 4.

3. 2. 4. Soil nitrogen analysis

Soil samples were analyzed for nitrate (NO_3^-), nitrite (NO_2^-) and ammonium (NH_4^+) content with the colorimetric determination method (Brenner 1965, Quinn *et al.* 1973) by Ms. V. Deslauriers at the laboratory of Dr. B. Ma at Agriculture and Agri-food Canada, Ottawa. Briefly, 10 g of soil sample were dissolved in 50 ml of 2 N potassium chloride (KCl) and shaken for 30 minutes at 160 oscillations per minute. After gravimetric filtration through Whatman #1 filter paper into a scintillation vial, the solution was analyzed with a Technicon auto-analyzer. Dilutions were made when necessary. The results are in μg of nitrite or ammonium per g of soil sample (Appendix 4).

Nitrate and ammonium are the nitrogen forms directly available to plants (Salisbury and Ross 1992). The method utilized did not quantify nitrate directly. It reduces nitrate to nitrite and then quantifies the total nitrite content (Brenner 1965, Quinn *et al.* 1973). The initial nitrite content is usually low (Salisbury and Ross 1992). The present soil samples were containing much more total nitrite (X: 52.17 $\mu\text{g/g}$, SD: 88.76 $\mu\text{g/g}$) than ammonium (X: 10.86 $\mu\text{g/g}$, SD: 10.22 $\mu\text{g/g}$) which is fairly normal (Franco and Munns 1982). The presence of ammonium is probably due to some anaerobic conditions that favored the ammonification of nitrate by bacteria (Rosswall 1982). Nitrite and ammonium concentrations were pooled together and this constitutes the "nitrogen" variable mentioned in this study.

3. 2. 5. Greenhouse experiment

Plants of *M. charantia* were grown in the Carleton University greenhouses from seeds harvested in Togo during plant collection. Seeds were first germinated in humidified vermiculite and kept in a growth chamber at 25°C and 70% RH for a 14 hrs-day

photoperiod. After 2 to 3 weeks, each 4th-leaf stage seedling was transferred to a 5" pot filled with Pro-mix™ and equipped with a stake. Because of the seed collection and also to the variable viability of seeds, only 16 Togolese sites were represented in this experiment with 1 to 6 replicates for each site. Pots were distributed between 4 columns and 12 rows (Appendix 6). Since the number of replicates per site was not constant, a typical latin square design could not be applied *per se*, but replicates were distributed in both dimensions as evenly as possible. The greenhouse environment was maintained at 22° to 30°C and 40% to 70% RH for a 14 hrs-day photoperiod. Plants were watered twice daily and incandescent light bulbs (300W) were used during darker days. Four *Nicotiana* sp. plants were distributed in the greenhouse as biological traps for white fly population control. This growth experiment was repeated twice with the same procedure with a minor change of only 7 rows of plants in the second trial.

After 30 days, plants were harvested. Total weight and total length of the aerial parts of the plant were measured. Five grams of selected leaves and stems were weighed and put in 25 ml of EtOH 95%. One shoot per plant was dried in press for further observation. Only plants with at least 2 replicates per site were used in the analyses, for a total of 45 plants in 11 collection sites.

3. 2. 6. Momordicin analysis

Extraction procedure, preparation of samples and HPLC methodology are described in detail in Chapter 2 of the present thesis. Separation and quantification of momordicins I and II were obtained via HPLC analysis. Briefly, momordicins were eluted with an acetonitrile-water gradient-solvent procedure utilizing a LichroSpher column (125 mm x 4 mm i.d., 3µm particles). Results are presented in mg of momordicins per g of dry plant

material. Momordicin III was not analyzed because of lack of standard. Ethanolic extracts from the greenhouse experiments were processed with the faster extraction technique. Dry plant weight was measured on 15 plants from greenhouse harvests and the correlation coefficient with fresh plant length was 0.79. Remaining greenhouse plants had their dry weight extrapolated from this relation.

3. 2. 7. Statistical analyses

All statistical analyses were performed with SYSTAT 7.0.1 for Windows. Momordicin and nitrogen concentrations were transformed to their natural logarithm. Because of null values, 5 units were added before to momordicin I values. The normality assumption was verified on all environmental variables with Lilliefors test. If not met, transformations were performed as follows: $\sqrt[4]{\text{precipitation}}$, $\sqrt[4]{\text{PET}}$, $\ln(\text{month PET})$, $\frac{1}{\text{WB}}$, $\sqrt[4]{\text{month TMP}}$, $\frac{1}{\text{latitude}}$,

$\sqrt{\text{altitude}}$, $(\text{total dry weight})^2$. Assumption of homoscedasticity was verified before accepting any analysis of variance (ANOVA) or regression (Sokal and Rohlf 1995). If those assumptions were not met, non-parametric analyses were used. Four levels of significance were used: * corresponds to $P < 0.05$, ** to $P < 0.01$, *** to $P < 0.001$, and when $0.05 < P < 0.1$, the results were considered marginally significant.

3. 3. RESULTS

Momordicin concentrations in leaves and stems of *M. charantia* were found to vary considerably between the 54 collecting sites. Results range from 0.15% to 3.75% (weight of momordicins on weight of dry plant), with a mean concentration of 12.69 mg/g (SD=8.52 mg/g). Basic statistics of momordicins I, II and total (i.e. I + II) are summarized in Table 2.2 (Chapter 2).

3. 3. 1. Phenotypic effects on momordicin contents

3. 3. 1. 1. Climatological factors

Variations in momordicin concentration can be partly explained by several climatological factors (Table 3.1). For momordicin I, the most significant relationship is its negative correlation with mean total potential evapotranspiration at month of collection ("month PET", $p=0.002$). It is also highly negatively correlated with mean annual precipitation ("precipitation") and annual water balance ("WB") ($p=0.039$ and $p=0.037$, respectively). However, the significant correlation with WB is mostly due to precipitation since the latter is part of the calculation of the former. The positive correlation of momordicin I with the coefficient of variation of mean monthly precipitation ("Vprecipitation") is marginally significant ($p=0.058$). Vprecipitation is a measure of the variability in precipitation throughout the year. It is highest in the savannas of North Togo and lowest in the mountain

Table 3. 1. Correlation between momordicin content in leaves and stems of *Momordica charantia* L. collected in Togo and some climatological, geographical and edaphic factors of the corresponding sites. Significance of correlations are given as *P<0.05, **P<0.01 and ***P<0.001. Pearson coefficients of determination (*r*) were calculated on natural logarithm of momordicin concentrations (mg/g dry plant). Some ecological factors had to be transformed (see section 3. 2. 7.).

Ecological factors	momordicin I	momordicin II	total momordicins
Climatological factors ¹² (n=53)	-		
precipitation	-0.285 *	0.252	-0.025
V precipitation	0.262	0.152	0.358 **
dry months	0.171	-0.046	0.147
PET	0.055	0.116	0.233
Month PET	-0.410 **	-0.205	-0.395 **
V PET	-0.186	0.319 *	0.197
water balance	-0.285 *	0.110	-0.160
temperature	0.173	-0.146	0.041
Month TMP	-0.121	-0.470 ***	-0.450 ***
Geographical factors (n=53)			
Latitude	-0.056	0.300 *	0.260
Longitude	0.256	0.191	0.295 *
Altitude	-0.220	0.306 *	0.068
Edaphic factors (n=49)			
Nitrogen content	-0.197	-0.178	-0.269

¹ Data from 1982 to 1996 for precipitation and temperature, 1982-1992 for PET; ² Variables are described in the text. Precipitation: mean annual precipitation (mm), Vprecipitation: coefficient of variation of mean monthly precipitation (mm), dry months: number of dry months per year (based on mean monthly precipitation < 50 mm), PET: mean annual potential evapotranspiration (mm), Month PET: mean total PET at the month of sample collection, VPET: coefficient of variation of mean monthly PET, Water balance: precipitation less PET, temperature: mean daily temperature, Month TMP: mean temperature at the month of sample collection.

where climate is more humid tropical (Appendix 5; Nieuwolt 1977). Hence, regions with higher annual precipitation have a lower $V_{\text{precipitation}}$ value ($r=-0.547$, $p<0.001$). It is also highly colinear with mean annual potential evapotranspiration ("PET"), mean daily temperature ("temperature") and altitude ($r=0.857$, $r=0.765$, $r=0.723$, respectively, all $p<0.001$).

Concentration in momordicin II is significantly related to two climatological factors (Table 3.1): a highly negative relationship with mean temperature at month of collection ("month TMP"; $p<0.001$) and a positive relationship with the coefficient of variation of mean monthly PET ("VPET"; $p=0.020$). It is related positively to precipitation, but marginally ($p=0.068$). VPET is a variable similar to $V_{\text{precipitation}}$ since it is a way of looking at PET variation throughout the year. It is highest in the savanna region because of great seasonal differences in solar radiation and temperature (Nieuwolt 1977) and also possibly because of the dry harmattan airstream that prevails during dry season (Griffiths 1969, Swami 1973). The coastal region has the lowest value of VPET probably because relatively cool and humid air current from the sea tempers the effect of the dry season (Nieuwolt 1977). VPET is highly colinear with PET, precipitation and $V_{\text{precipitation}}$ ($r=0.301$, $r=0.676$, $r=-0.450$, respectively, all $p<0.001$), also with latitude, longitude and altitude ($r=0.736$, $r=-0.410$, $r=0.563$, respectively, all $p<0.001$).

The concentration of total momordicins has a highly negative relationship with both month PET and month TMP ($p=0.003$ and $p<0.001$, respectively). Moreover, the positive relationship with $V_{\text{precipitation}}$ is also highly significant ($p=0.008$), while the correlation with PET is marginally significant ($p=0.093$).

It is interesting to note that 5 of the 9 climatological factors (precipitation, number of dry months, VPET, WB and temperature) have opposite relationships with momordicins I and II.

3. 3. 1. 2. Geographical factors

The variation in momordicin contents between collecting sites can partly be explained by their geographical location (Table 3.1). Momordicin II is more abundant in northern plants ($p=0.029$), but no differences are observed from west to east, while momordicin I content is marginally higher in the eastern plants ($p=0.064$), but constant in latitude. Hence, total momordicins are more concentrated in plants collected more north and east (latitude, $p=0.060$ and longitude, $p=0.032$). However, it should be stressed that because the collection of plants was made (unintentionally) in a northwest to southeast axis, latitude and longitude are negatively correlated to one another ($r=-0.491$, $p<0.001$, $n=53$).

Altitude is another factor where opposite tendencies are shown between momordicins I and II (Table 3.1), but only the positive relationship between momordicin II and altitude is significant ($p=0.026$). Altitude varies along with latitude and longitude ($r=0.493$ and $r=0.479$ respectively, $p<0.001$, $n=53$) and so with all factors mentioned earlier to be correlated with these two variables.

3. 3. 1. 3. Edaphic factors

Momordicin I and II concentrations in plants tend to decrease when soil samples of the corresponding collection sites contain more total nitrogen (Table 3.1). These negative

relationships are however not significant, but the correlation with total momordicins is marginally significant ($p=0.061$). The relationships of momordicins with nitrite or ammonium content show the same trends (data not shown) but the ones with total nitrogen are the closest from significance and are the only one presented.

Nitrogen content is higher in western soils, but there are no differences with varying latitude ($r=0.294$, $p=0.040$ and $r=0.143$, $p=0.327$, respectively). It is significantly related to some climatological factors like precipitation ($r=0.288$, $p=0.047$), $V_{\text{precipitation}}$ ($r=-0.372$, $p=0.009$) and month PET ($r=0.397$, $p=0.005$). Nitrogen content in samples is higher if collected when no village is present nearby (t-test $=-2.047$, $df=47$, $p=0.046$). It seems also that it increases from the end of the wet season (October-November) to the end of the dry season (March) ($r=0.434$, $p=0.005$). Moreover, topsoil samples from ecological zone #4 (semi-deciduous forest) contain more total nitrogen than samples from all other zones (Kruskal-Wallis: $\chi^2=12.207$, $df=4$, $p=0.016$). Finally, it was observed that *M. charantia* plants were not more abundant at collecting sites where total nitrogen is higher ($r=-0.040$, $p=0.806$).

3. 3. 1. 4. Ecological factors

Some environmental factors were noted upon collection of plants. Notably, *M. charantia* plants growing in different light intensity sites do not differ significantly in their momordicin concentrations (I, II and total, Table 3.2), but there is a positive tendency (Figure 3.1a) confirmed by the marginally significant linear regression between light intensity and total momordicins ($R^2=0.060$, $p=0.075$, $n=54$).

The month of harvest had an effect on the total momordicin concentrations ($p=0.008$),

Table 3. 2. Non-parametric analysis of variance of momordicin concentrations in leaves and stems of *Momordica charantia* L. collected in Togo with respect to ecological factors or physical aspects of the plants. Values of χ^2 from Kruskal-Wallis analysis are shown and significance is given as *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

Factors	Momordicin I	Momordicin II	Total momordicins	df	n
Light intensity	1.576	0.873	2.265	2	54
Date of harvest	8.337	8.122	13.922 **	4	51
Human presence	1.456	2.634	3.907 *	1	54
Plant abundance	1.664	0.091	1.246	2	54
Herbivory	8.282	5.142	4.175	4	43
Ecological zones	4.732	19.107 ***	17.734 ***	4	54

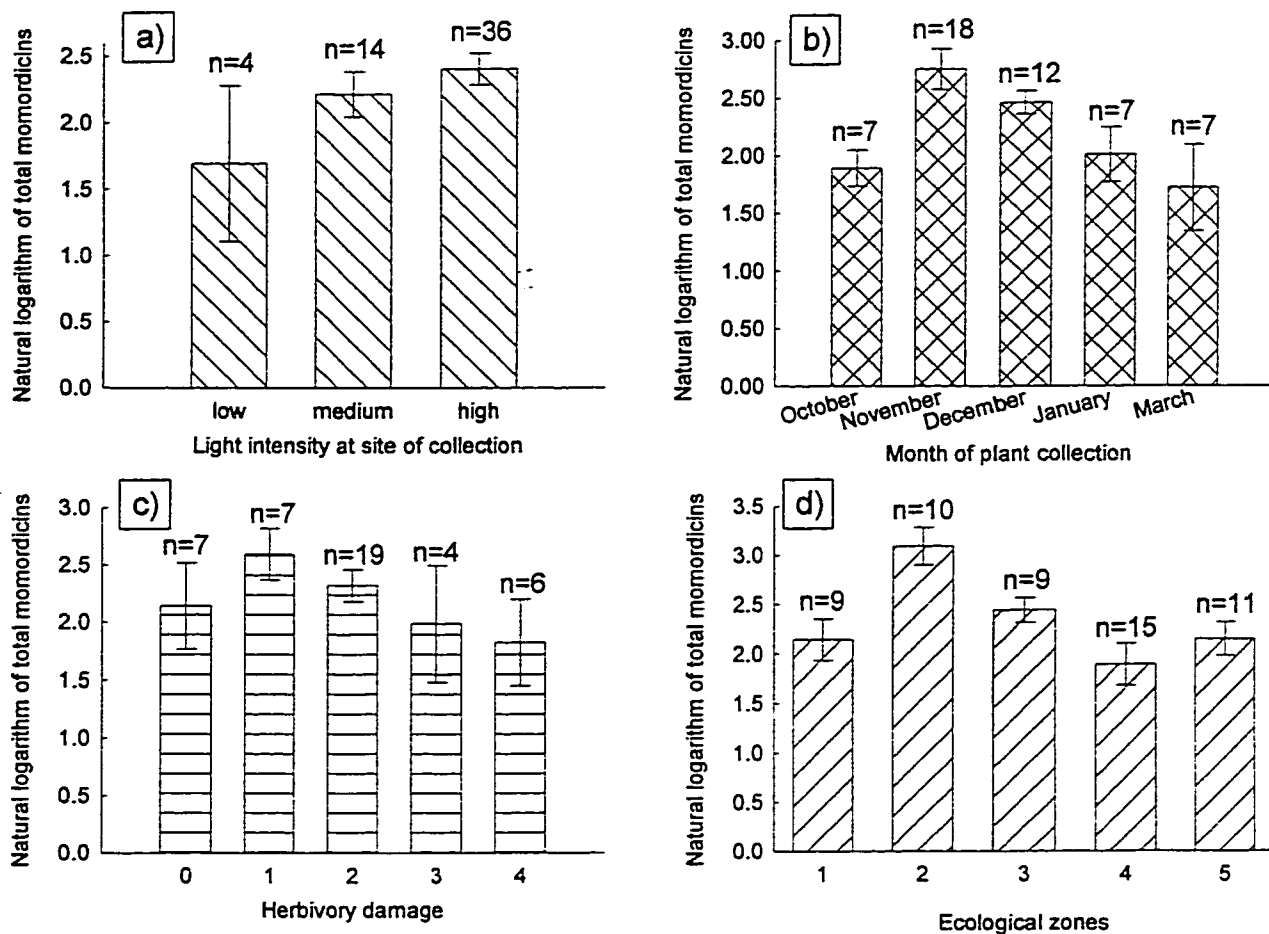


Figure 3.1. Concentration of total momordicins in leaves and stems of *Momordica charantia* L. from Togo according to ecological factors of the collecting sites. a) light intensity (qualitative variable), b) month of plant collection, c) herbivory damage on leaves (qualitative variable), d) ecological zones (Ern 1979). Error bars represent standard error of mean. Statistics are given in table 3.3.

November having a significantly higher concentration than the month of March (Table 3.2, Figure 3.1b).

The presence of a village near the collecting site is significantly correlated with total momordicin concentrations ($p=0.048$, Table 3.2) but not individual momordicins, although the trends are the same.

Some plant attributes, such as plant abundance and intensity of herbivory, were also noted upon collection. Neither present significant differences among their respective categories for momordicin concentrations (Table 3.2), although it seems there is a trend to higher herbivory damage in plants with lower total momordicin contents (Figure 3.1c), but the linear regression of this relationship is not significant ($R^2=0.034$, $p=0.240$, $n=43$).

Taken individually, some of the preceding factors (climatological, edaphic, geographical or ecological) do not reliably represent each collection site. A better way to look at the variation of momordicin contents could be the observation of differences between sites from distinct ecological zones (Em 1979). As mentioned earlier, these ecological classifications fit relatively well with the climatological data, although they are primarily determined by plant species composition. There is a significant difference among the 5 ecological zones in their mean of momordicin concentrations (Table 3.2). The plants of *M. charantia* found in zone 2, the savanna near the Atakora mountain chain, have more momordicins (II and total) than plants from other zones (Figure 3.1d). Plants from all ecological zones have no significant variation in momordicin I concentration ($p=0.270$).

Finally, a strong positive relationship exists between dry weight of plant material and momordicins (I, II and total). This relationship gives some of the highest correlation coefficient with these secondary metabolites ($r=0.503$, $p<0.001$; $r=0.278$, $p=0.042$ and $r=0.419$, $p=0.002$, respectively).

3. 3. 1. 5. Multiple linear regression model

Multiple linear regressions were performed with several of the preceding factors (climatological, edaphic, geographical or ecological) in order to understand their relative impact on momordicin content in the plant when combined. The best model is the one having: 1) the higher values of both R^2 and R^2 adjusted which are measures of closeness of the results to the linear equation, 2) the lowest value of residual mean square (RMS) which measures the variance of results, 3) the lowest value of condition index (c. i.) which measures the collinearity of independent variables and 4) all variables significant (Sokal and Rohlf 1995, Systat 1994). For total momordicins, the equation defined in Table 3.3. shows that increasing month TMP lowers total momordicin concentrations while Vprecipitation and light intensity enhance them. Factors are presented in the equation in descending order of relative importance according to their standard coefficient (Sokal and Rohlf 1995).

3. 3. 1. 6. Relative proportion of momordicins I and II

Momordicins I and II are not always present in equal amount in the plant leaves. Momordicin I concentration increases proportionally with momordicin II concentration and it soon reaches a plateau at approximately 10 mg total momordicins/g dry plant (Figure 3.2); momordicin II is proportionally more abundant at higher total concentrations. Environmental factors were included individually in the regression equation to see if one factor in particular would influence the proportion between the two types of momordicins. Only nitrite content in soil of the collection sites had a significant effect (interaction between nitrite and momordicin II concentrations: $t=2.170$, $df=43$, $p=0.036$). So when the soil is richer in nitrite, the plateau is reached sooner. Altitude has a marginally significant effect on the proportion of momordicins I and II ($t=1.833$, $df=47$, $p=0.073$).

Table 3. 3. Multiple linear regression model for total momordicin concentration. This model was selected for its high values of both R^2 and R^2 adjusted, its low values of residual mean square (RMS) and condition index (c. i.). All variables are significant.

$$\text{total momordicins} = \alpha + \beta * \text{month temperature} + \gamma * \text{Vprecipitation} + \delta * \text{light intensity}$$

$$R^2=0.373; R^2_{\text{adjusted}}=0.335; \text{RMS}=0.375; \text{c.i.}=315; n=53$$

Factors	constant coeff.	std coeff.	T	p
constant	$\alpha = 37.52$	0.000	3.969	<0.000
month TMP ¹	$\beta = -16.19$	-0.445	-3.923	<0.001
Vprecipitation ²	$\gamma = 0.01$	0.316	2.783	0.008
light intensity ³	$\delta = 0.29$	0.248	2.183	0.034

¹ month TMP: mean temperature at the month of sample collection

² Vprecipitation: coefficient of variation of mean monthly precipitation (mm)

³ light intensity: light intensity at site of collection (qualitative variable)

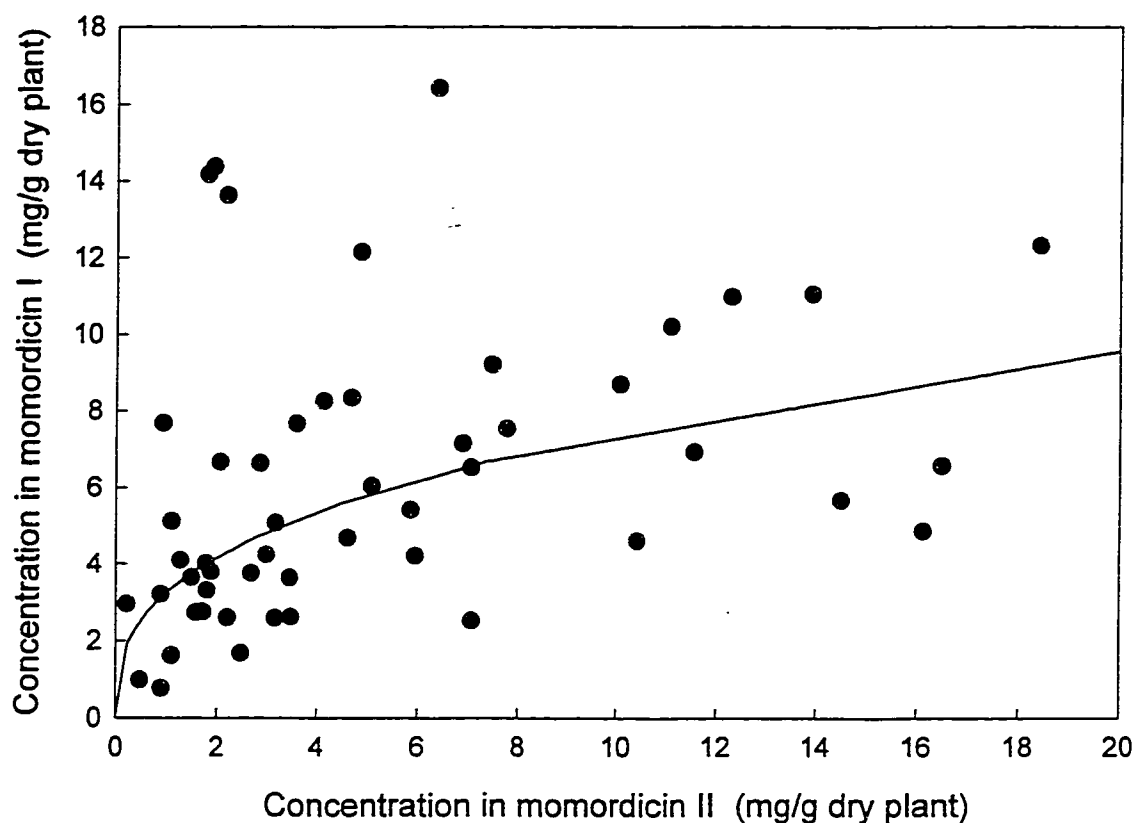


Figure 3. 2. Relationship between momordicin I and II concentrations from leaves and stems of *Momordica charantia* L. collected in 54 sites in Togo. The line represents the linear regression of natural logarithm of data ($r=0.524$, $F=18.59$, $p \leq 0.001$). Three outliers containing more than 30 mg of momordicin II / g dry plant, but no momordicin I, are not shown and were not included in the regression.

3. 3. 2. Genotypic effects on momordicin contents in plants from greenhouse trials

A significant difference of plant total momordicin concentrations exists between sites according to the origin of the seeds grown in the greenhouse (Table 3.4). However, the Scheffe multiple comparison test does not show any significant individual comparison. Mainly, plants from site #55 present a lower concentration of total momordicins, especially when compared to sites #41, #51 and #6 ($p=0.705$, $p=0.551$, $p=0.641$, respectively).

When concentration of total momordicins are considered, field plants (collected in 11 different sites) vary independently from those coming from the same sites but grown from seeds in greenhouse ($r=0.093$, $p=0.542$, $n=45$). However, the trends are negative for momordicin I ($r=-0.192$, $p=0.207$) and significantly positive for momordicin II ($r=0.357$, $p=0.016$).

The greenhouse plants can be grouped by ecological zone of their seed origin. By that is assumed that plants coming from a particular zone constitute a relatively well-contained population since several geographical features defining partly these ecological zones limit the propagation of the seeds. These are not dispersed by wind. ANOVA showed no difference of plant momordicin concentrations between zones (Table 3.4).

However, when greenhouse plants are compared to all (54) field plants by ecological zones, a significant linear correlation is present for momordicin II while a trend is seen for total momordicins, but none for momordicin I (Figure 3.3). Plants from zone 2 are highly concentrated in momordicin II while those from zone 5 have less of this compound, both in the field and in the greenhouse experiment.

Table 3. 4. Table of analyses of variance of total momordicin content between *M. charantia* plants grown in greenhouse when compared from site origin or ecological zone origin.

Factors	R ²	MS	df	F	p
site	0.492	0.257	10	3.295	0.004
error		0.078	34		
ecological zone	0.129	0.168	4	1.484	0.225
error		0.114	40		

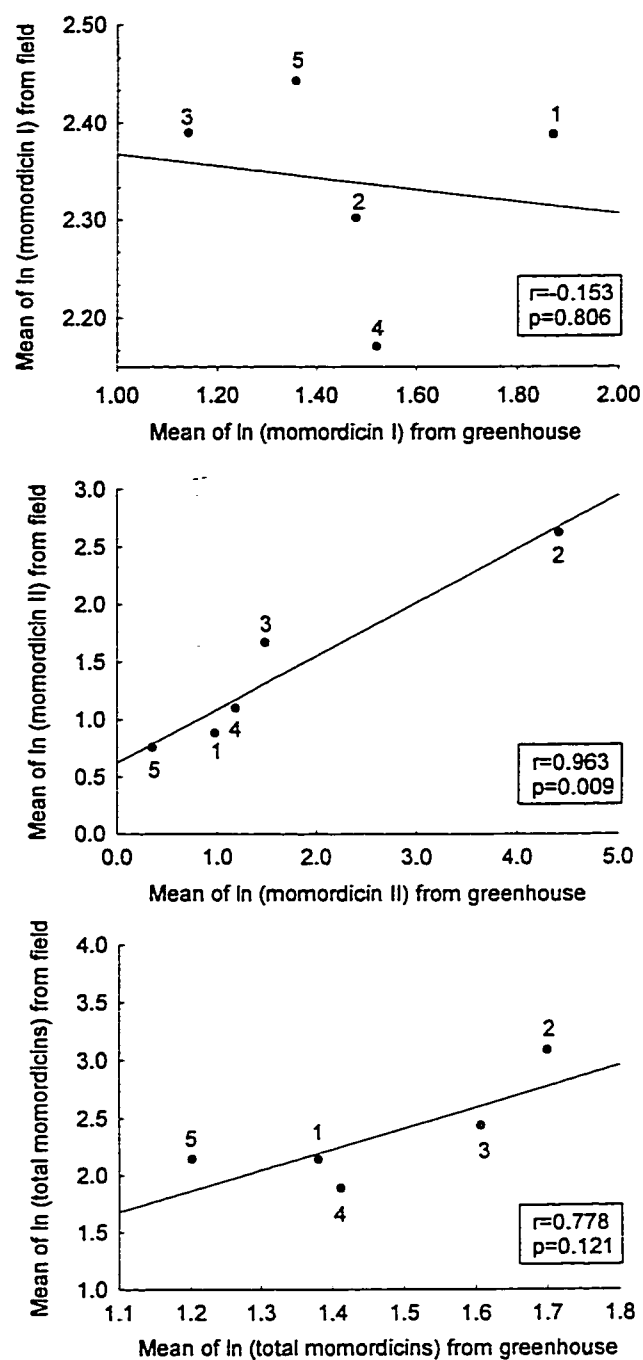


Figure 3. 3. Mean momordicin (I, II & total) concentrations in leaves and stems of *Momordica charantia* L. from plants collected in the field in Togo (n=54) and from plants grown in a greenhouse in a constant environment (n=45), according to their ecological zone of origin (Ern 1979) which are represented by number from 1 to 5.

3. 4. DISCUSSION

Togo appeared to be an ideal field area for ecological study of a sub-tropical to semi-arid region. Its long rectangular shape stretching from the Bight of Benin to Burkina Faso constitutes a transect through several varied ecological zones. It offers a gradient from coastal landscape to different types of savanna, passing through mountainous region covered with semi-deciduous forests. Togo shows also great variation in geography, climate and soil composition. Moreover, the small area of Togo (only 56 000km²) allows exploration of a reasonable proportion of the total area in a limited period of time.

3. 4. 1. Individual momordicins

Leaves and stems of *M. charantia* plants collected throughout Togo showed great variations in momordicin I and II concentrations. Both biotic and abiotic factors accounted for these variations. The only (indirect) biotic factor measured for this study is herbivory damage observed on plant leaves. As expected, there is a tendency, although not significant, for less herbivory when momordicin concentrations are higher. Momordicins then appear to be a relatively important element of defense for *M. charantia* (Figure 3.1.c). Plants with no trace of herbivory have less momordicins (I, II or total) than plants with few holes in leaves due to herbivory damage. This is consistent with an induction of momordicin concentration by herbivory. It is also possible that momordicins are feeding attractants for a few herbivores, just as the cucurbitacins are for some insects. Unfortunately, very few insects were observed on *M. charantia* plants in Togo. The more common ones were

unidentified fly maggots in ripening fruits. An unknown species of insect, possibly *Pyrrochoris* (Hemiptera: Pyrrhororidae; appendix 7) gathering in large groups (30-60 individuals of different stages) on the leaves of the plant was sometimes observed. These sucking insects were showing some evidence of aposematic warning (bright red and black in colors). In this case, they may accumulate toxins present in the sap of the plant of *M. charantia*, possibly momordicins.

Considering man's presence as a biotic factor explains why the species is found even in the northern savanna where it would probably not survive without human intervention and, second, why therefore it can be collected during the dry season. Plants found at proximity of villages show a higher content in momordicins. This could be linked to phenotypic factors (soil composition, plant watering, nitrogen fertilization), but also to genotype selection which will be addressed later on in section 3. 4. 3. The majority of the following phenotypic observations deal with the possible effects of abiotic factors on secondary metabolism of *M. charantia*.

3. 4. 1. 1. Phenotypic effects on momordicin I and II contents

Momordicin I is less concentrated in plants from humid regions as indicated by the negative correlation with annual precipitation. This supports the hypothesis that momordicin content should decrease when the environment is favorable for growth, hence mesic.

Momordicin II is found in significantly greater concentration in plants from higher altitude regions characterized by higher precipitation. Particularly, plants collected near the Atakora mountain in the savanna regions of North Togo (ecological zone #2) can be very concentrated in momordicin II (up to 3.76%). This region is characterized by great variability

of PET during the year which is positively related to momordicin II content in plants.

Only a few studies have confirmed the positive effect of water shortage on secondary metabolism (Mann *et al.* 1980, Louda *et al.* 1987). Plants were often watered (intentionally or not) by the inhabitants of the houses nearby for a majority of collection sites. It probably accounts for the lack of correlation of momordicins II and total with annual precipitation.

Momordicin I and II contents in plants increase from west to east. These variations could be linked to soil composition which is greatly affected by the Atakora mountain chain (Lamouroux 1960). Nitrogen content in topsoil samples decrease from west to east. The relationships of momordicin I and II with richness of soil, even if individually non-significant, are then consistent with the hypothesis that a higher nitrogen absorption by plants should affect their growth positively and hence defense negatively. Several other experiments have confirmed this prediction (del Moral 1972, McKey *et al.* 1978, Reader 1979, Waring *et al.* 1985, Bryant 1987, Mihaliak *et al.* 1987), but some other tests have refuted it (Haukioja and Neuvonen 1985, Iason and Hester 1993). Finally, it should be stressed that nitrogen content did not significantly affect the abundance of plants at collecting sites. Primary metabolism should be enhanced in these conditions (Salisbury and Ross 1992). The plant abundancy observed could be explained by the prevalent utilization of the plant by inhabitants.

3. 4. 1. 2. Conversion between momordicins I and II

Since momordicin I is the aglycone of momordicin II, interconversion probably occurs between the two compounds as proposed in Figure 3.4. Momordicin II which contains one molecule of β -D-glucose is more hydrophilic and hence most probably sequestered in the

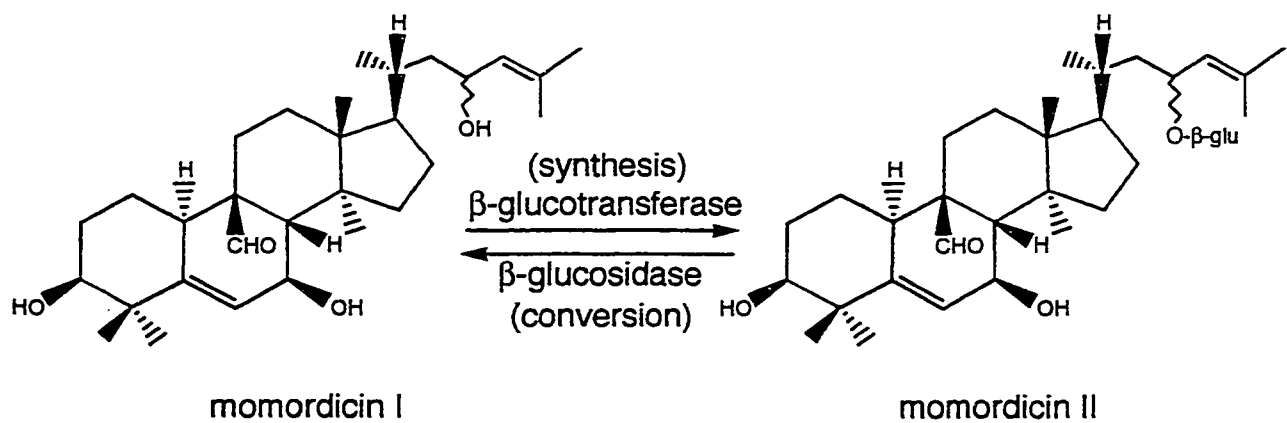


Figure 3. 4. Interconversion and synthesis of momordicins I and II

cytosol or vacuole. It could be converted to momordicin I with β -glucosidase, especially after tissue damage (Baldwin 1988). Momordicin I is a little more lipophilic and hence possibly sequestered in membranes. Momordicin II would be a better candidate for storage because it is less likely to cause autotoxicity since it is glycosylated. Its synthesis is probably via glucosylation of momordicin I mediated by a β -glucotransferase (Figure 3.4)

The existence of different forms of momordicin highlights the importance of redundancy in the antiherbivore strategies of *M. charantia* (Harborne 1993). It is not known if synergism occurs, i.e. one type of momordicin enhancing the effectiveness of another. The varying proportions of the constituents may suggest different selection pressures in different environments.

It appears that nitrite content in soil affects the relative proportion of momordicins I and II. At low soil richness, more momordicins are synthesized, momordicin II being the major compound. At higher soil richness, total momordicins synthesis is smaller and there are similar amount of both momordicins I and II. Physiology seems thus to favor momordicin II accumulation when high levels of defense are expressed. A few samples represent the extreme of the situation where momordicin II is present at high concentration without any momordicin I (Figure 3.2).

Momordicins I and II are related differently to the environmental factors, namely climatological, geographical, edaphic or ecological. Sometimes, relationships are even opposite. Perhaps these factors affect differently the synthesis or interconversion of the respective compounds. As seen in Figure 3.2, momordicins I and II are not always proportionnal. Specific proportions of these compounds could be needed in specific ecosystems. The opposite trends provide evidence that some environmental factors affect the interconversion of momordicins. Whether these factors actually trigger the

interconversion and how this affects the defense of the plant are questions that require further investigations.

Two other momordicins have been identified by other researchers in *M. charantia* plants. Momordicin III is the acetate of momordicin II (Yasuda *et al.* 1984) and the other one (which has no common name) is identical to momordicin II but having one additional β -D-glucose molecule at C7. HPLC analyses of *M. charantia* plant extracts show that momordicins I and II are the two most common compounds (see Figure 2.1. in Chapter 2). Very few other major peaks are seen concurrently. This confirms that other momordicins are only present in very low amounts, much lower than momordicins I and II, and that chemical defense of *M. charantia* leaves is then most likely due to momordicins I and II (Chandravadana 1987, Yasui *et al.* 1998, Chapter 4 of the present thesis).

3. 4. 2. Total momordicins

Of the 19 environmental factors analyzed, 7 are significantly related to total momordicin content, up to 10 if marginal relationships are included. Even if correlation coefficients are relatively low, mainly between 0.230 and 0.450, they are significant, suggesting that several factors are involved in this mechanism of defense. Indeed, if only chance was involved, at a probability of 10%, just 2 relationships out of 19 would be significant and, at a probability of 5%, just one of 19.

3. 4. 2. 1. Phenotypic effects on total momordicins

Total momordicins are particularly abundant in plants from regions of great annual

variability of precipitations. The Vprecipitation variable raises an interesting question, that is whether this variable, as well as VPET, represents a tangible and meaningful reality for momordicins synthesis in *M. charantia* plants. Vprecipitation is a measure of the variability of rainfall regime throughout the year. The results show that the more drastic the changes are annually, the more total momordicins are synthesized. That would be expected from a perennial species that has to go through both dry and wet season. Its secondary metabolism would be the reflection of its tolerance and resistance capacities. However, *M. charantia* is a typical annual plant with a fast growth rate that germinates as soon as the wet season truly begins and dies shortly after it finishes. It should not be influenced by the changes between rainfall seasons, in short, by the dry season. Perhaps Vprecipitation shows a positive effect on momordicin content because the plant is very sensitive to water deficit that could happen during wet season.

In the same way, plants with higher dry material content, in other words, with a lower water content, since weight of fresh plant specimens is constant (50 g), are more concentrated in total momordicins (expressed in mg/g dry plant). Mass dilution effects caused by enhanced cellular growth would rather have produced the opposite result. So it seems that water shortage affects secondary metabolism of *M. charantia* positively, as proposed indirectly by GDB hypothesis.

Total momordicin concentrations in plants also increase with lower monthly temperature and monthly PET, even if that seems to contradict the positive correlation with annual PET. This is possibly linked to the date of collection since plants collected at the end of the wet season are more concentrated in total momordicins. This time period is characterized by lower temperature due to cloud cover and, hence, a lower PET, and also by poorer nitrogen content in topsoil samples, being again in favor of CNB theory.

Of course, inconsistency in climatological data collection could still be the main reason why results do not present strong significant relationships with environmental gradients. It should be stressed that pluviometry stations in developing countries are often operated by local people, not always highly trained, motivated and/or remunerated (Nieuwolt 1977). For this reason, it is important to have a mean value based on several years. The data provided by the officials of Togo are for the past 11 to 15 years. However, a longer period would be necessary to have a truly reliable estimation of the climate, 30 years being widely accepted (Nieuwolt 1977). Moreover, each harvesting site has been assigned to the nearest pluviometric station or the one that was more similar in the proximity regarding climate and vegetation. Since there seems to be great diversity of climate in Togo, even among very proximate areas (appendix 4), pluviometry value allocated to each site could not be perfectly accurate. That would affect greatly the results. The problem is even more critical concerning PET, WB and temperature data since climatological stations are quite fewer.

Finally, total momordicin concentrations decrease along with light intensity, agreeing with CNB theory. Several experiments have corroborated the light effect on secondary metabolism predicted by CNB theory (Bryant 1987, Mole *et al.* 1988, Iason and Hester 1993).

3. 4. 2. 2. Linear model of total momordicins variability

The variation in total momordicins is best explained by three environmental factors: the regional mean daily temperature at month of collection, the regional variability of mean monthly precipitation and the light intensity at the site of collection. They account for 37% of the variation, while the remaining 63% is explained by other factors, which are unknown.

These three factors have been discussed in previous sections. The colinearity between all the factors of the study is so great (as shown by the high condition index of 315, Table 3.3), that it is very difficult to determine what are the underlying causes of the variation of momordicins' synthesis. Controlled greenhouse or field experiments would be needed to identify these causes.

3. 4. 3. Genotypic effects

The preceding results (correlations and linear model) suggest that something else affects the variation of momordicin synthesis among sites. Actually, morphological differences were observed in the field. Leaves of plants from the north, mainly zones 1, 2 and northern part of zone 3, were broader and less lobed (appendix 1a) than leaves from plants of zones 4, 5 and southern part of the zone 3 (appendix 1c), yet the opposite would be expected. Areas of high resource availability like the semi-evergreen forest (zone 4) should present plants with high specific leaf area (Poorter 1989). Conversely, dry areas like savannas (zone 1) should have plants with smaller leaves (Givnish 1987). Thus genotypic variation is possibly important between plants from different regions of Togo. Two varieties of *M. charantia* have been said to be present in West Africa (Roberty 1954).

Results from greenhouse experiment partly support a genotypic effect. Although the ANOVA between ecological zones is not significant, plants from field and from greenhouse have similar content in momordicin II, but not in momordicin I, when grouped by ecological zones. Figure 3.3b shows that mainly data from zone 2 diverge from the other zone. Effectively, momordicin II is very abundant in plants from north-east of Togo, particularly ecological zone #2. Actually, the two morphotypes observed in the field were also noticed in the greenhouse although the distinction between the two was not as high. Taxonomic

studies would be required to ascertain if two morphotypes really exist.

Genetic traits probably also affect the secondary metabolism of momordicin I and thus the results from both field and greenhouse. However, this genotypic effect would be masked by phenotypic ones such as herbivory damage and thus very difficult to isolate, quantify and compare. Moreover, genetic traits of the parent plants always differ from those of their offspring hence an additional source of variation.

The human impact on *M. charantia* plants is possibly related to genotype. Some informants declared they obtained the seeds from friends or family members of another region, most probably from the same ethnic group. It is likely that "distribution" of *M. charantia*'s observed morphotypes could have been made on a cultural basis. It should be stressed that different ethnic groups use the plant for similar medicinal goals (Chapter 4) and so both groups look for an active form. So, theoretically, morphotypes should not differ in their defense compound contents, but other factors could have influenced the evolution of the genotypes.

3. 5. CONCLUSION

Many environmental factors are significantly related to the secondary metabolism of *M. charantia* although the intensity of their relationship with momordicin contents is often low. For several of them, momordicins I and II do not vary in the same way and their respective concentration in the plant could be influenced by nitrite content in soil. The variability of precipitation, the potential evapotranspiration at month of collection and the temperature at month of collection have the highest correlation with total momordicin concentrations. These seem to be affected by water shortage. The results generally agree with GDB and CNB theories which seem to apply to tropical ecosystems even if they were established mainly through experiments in boreal and temperate climates. Moreover, momordicins are abundant in plants from the savanna of north-east Togo, from sites near villages and plants collected at the end of the wet season. Possible genotypic influence on momordicin concentrations is more evident for momordicin II than I, and a distinct chemotype which is very concentrated, and exclusively, in momordicin II has been identified.

CHAPITRE 4

“ETHNOBOTANIQUE ET BIOACTIVITÉS DE *Momordica charantia* L. AU TOGO”

4. 1. INTRODUCTION

L'ambitieux défi lancé par l'Organisation mondiale de la santé (OMS/WHO) d'une "Santé pour tous en l'an 2000" ne pourra se concrétiser dans les pays en voie de développement qu'avec l'apport essentiel des médecines traditionnelles. Dans cet élan, plusieurs projets de recherche portant sur l'ethnobotanique, l'ethnomédecine et les phytomédicaments ont vu le jour, réunissant souvent deux ou plusieurs pays du Nord et du Sud. Ils visent une plus grande compréhension des connaissances dans le domaine.

Un partenariat entre l'Université d'Ottawa (Canada) et l'Université du Bénin à Lomé (Togo, Afrique de l'Ouest) a été mis sur pied dans le cadre des "Projets de Renforcement Institutionnel Matériel et Technique en Afrique Francophone" (PRIMTAF) de l'Agence Canadienne de Développement International (ACDI) en 1995. Cette collaboration vise à étudier les phytomédicaments togolais, par des études botaniques, écologiques, ethnobotaniques, phytochimiques, toxicologiques, microbiologiques, pharmacologiques, etc. Elle vise également à créer une unité de production pilote de phytomédicaments éthiques au Togo afin d'approvisionner la population locale et de lui fournir des alternatives médicinales sûres, efficaces et peu dispendieuses (Gbeassor *et al.* 1997).

C'est au sein de ce projet collaboratif que s'insère la présente étude portant sur l'ethnobotanique d'une espèce très connue en Afrique de l'Ouest, *Momordica charantia* L. Des entrevues ont été menées au Togo auprès de la population locale et d'ethnomédecins afin de répertorier les connaissances traditionnelles liées à cette espèce. Des tests biologiques ont permis d'évaluer ces utilisations. Les connaissances des ethnomédecins en écologie chimique ont aussi été explorées.

4. 1. 1. *Momordica charantia* L.

Momordica charantia L. est une vigne herbacée annuelle à croissance rapide de la famille des cucurbitacées (annexe 1). Son origine biogéographique est incertaine, mais se situe probablement en Afrique (William et Ng 1976). Cependant, l'Inde et la Chine ont été suggérés comme centre de domestication (Walters et Decker-Walters 1988). En effet, on cultive *M. charantia* depuis plus de 500 ans en Asie (Yang et Walters 1992) et plusieurs variétés ont ainsi été développées dans le but de réduire l'amertume des fruits et d'en augmenter la taille (Chakravarty 1959). On nomme communément la plante "karela" en Inde, "sorrosi" dans les Caraïbes, "condeamor" en Amérique Latine, "ampalaya" aux Philippines, margoses dans les îles francophones de l'Océan Indien et "bitter gourd" ou "bitter melon" ou "balsam pear" dans les pays anglophones (Morton 1966).

Momordica charantia var. *abbreviata* Ser. est considérée comme la forme "sauvage" de l'espèce (annexe 1c). Ses fruits et ses feuilles sont plus petits et les lobes sont plus étroits comparés aux autres variétés (Cogniaux 1881). La plante pousse naturellement en zone boisée (Burkill 1985), mais aussi très facilement dans toutes sortes de milieux en autant que l'humidité du sol soit suffisante (Chakravarty 1968).

4. 1. 2. Utilisations traditionnelles de par le monde

La distribution pantropicale de *M. charantia* explique en partie son utilisation généralisée à travers le monde en tant que phytomédicament traditionnel. Les quatre continents traversés par les tropiques sont représentés dans la littérature scientifique ethnobotanique de cette espèce (NAPRALERT 1995). Peu importe le continent impliqué, les feuilles semblent autant utilisées que les fruits, mais les racines et les graines beaucoup moins.

Des problèmes de peau très divers sont traités à l'aide de *M. charantia*, allant des infections parasitaires cutanées (Kerharo et Adam 1974, Ayensu 1978), en passant par la galle et autres maladies de peau communes (Descourtilz 1829, Dymock 1891, Dastur 1952, Anonyme 1989, Girón *et al.* 1991). La plante est fréquemment utilisée contre les brûlures (Martinez 1944 et Perez-Arbelaez 1956), mais plus encore contre les inflammations, particulièrement les hémorroïdes (Stimson 1971, Ayensu 1978, Girón *et al.* 1991). Nombreuses sont les mentions d'utilisation contre les rhumatismes et la goutte (LeCointe 1947, Kerharo et Adam 1974, Wong 1976, Ayensu 1978, Burkill 1985, Mossa 1985, Yang et Walters 1992). En général, les tiges feuillées sont davantage utilisées contre les dermatoses communes, tandis que les fruits sont réputés efficaces contre les brûlures. Feuilles, fruits et racines sont utilisés contre les problèmes d'hémorroïdes, de rhumatismes et d'inflammations diverses.

Les troubles gastro-intestinaux traités à l'aide de *M. charantia* sont également très variés, allant des indigestions (Oakes et Morris 1958, Howard 1952) aux maux de ventre (Mossa 1985, Anonymous 1989, Girón *et al.* 1991, Zhang 1992a, Arvigo et Balick 1993), en passant par la constipation (Kerharo et Adam 1974, Ayensu 1978, Girón *et al.* 1991, Nadkarni 1982, Arvigo et Balick 1993) et la diarrhée (Burkill 1985). De plus, la plante est largement utilisée comme anthelminthique général (Descourtilz 1829, Dymock 1891, Kerharo et Adam 1974, Wong 1976, Ayensu 1978, Burkill 1985, Singh 1986) ou contre certains helminthes particuliers (vers plats [*Tænia*] et vers ronds: Burkill 1985; vers ronds: Dastur 1952). Globalement, les fruits sont aussi souvent utilisés que les feuilles. Les graines sont parfois utilisées contre les vers intestinaux.

Les feuilles, fruits et racines de *M. charantia* sont souvent utilisés pour provoquer l'avortement et/ou contrôler les naissances (Howard 1952, West *et al.* 1981, Burkill 1985, Mossa 1985), atténuer les menstruations douloureuses (Dastur 1952, Kerharo et Adam

1974) ou faciliter l'accouchement (Descourtiz 1829).

M. charantia (feuilles, fruits et racines) est souvent utilisé comme fébrifuge général (Oakes et Morris 1958, Kerharo et Adam 1974, Ayensu 1978, Halberstein et Saunders 1978, Burkill 1985, Singh 1986, Girón *et al.* 1991, Arvigo et Balick 1993), parfois dans les cas précis de paludisme (Roig y Mesa 1945, Velez Salas 1959, Wong 1976).

Finalement, le diabète serait aussi traité en Asie à l'aide de *M. charantia*, principalement avec ses fruits (Halberstein et Saunders 1978, Mossa 1985, Zhang 1992, Arvigo et Balick 1993).

4. 1. 3. Activités biologiques établies

L'utilisation courante de *M. charantia* dans plusieurs pays a suscité un grand intérêt scientifique envers cette plante. Des études de sa composition chimique et d'activités biologiques et pharmacologiques ont été entreprises dans plusieurs pays, ceux d'Asie constituant le pôle de recherche le plus important, particulièrement en ce qui a trait à l'activité antidiabétique et hypoglycémiante de la plante.

Les activités biologiques de cette espèce seront abordées lors de la discussion des résultats de la présente étude. Les domaines de recherche importants sont les activités antitumorale, antibiotique, abortive, antidiabétique et hypoglycémiante (Morton 1966, Anonyme 1989, Hussain et Deeni 1991, Cunnick et Takemoto 1993, Marles et Farnsworth 1995, Raman et Lau 1996).

4. 1. 4. Importance de l'ethnomédecine

Les ethnomédecins, appelés également médecins traditionnels ou guérisseurs traditionnels, occupent une place importante dans le système de santé de nombreux pays africains (Ahyi 1997). Ils assurent le suivi de la santé des populations locales pour lesquelles très peu de médecins formés "à l'occidental" sont disponibles. De plus, de nombreuses personnes voulant éviter l'engorgement des cliniques et hôpitaux nationaux, mais ne pouvant assumer les frais de consultation et de traitement des cliniques privées, ont recours aux services de l'ethnomédecin. Plusieurs personnes ont davantage confiance en l'ethnomédecin parce que celui-ci est de la même ethnie et parle donc la même langue ou parce qu'il est plus familier étant du même village ou de la même région. De plus, sa culture africaine le rapproche davantage de ses patients par comparaison à un médecin étranger (Amavi et Gnamey 1997). Finalement, les ethnomédecins préparent et administrent de nombreux phytomédicaments dont la composition peut s'avérer très précise et complexe dans certains cas. Ces phytomédicaments sont primordiaux dans les pays en voie de développement, vu l'inaccessibilité courante et le coût élevé des médicaments génériques "occidentaux" (Farnsworth 1985). D'ailleurs, ceux-ci sont parfois moins efficaces, voire dangereux, lorsqu'ils sont périmés.

4. 1. 5. Buts et Hypothèses

Une enquête ethnobotanique sur les utilisations de *M. charantia* a été menée à travers tout le Togo auprès de la population locale, parallèlement à la récolte de spécimens de cette espèce. Des ethnomédecins ont également été interviewés sur les utilisations de l'espèce et aussi sur leurs critères de récolte de la plante.

Afin de confirmer ces utilisations traditionnelles recensées, des bioessais (anthelminthiques et antiviraux) ont été effectués avec des extraits éthanoliques des tiges feuillées de *M. charantia*. D'autres activités biologiques tirées de la littérature scientifique, notamment de la base de données NAPRALERT, ont aussi servi à cette évaluation.

Finalement, les critères de récolte ont été évalués à l'aide de données environnementales corrélées aux contenus en momordicines de plants de *M. charantia* récoltés au Togo.

Deux hypothèses sont proposées pour cette étude. La première est qu'il existe un consensus d'utilisation de *M. charantia* au Togo entre les connaissances populaires et celles, plus approfondies, des ethnomédecins et aussi entre les différentes ethnies. La deuxième hypothèse est que les connaissances traditionnelles des phytomédicaments sont le reflet d'une compréhension de l'écologie chimique des milieux naturels.

4. 2. MÉTHODOLOGIE

4. 2. 1. Zone d'étude

Le Togo occupe une aire de 56 000 km² au centre de l'Afrique de l'Ouest (annexe 3), s'étendant en longitude de 0° 09'O à 1°48'E et en latitude de 6°07'N à 11°09'N. Ce pays est bordé à l'ouest par le Ghana, à l'est par le Bénin, au nord par le Burkina Faso, le Golfe du Bénin constituant sa frontière méridionale. Une chaîne de montagnes, l'Atakora, traversant le pays du sud-ouest au nord-est influence grandement le climat et la physionomie des terres togolaises (Lamouroux 1960)

4. 2. 2. Données ethnobotaniques

Deux types de données ethnobotaniques ont été recensés lors de cette étude (annexe 8). Tout d'abord, lors des récoltes de plants de *M. charantia*, les personnes présentes sur le site étaient questionnées de façon informelle sur la dénomination de la plante dans leur langue vernaculaire (annexe 9), ses utilisations courantes et les modes de préparation. L'ethnie des répondants présents était notée, ainsi que le nom du principal interlocuteur lorsque cela était possible. Les questions pouvant être répondues par oui ou par non étaient évitées le plus possible (Martin 1995).

Les utilisations ont ensuite été regroupées intuitivement en 8 catégories: 1) maux de ventre (problèmes gastro-intestinaux, vomissements, plaies et vers intestinaux, diarrhée, colique, dysenterie, laxatif, purgatif); 2) maladies virales infantiles (varicelle, rougeole,

variole); 3) problèmes de peau (démangeaisons cutanées, urticaire, galle, brûlures, coupures); 4) paludisme; 5) gynécologie (accouchement, avortement, dysménorrhée); 6) nourriture; 7) infection (fièvre, antibiotique); 8) biopesticide.

D'autre part, 19 ethnomédecins ont été rencontrés de façon plus formelle. Ces hommes pratiquent tous dans la région côtière, sauf un provenant de Kara au nord du Togo. L'ethnomédecine est leur profession et ils sont reconnus en tant que guérisseur traditionnel dans leur communauté respective. Certains sont davantage des féticheurs ou des prêtres vaudous, mais le lien étroit existant entre la spiritualité et la santé implique qu'ils peuvent aussi guérir les gens (Iwu 1993, Bodjrenou 1997). Les questions posées aux ethnomédecins portaient sur les utilisations de *M. charantia* (médicinale, médico-magique, alimentaire, diverse), les parties de la plante utilisées, leur préparation (Croom 1983, Adjanooun *et al.* 1989). Une attention particulière a été accordée aux conditions de récolte de la plante. Un questionnaire a été préparé à cet effet (annexe 10), mais les questions étaient posées de façon informelle et libre durant l'entrevue afin de ne pas perturber les interventions des ethnomédecins (Martin 1995). L'aide d'un traducteur a été nécessaire dans certains cas.

Pour l'ensemble des démarches ethnologiques de cette étude, un protocole de recherche éthique a été soumis et a reçu l'approbation du comité de déontologie de l'Université d'Ottawa. De plus, pour l'ensemble du projet PRIMTAF, un accord formel de collaboration a été signé entre l'Université du Bénin à Lomé et l'Université d'Ottawa.

4. 2. 3. Récolte des plantes, extraction et analyses chimiques

La méthodologie de récolte des plantes est décrite en détail dans le chapitre 2, de même que les procédures d'extraction, la préparation des échantillons et la méthodologie de chromatographie.

4. 2. 4. Bioessais antiviraux

La technique utilisée pour les bioessais antiviraux est une version modifiée de la méthode décrite en détail par Marles et ses collaborateurs (1992). Brièvement, des cellules Vero (lignée de cellules rénales de singes, "American Type Culture Collection") ont été cultivées dans un milieu standard (Dubelco's modified Eagle Medium [MEM]), additionné de sérum fœtal bovin, dans un plateau à 96 micropuits à raison de 0.1 ml par puits. Les extraits lyophilisés de plantes dissouts dans l'ETOH (100 mg/ml) ont été dilués dans le même milieu (1:100), filtrés stérilement, puis ajoutés au plateau à 96 micropuits contenant les cellules Vero, le tout incubé à 37°C pour 1 heure. Des observations au microscope ont permis de vérifier des effets cytotoxiques immédiats possibles. Ensuite, le virus herpès simplex type 1 (HSV-1) ou le virus Sinbis (SINV) a été ajouté à chaque puits à raison de 0.1 ml contenant 100 pfu. Le plateau a été transféré à 37°C, exposé à une combinaison de lumière visible et d'ultra-violets (UVA) pendant 30 min., puis retransféré dans l'incubateur à 37°C. Les cellules ont été observées périodiquement pour des caractères viraux d'effets cytopathiques. Les contrôles incluaient des cellules sans virus et des cellules infectées par le virus mais sans extrait. Le premier groupe contrôle ne présentait aucun effet cytopathique, tandis que les cellules du deuxième groupe contrôle sont toutes mortes.

4. 2. 5. Bioessais anthelminthiques

Le nématode *Caenorhabditis elegans* var. Bristol, souche N2, a été fourni par le Caenorhabditis Genetics Center, financé par le National Center for Research Resources (NCRR, É.-U.). Les nématodes ont été cultivés aseptiquement sur des pétris d'agar NGM (Nematode Growth Medium), eux-mêmes inoculés avec *Escherichia coli* (souche OP50, auxotrophe d'uracil), tel que décrit par Lewis et Fleming (1995). Pour les étapes préliminaires aux bioessais, les nématodes (de tous les stades) ont été rincés d'un pétri avec une solution-tampon M9 pH 7.2 (Brenner 1974, Stadler *et al.* 1994) et transférés dans une éprouvette. Après 2 minutes de décantation, les 2 premiers cm de la solution, contenant principalement des nématodes de stades 1 et 2, ont été prélevés et déposés sur de nouveaux pétris NGM inoculés la journée précédente avec *E. coli*. Après 48 hres, beaucoup d'adultes étaient disponibles pour les bioessais.

La méthodologie des bioessais anthelminthiques est une version modifiée de celle développée par Schaeffer et Haines (1989). Quatre-vingt-seize à quatre-vingt-dix-neuf µl d'une solution-tampon M9 (Stadler *et al.* 1994) ont été déposés dans des microtubes Ependorff. Les contenants n'étaient pas stériles, mais les manipulations ont été faites en vue de réduire tout risque de contamination (hotte aseptique, solution-tampon autoclavée, instruments désinfectés, etc.). Les extraits végétaux lyophilisés ont été dissouts dans l'ETOH 60% et ajoutés, à l'aide d'une seringue Hamilton, au milieu contenu dans les microtubes pour atteindre un volume total de 100 µl ne contenant pas plus de 4% d'EtOH (Lewis et Fleming 1995). Les nématodes adultes ont été rincés des pétris NGM avec la solution-tampon M9, centrifugés à 500g pendant 1 minute et resuspendus dans la solution-tampon M9. Des parties aliquotes de 100 µl contenant 20–50 nématodes ont été ajoutés aux microtubes, le volume final atteignant ainsi 200µl. Après 24 hres d'incubation à l'obscurité à 23°C (Perrett et Whitfield 1995), la motilité des nématodes a été

évaluée à l'aide d'un microscope à dissection. Plus de 90% des nématodes nageaient toujours vigoureusement dans le milieu du bioessai, simple ou additionné d'EtOH à 4% du volume total (max.).

Le pourcentage de nématodes immobiles a été déterminé à plusieurs concentrations pour trois différents extraits végétaux afin d'évaluer leur CL_{50} , i.e. la concentration d'extraits dans le milieu à laquelle 50% des nématodes meurent (sont immobiles dans ce cas). La valeur de la CL_{50} a été évaluée par une régression linéaire des logarithmes de la mortalité (nombre de morts/nombre de vivants) en fonction des logarithmes naturels des concentrations de l'extrait dans le volume final du bioessai.

Les taux de mortalité des nématodes variaient grandement d'une répétition à l'autre d'où une reproductibilité faible du bioessai. Cette lacune expérimentale a été compensée par de nombreux réplicats pour chacun des extraits et chacune des concentrations. Les valeurs de la CL_{50} des extraits sont donc approximatives, mais néanmoins fiables. En effet, elles sont semblables aux tendances observées durant les expérimentations anthelminthiques, c.-à-d. une activité nématocide évidente et une efficacité croissante des extraits de Togo Komé, Efolo et Siou.

Le tétramisole, un nématocide commercial aussi appelé Levamisole™, a servi de composé de comparaison (Thienpont *et al.* 1966, Simpkin et Coles 1981, Perrett et Whitfield 1995). Il semble que les nématodes utilisés lors de la présente étude étaient plus résistants que mentionné dans la littérature. Perrett et Whitfield (1995) précisent que le Levamisole® a causé 100% d'immobilité à 10 µg/ml après 3 hrs. Dans ce cas-ci, la CL_{50} du Levamisole® était de 17 µg/ml après 24 hrs d'incubation.

4. 2. 6. Données bibliographiques NAPRALERT

NAPRALERT (NAtural PROduct Alert) est une base de données considérable répertoriant tout ce qui a trait aux produits naturels présents chez les espèces végétales et animales, et ce dans plus de 200 journaux scientifiques, auxquels s'ajoutent livres, thèses, etc. Maintes citations chimiques, ethnobotaniques et d'activités biologiques y sont répertoriées, plus de 120 000 à ce jour.

Les expériences recensées concernant la bioactivité présentent souvent des méthodologies très diverses: type d'organisme testé, partie de la plante utilisée, procédés de récolte, d'extraction et d'analyse, etc. Il est donc difficile de comparer ces expériences les unes aux autres. En faisant une recherche sur toutes les mentions d'activité biologique de *M. charantia* (236 mentions en mars 1995), il a été possible de discriminer globalement les expériences où la plante s'est avérée efficace de celles où elle ne l'était pas (tableaux 4.6 et 4.7). Seules les expériences pouvant être reliées aux catégories pathologiques mentionnées par les Togolais (voir figure 4.1) ont été comptabilisées. Une compilation des citations ethnobotaniques de *M. charantia* a aussi été effectuée avec ces mêmes catégories d'utilisation (tableau 4.5). Cependant, de nouvelles catégories ont été créées étant donné la plus grande diversité d'utilisations à travers le monde.

4. 2. 7. Données climatologiques

Le Service météorologique du Togo à Lomé a fourni certaines données météorologiques du climat togolais, dont les précipitations (1982-1996). Après calculs, les variables de précipitations annuelles moyennes ("précipitation") et de variabilité des précipitations mensuelles ("Vprécipitation") sont disponibles pour la présente étude (voir

chapitre 3, section 2. 2. 2.). Il semble que les 5 zones écologiques correspondent assez bien aux variables climatologiques.

Afin d'évaluer les critères de récolte des plantes médicinales mentionnés par les ethnomédecins, la concentration en momordicines des plants récoltés à travers le Togo a été mis en relation avec les 2 variables climatologiques, ainsi qu'avec l'heure de récolte et le contenu en eau des plants. Une analyse de variance non-paramétrique (Kruskal-Wallis) entre les différents biotopes des sites de récolte a aussi été effectuée.

4. 3. RÉSULTATS

4. 3. 1. Utilisations populaires de *Momordica charantia* L. au Togo

4. 3. 1. 1. Enquêtes lors des récoltes sur le terrain

La majorité (78%) des sites de récolte de cette étude se trouvent à proximité d'habitations, souvent au sein d'un hameau ou village. Les habitants entretiennent les plants de *M. charantia* en les arrosant avec les eaux usées (cuisine, nettoyage, douche), mais la plupart d'entre eux affirment que la plante a poussé d'elle-même.

La grande majorité des répondants n'utilise que les tiges feuillées, la plupart du temps en les trempant quelques heures dans l'eau. La posologie est décrite comme "une poignée de tiges feuillées dans un plat d'eau". Cette eau est ensuite consommée en une seule fois ou à intervalles réguliers. Pour certaines pathologies, comme les problèmes cutanés ou la fièvre, l'eau de trempage peut être épongée sur le corps et, même, la plante trempée peut servir d'éponge. Les fruits ne sont jamais utilisés, ni verts, ni mûrs. L'arille rouge et sucrée recouvrant les graines est parfois sucée par les enfants, mais la graine est recrachée. Les graines sont parfois utilisées, mais uniquement dans le domaine de la gynécologie. En effet, les femmes togolaises s'en servent comme agent abortif ou dans les cas de menstruations douloureuses ou encore pour les accouchements. Dans ces cas, les graines, pilées ou non, sont appliquées localement.

Les utilisations courantes de *M. charantia* par la population du Togo peuvent être

regroupées en 7 catégories importantes (figure 4.1a). Des 47 répondants interrogés lors des récoltes de plantes, 25 (53%) ont mentionné que *M. charantia* est utilisée contre les maux de ventre. Cette catégorie est très large et inclut tous les problèmes gastro-intestinaux. Presqu'autant de répondants (51%) ont affirmé que la plante est utilisée dans les cas de maladies virales infantiles, soit varicelle et rougeole. Certains ont mentionné la "variole". Il est difficile d'interpréter ces mentions. Bien que certains cas de variole aient été dénombrés dernièrement en Afrique Centrale, il est possible que les répondants fassent allusion à l'orthopoxvirose simienne ("monkeypox") parfois recensée dans les zones forestières de l'Afrique de l'Ouest (WHO 1997).

Les problèmes de peau ont été mentionnés par 21% des répondants (figure 4.1a). Ce pourcentage d'utilisation est nettement inférieur aux deux premières catégories (virus et maux de ventre). Cependant, il est à préciser que toutes les mentions reliées à la varicelle ou à la rougeole auraient pu être incluses dans la catégorie "problèmes de peau" à cause des effets secondaires de ces maladies. Dans ce cas, le pourcentage d'utilisation de la plante contre les problèmes de peau augmenterait à 66%. Pour fin de clarté, il a été jugé préférable d'attribuer chaque mention à une seule catégorie.

Finalement, le paludisme, les utilisations gynécologiques et les infections générales et fièvres ont été rapportées par 17%, 13% et 11% des répondants, respectivement. De plus, 5 personnes ont mentionné que la plante pouvait être consommée comme aliment. L'utilisation de la plante comme biopesticide a été rapportée par une seule personne, dans le village de Batoumé-Agotimé. Brièvement, les feuilles de la plante sont triturées dans l'eau à laquelle est ajoutée de la cendre. Les semences (surtout le maïs) sont trempées dans ce mélange pendant environ 15 minutes et semées comme à l'habitude. Le traitement favoriserait la germination et repousserait les pestes, telles que rongeurs, oiseaux et insectes, intéressées par les graines.

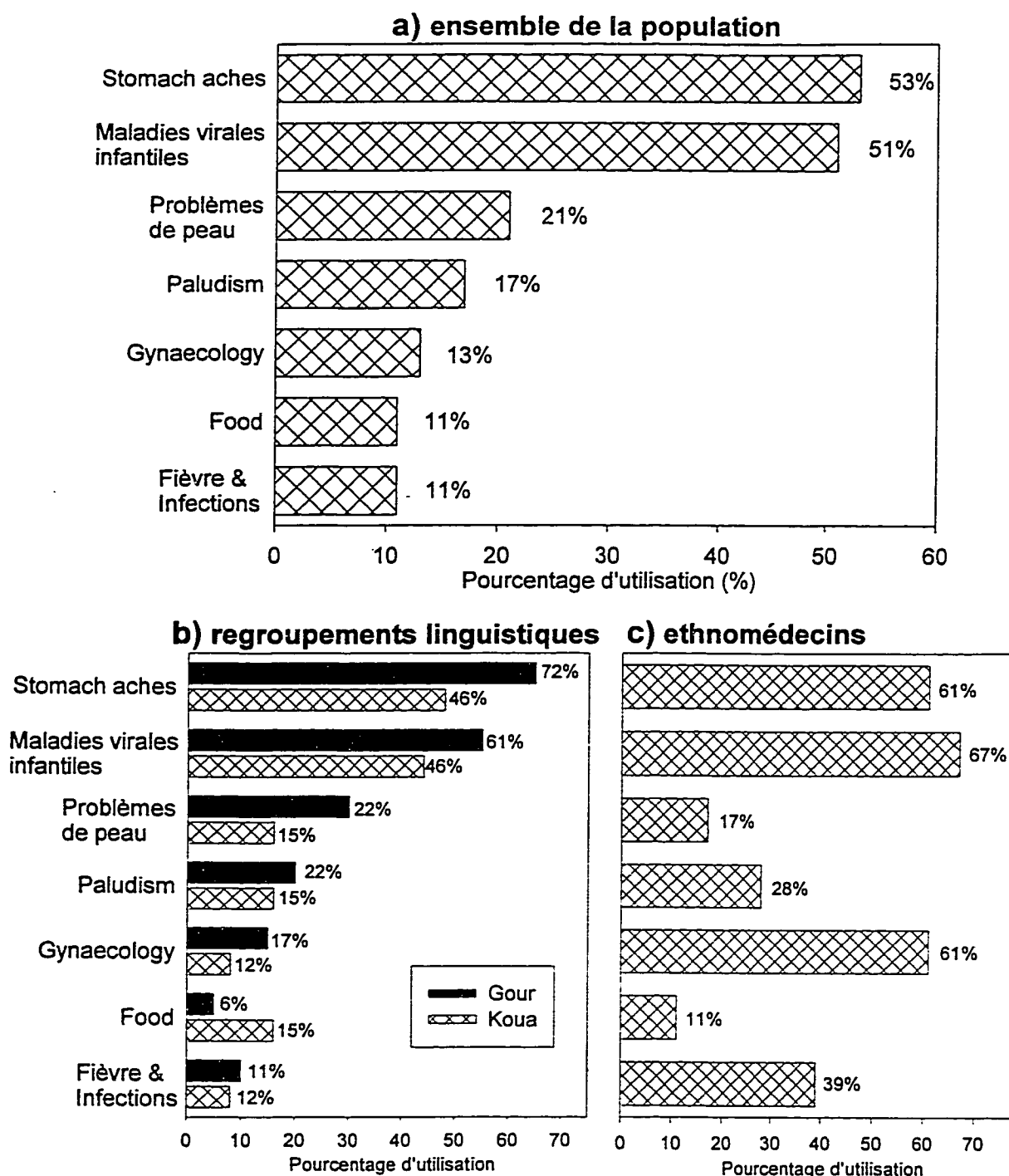


Figure 4. 1. Utilisations courantes de *Momordica charantia* L. au Togo, a) par l'ensemble de la population (n=47), b) selon la provenance des répondants (n=44), c) selon des ethnomédecins togolais (n=19). Les répondants pouvaient mentionner plusieurs types d'utilisation. a) & b) sont issus de la même base de données, distinctes de celle de c). Ethnies des langues Gour (n=18): regroupements ethniques des Paragourmas, Tems-Kabrés et Akébous. Ethnies des langues Koua (n=26): regroupements ethniques des Adjas-Ewes et Yoroubas. Les catégories d'utilisation sont décrites dans le texte.

4. 3. 1. 2. Précisions quant au statut des répondants

Il est impossible de préciser le sexe des répondants, puisque pour la plupart des cas, un groupe de personnes, plutôt qu'un individu, a répondu aux questions. Les utilisations rapportées sont peut être biaisées envers les hommes, étant souvent ceux sachant parler le français, particulièrement en milieu rural. De plus, la structure sociale favorise probablement la prise de la parole par les hommes (Martin 1995). Bien que difficilement contrôlables, ces situations doivent être prises en ligne de compte lors d'une étude ethnobotanique couvrant l'ensemble de la population. De la même façon, certaines utilisations peuvent être sous représentées vu leur caractère plutôt "tabou", par exemple, l'usage des graines pour l'avortement (Iwu 1993). Une certaine réticence a d'ailleurs été perçue à ce sujet lors des rencontres.

Dans le but de vérifier si les utilisations de *M. charantia* varient en fonction de la provenance des répondants, les ethnies auxquelles ceux-ci font partie ont été regroupées en deux catégories linguistiques (figure 4.1b; Cornevin, 1969). L'une regroupe les ethnies de langue Gour (ou voltaïques) caractérisée par une certaine unité de vocabulaire. Ces ethnies habitent surtout la moitié nord du Togo dont elles débordent largement les frontières vers le nord, l'ouest et l'est. L'autre catégorie linguistique regroupe les ethnies de langue Koua (ou éburnéo-dahoméenne) habitant la partie méridionale du Togo, mais retrouvées du Ghana jusqu'au Nigéria. Un nombre limité de répondants pour chacune des 17 ethnies recensées (annexe 8) oblige ces regroupements.

Il semble que *M. charantia* soit utilisée d'une façon semblable par les deux regroupements linguistiques (figure 4.1b). Les maux de ventre et les affections virales sont toujours les plus mentionnés. Suivent les cinq autres catégories dans des proportions semblables. Aucune différence significative n'est présente entre les deux regroupements

linguistiques (test de t pour chaque catégorie: $p > 0.05$ pour tous). Il semble que les ethnies de langue Gour utilise davantage *M. charantia* que les ethnies de langue Koua, les pourcentages d'utilisation étant plus élevés pour toutes les catégories, sauf celle de la nourriture. En effet, les répondants provenant du nord du Togo ont mentionné en moyenne 2,1 utilisations (erreur-type de la moyenne (ETM)=0,23; $n=18$) de *M. charantia*, comparativement à 1,65 utilisations (ETM=0,21; $n=26$) pour les répondants du sud. Cependant, cette différence n'est pas significative (test de t: $t=1,463$; $df=42$; $p=0,151$).

4. 3. 2. Connaissances traditionnelles d'ethnomédecins togolais

Les ethnomédecins du Togo sont souvent des gens scolarisés. Plusieurs de ceux interviewés pour la présente étude ont probablement fréquenté le lycée ou l'université. Certains sont des médecins tenant aussi à conserver leur titre d'ethnomédecin. Ils ont tous un statut reconnu et important dans leur communauté et sont des personnes respectées. Souvent, leurs connaissances en ethnomédecine leur ont été léguées par un membre de la parenté, étant parfois de véritables secrets de famille. D'autres ont choisi de devenir ethnomédecin par "vocation". Tous ont dû se former au cours d'un long processus en tant qu'apprenti, comme plusieurs autres métiers en Afrique.

Ceux habitant la capitale ou les villes importantes du Togo ont habituellement un bureau de consultation et une officine où sont préparés les phytomédicaments. Ils cultivent parfois eux-mêmes les espèces utilisées dans les préparations ou vont les cueillir ou encore forment des apprentis pour cette tâche fastidieuse. Attenant à leur bureau, ils ont même parfois des chambres de traitement ou de convalescence pour leurs patients. L'ethnomédecine est souvent leur principale, voire leur exclusive occupation. Ils ont très souvent un niveau de vie supérieur à la majorité des habitants locaux, probablement lié à

leur scolarisation plus élevée. Certains perçoivent des frais fixes de consultation et de traitement, couplés aux coûts des phytomédicaments. D'autres fonctionnent sur une base volontaire, selon la capacité de paiement des patients. Dans les villages, les ethnomédecins sont consultés plutôt dans leur case (maison traditionnelle). Ils ont souvent d'autres occupations, agriculture, chasse, emplois divers, etc., en plus de celle de guérir les gens. Ainsi, certains offrent des heures ou des jours établis de consultation.

4. 3. 2. 1. Utilisations médicinales de *Momordica charantia* L.

Les 19 ethnomédecins interviewés sont âgés d'environ 20 à 70 ans, la moyenne se situant autour de 40-50 ans. Chacun des ethnomédecins a mentionné en moyenne 4,1 pathologies ($SE=0.45$) pouvant être traitées à l'aide de *M. charantia*, si l'on exclut un ethnomédecin ayant mentionné 18 pathologies et un autre préférant n'en divulguer aucune par secret professionnel. Il y a une corrélation positive marginalement significative entre le nombre de pathologies mentionnées et l'âge des ethnomédecins (Pearson, $r=0,45$; $p=0,068$; $n=17$).

Ces pathologies sont semblables à celles recensées auprès de la population en général et les pourcentages des catégories d'utilisation sont similaires, sauf pour les catégories Gynécologie et Fièvre et Infections qui sont aussi appréciées par les ethnomédecins (figure 4.1c). Les maux de ventre et les maladies virales infantiles sont toujours les plus populaires. Une catégorie importante pour les ethnomédecins, et qui n'est pas représentée sur la figure 4.1, est celle du diabète, mentionné par 33% d'entre-eux.

La tige feuillée ou la plante entière, i.e. avec fruits si présents, est utilisée par tous les ethnomédecins, tandis que les graines le sont par la moitié d'entre eux et les fruits verts ou

mûrs, très rarement. La toxicité des graines de *M. charantia* a été mentionnée par 47%. Outre les aspects médico-magiques abordés plus loin (section 4. 3. 3), d'autres utilisations de *M. charantia* ont été rapportées, telles l'usage en tant que produit d'hygiène corporelle ou de décoration.

4. 3. 2. 2. Critères de récolte des plantes

Six différents critères utilisés par les ethnomédecins pour la récolte des plantes ont été mentionnés: heures de récolte, biotopes, humidité du site, stade végétatif de développement de la plante (phénologique), type de sol et intensité lumineuse (tableau 4.1). De ces 6 critères, les 3 premiers sont mentionnés par plus de la moitié d'entre eux. En général, ces critères sont utilisés pour la plupart des plantes récoltées, et non pas exclusivement pour *M. charantia*. La majorité des ethnomédecins accordant une importance à l'heure de récolte préfèrent le matin. D'autre part, plusieurs ethnomédecins récoltent davantage les plants retrouvés loin de la présence humaine. Finalement, la plupart de ceux ayant indiqué l'importance de l'humidité des sites de récolte préfèrent les zones sèches. Le nombre de critères mentionnés par les ethnomédecins ($X=2.1$, $ETM=0.39$) n'est pas relié à leur âge (Pearson, $r=0.10$, $p=0.696$, $n=19$).

4. 3. 3. Utilisations médico-magiques

Le sud du Togo et du Bénin portent le berceau de la religion vaudou qui a été autrefois transportée outre-mer vers les Antilles et le Brésil avec les esclaves noirs qui la pratiquaient (Thornton 1998). Cette religion fétichiste est toujours très vivante dans la population togolaise du sud du pays. *M. charantia* est considérée par les Togolais prati-

Tableau 4. 1. Critères utilisés ou préférés pour la récolte des plantes selon 19 ethnomédecins du Togo interviewés individuellement. Nb mentions: nombre d'ethnomédecins ayant mentionnés le critère ou la catégorie de critère. Plusieurs critères et catégories possibles pour chaque ethnomédecin.

Critères de récolte ¹	Nb mentions	Catégories des critères	Nb mentions
Heures de récolte	10 (53%)	matin	9
		midi	2
		soir	4
Biotopes	11 (58%)	champs	3
		forêts	5
		loin des forêts	7
Humidité du site	10 (53%)	milieu sec	9
		milieu humide	3
Stade phénologique	3 (16%)	plant avec fleurs	1
		plant avec fruits	2
Type de sol	3 (16%)	sol rocailleux	2
		sol argileux	2
		terre noire	1
Intensité lumineuse	3 (16%)	assez ensoleillé	2
		plein soleil	2

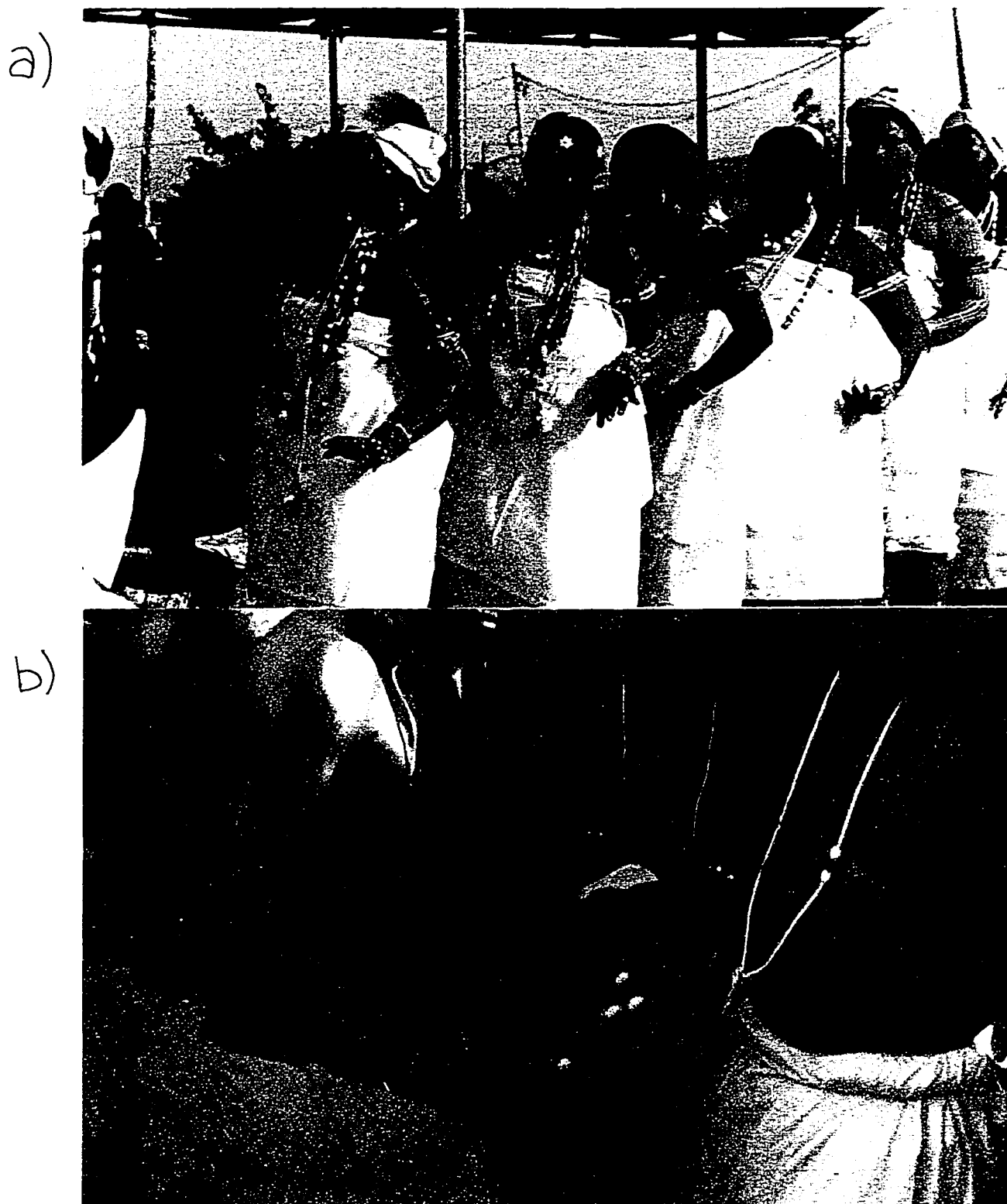
¹ Cinq ethnomédecins n'ont mentionné aucun critère de récolte. Ils pourraient toutefois utiliser (consciemment ou non) d'autres critères non mentionnés par l'interviewer.

quant le vaudou (les "vaudoussi") comme une plante ayant certains pouvoirs magiques. D'ailleurs, 63% des ethnomédecins interrogés lors de cette étude ont mentionné que *M. charantia* possèdent des pouvoirs médico-magiques. Dix-huit ethnomédecins sur 19 proviennent d'ailleurs du Sud-Togo. La plante aurait donc des effets protecteurs très puissants contre les malédictions, la maladie, les mauvais esprits, les envoûtements, la folie. Elle peut aussi aider à obtenir des faveurs non obtenues. Elle est considérée comme une plante purificatrice et peut donc être utilisée avant de manipuler des objets sacrés (figure 4.2).

La plante est effectivement utilisée lors de cérémonies traditionnelles liant les vivants aux Ancêtres, i.e. les membres décédés de la communauté, particulièrement chez l'ethnie Gē (prononcer Guin; s'écrit aussi Ge ou Eguin) de la région du Bas-Togo. Leur roi et maître-féticheur, Combiète V, demeure à la forêt sacrée de Glidji-Kpodji au Togo, tout près de la frontière béninoise. Les informations qui suivent proviennent de plusieurs sources.

En 1663, les ancêtres des Gēs vivant dans le village de Eguin sur la côte du Ghana (aujourd'hui l'actuel quartier Elabadi à Accra) ont fui les guerres entre clans rivaux s'affrontant pour le contrôle de la traite des esclaves avec les négriers européens. Les Gēs se seraient vêtus des tiges de *M. charantia* et auraient débuté leur fuite vers le Togo. Ils auraient ainsi notés que la plante exerçait une force repoussant leurs agresseurs. Ainsi, après environ 300 km de marche, ils se sont installés à Glidji-Kpodji en bordure de la lagune d'Aného sans se faire agresser par leurs ennemis, même si la région est devenue quelques années plus tard, un important transit de la traite des esclaves (Cornevin 1969). Les Gēs se souviennent de la force de cette plante et combien elle vaut à leurs yeux. C'est pourquoi ils la considèrent comme de l'or et, lors de cérémonies traditionnelles, s'en ornent comme collier ou bracelet, aussi bien au cou, qu'à la taille, au poignet ou à la cheville et même parfois en couronne. *M. charantia* possède plusieurs noms vernaculaires en mina,

Figure 4. 2. Ekpassosso, "la prise de la pierre": célébration traditionnelle des Gẽs à Glidji-Kpodji, Togo. a) femmes "voudoussi" dansant une chorégraphie traditionnelle; b) assistants "voudoussi" du maître-féticheur transportant la pierre des oracles lors de Ekpassosso. Remarquez les colliers de tiges feuillées de *Momordica charantia* L., plante aux propriétés purificatrices, portés par les hommes. La pierre blanche indique de bons présages pour l'année qui suit.



la langue parlée par les Gë̀s, dont celui de gbesisi, “la plante d’or” et guingbe “la plante des Gë̀s”. La plante est donc utilisée lors de plusieurs cérémonies vaudou, dont la fameuse consultation des oracles appelée Epe-Ekpe ou Ekpressosso, “la prise de la pierre” (figure 4.2). Cet événement marque le début de la grande fête des Gë̀s, Yéké-Yéké, célébrée chaque année au début de septembre à Glidji-Kpodji (Piroux 1977).

4. 3. 4. Activité antivirale de *Momordica charantia* L.

Tous les extraits lyophilisés de *M. charantia* présentent une activité antivirale très forte contre les virus HSV-1 et SINV (tableau 4.2). Les deux virus sont similairement susceptibles. Les extraits provenant des zones écologiques 1 à 4 sont significativement plus efficaces que celui provenant de Aného (zone 5) lorsque testés à la lumière contre HSV-1 (ANOVA: $F=4,486$; $df=4$; $p=0,014$; $n=20$) et contre SINV (ANOVA: $F=9,269$; $df=4$; $p=0,002$; $n=15$). Celui de Kpendélé (zone 3) est légèrement moins efficace que ceux des zones 1, 2 et 4. Les cinq extraits sont marginalement plus efficaces à la lumière qu’à l’obscurité contre HSV-1 (test de t: $t=-1,906$; $df=28$; $p=0,067$), mais ne sont pas actifs contre SINV à l’obscurité.

Les momordicines I et II ont aussi été testées contre les deux types de virus, sans effet antiviral apparent jusqu’à une concentration de 250 $\mu\text{g/ml}$. Au-delà de cette concentration, les momordicines étaient cytotoxiques.

Tableau 4. 2. Activités antivirales de *Momordica charantia* L. contre les virus membranaires HSV-1 et SINV: concentration minimale antivirale de 5 extraits éthanoliques lyophilisés de tiges feuillées provenant de 5 régions écologiques du Togo. Les bioessais ont été effectués sur des cellules Vero à la lumière et à l'obscurité afin de vérifier la photosensitivité des extraits.

Zone écol.	Village / Latitude	Concentration min. antivirale (µg/ml)			
		HSV-1 ¹		SINV ¹	
		lumière	obscurité	lumière	obscurité
1	Sinkassé / 11°06'N	< 4	12	3	> 175
2	Kpéssidè / 09°38'N	< 3	51	< 2	> 175
3	Kpendélé / 07°47'N	9	10	5	> 175
4	Anyigbanyo / 07°40'N	< 2	35	< 2	> 175
5	Aného / 06°14'N	115	440	40	> 175

¹ Les expériences contre HSV-1 ont été répétées 8 et 4 fois, pour les tests à la lumière et à la noirceur respectivement; les expériences contre SINV, 6 et 4 fois.

4. 3. 5. Activité anthelminthique de *Momordica charantia* L.

Les trois extraits éthanoliques des tiges feuillées de *M. charantia* présentent tous une activité anthelminthique importante contre une espèce de nématode libre, *Caenorhabditis elegans* (tableau 4.3). Les 3 extraits, provenant de trois régions différentes du Togo, contiennent des concentrations variées en momordicines I et II. L'extrait le plus concentré en momordicines (197 $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'extrait lyophilisé), celui de Siou, village des savannes à l'est des montagnes de l'Atakora, est aussi le plus efficace en tant que nématocide. L'extrait de Efolo, village situé au coeur de la savanne guinéenne, contient environ 1,5 fois moins de momordicines (119 $\mu\text{g}/\text{mg}$), mais est seulement 12% moins efficace. L'extrait de Togo Komé, village situé tout près de la côte, est deux fois moins efficace que celui de Siou et contient environ deux fois moins de momordicines totales (92 $\mu\text{g}/\text{mg}$). En comparaison, le Levamisole®, présente une efficacité nématocide 28 fois supérieure à l'extrait de Siou.

Les momordicines I et II ont aussi été testées contre *C. elegans*. À une concentration de 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, la momordicine I cause 19% de mortalité ($\text{SE}=4,3\%$; $n=10$) et la momordicine II, 22,5% de mortalité ($\text{SE}=3,3\%$; $n=10$). Les deux formes présentent donc une activité anthelminthique similaire. Cependant, vu le nombre restreint de réplicats et l'essai à une seule concentration, ces résultats sont très approximatifs. La CL_{50} n'a pu être établie en raison du manque de composés standards.

4. 3. 6. Effets environnementaux sur le contenu en momordicines

Afin de vérifier si les critères de récolte mentionnés par les ethnomédecins sont basés sur l'effet de l'écologie chimique de *M. charantia*, les concentrations en momordicines (I, II et totales) ont été étudiées en fonction de plusieurs facteurs environnementaux. Les momor-

Tableau 4. 3. Activités anthelminthiques de *Momordica charantia* L. contre *Caenorhabditis elegans*: CL₅₀ de 3 extraits éthanoliques lyophilisés de tiges feuillées provenant de 3 régions du Togo. La concentration en momordicines I et II de chaque extrait est précisée. Chaque CL₅₀ a été calculée à partir du log(morts/survivants) en fonction du log(concentration de l'extrait dans le milieu). Les résultats du Levamisole®, un nématocide commercial, sont donnés en référence.

Village/ Latitude	CL ₅₀ ¹ µg/ml	Momordicines		N	r ²	F	p
		I ²	II ²				
Siou / 09°49'N	473	0	197	36	0,60	52,72	<0,001
Efolo / 09°17'N	538	56	63	53	0,35	27,44	<0,001
Togo Komé / 06°13'N	997	81	11	52	0,46	43,08	<0,001
Levamisole®	17		---	17	0,25	4,96	0,042

¹ Concentration à laquelle 50% des nématodes sont trouvés morts (dans ce cas, immobiles). Solvant: EtOH 60%

² Concentration en µg de momordicines I et II par mg d'extrait lyophilisé

dicines ont été choisies comme indicateur de la bioactivité des tiges feuillées de *M. charantia*, puisque ces triterpénoïdes sont des principes amers ayant un effet antiappétant chez plusieurs insectes (Sharma et Hall 1973, Chandravadana 1987, Yasui *et al.* 1998). D'autres métabolites secondaires sont synthétisés par *M. charantia*, mais les momordicines sont les métabolites secondaires prédominants (Chandravadana 1987, Yasui *et al.* 1998, voir chapitre 2) dans les feuilles, parties végétales utilisées principalement au Togo.

L'heure de récolte des plants n'influence pas leur concentration en momordicines (tableau 4.4). L'heure n'est pas non plus corrélée significativement avec le contenu en eau des plants, bien qu'une certaine tendance négative soit observée ($r=-0,191$; $p=0,180$). Cette faible relation linéaire indiquerait que les plants récoltés en fin de journée ont évidemment tendance à contenir moins d'eau.

Les plants des sites de récolte près des habitations sont les plus concentrés en momordicines, suivis des sites en bordure de chemin, des plantations, des dépotoirs domestiques et, en dernier lieu, des milieux arborés. Les biotopes ne comportant qu'un ou deux sites ont été omis. Le nombre de sites de récolte par biotope est très variable. Néanmoins, l'analyse non-paramétrique des momordicines totales ne distingue pas de différences significatives entre les biotopes (Kruskal-Wallis: $\chi^2=8,289$; $p=0,082$; $df=4$; $n=46$), de même que pour les momordicines I et II prises individuellement.

En discriminant les sites de récolte se retrouvant à proximité des sites habités de ceux ne l'étant pas, on observe que les premiers ont des plants de *M. charantia* significativement plus concentrés en momordicines totales (test de t: $t=-2,078$; $p=0,043$; $df=52$).

L'humidité des sites de récolte peut être définie à l'aide des variables de précipitations annuelles et de variabilité annuelle en précipitations ("Précipitations" et "Vprécipitation"; tableau 4.4). Vprécipitation est définie comme la mesure de la variabilité des précipitations

Tableau 4. 4. Corrélations entre la concentration en momordicines des tiges feuillées de *Momordica charantia* L. récoltées au Togo et certains facteurs liés au climat ou à la récolte des plantes. Ces facteurs représentent les critères de récolte des ethnomédecins togolais interviewés lors de cette étude. Les coefficients de corrélation de Pearson (r) sont calculés à partir des logarithmes naturels des concentrations en momordicines. Certains facteurs environnementaux ont dû être transformés (voir chapitre 3, section 3. 2. 7.). Les relations significatives sont indiquées comme suit: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Facteurs environnementaux	Coefficient de corrélation (r) avec les momordicines			n
	I	II	totales	
Heure de récolte	0,047	-0,020	-0,001	54
Précipitations ¹	-0,285 *	0,252	-0,025	53
V précipitations ²	0,262	0,152	0,358 **	53
Hydratation des plants ³	-0,411 **	-0,401 **	-0,484 ***	54

¹ Précipitations: moyenne annuelle régionale de pluviométrie (mm)

² V précipitation: coefficient de variation entre les moyennes mensuelles régionales de pluviométrie

³ Hydratation des plants: contenu en eau des plants récoltés (%)

mensuelles moyennes. Globalement, les résultats indiquent que les plantes poussant dans un milieu où les précipitations mensuelles varient drastiquement durant l'année sont plus concentrées en momordicines totales. Par contre, la quantité annuelle des précipitations a un impact variable sur ces mêmes composés. L'abondance des pluies favorise la concentration en momordicine II, tandis que les milieux plus secs ont des plants plus concentrés en momordicine I.

Les plants provenant de la zone écologique 2 (savanne arborée près des montagnes de l'Atakora) diffèrent significativement des plants des autres zones quant à leur concentration en momordicines totales ($F=3,503$; $df=4$; 46 ; $p=0,014$).

4. 4. DISCUSSION

4. 4. 1. Utilisations de *Momordica charantia* au Togo

La présente étude indique un niveau élevé de connaissances générales des Togolais sur la végétation, particulièrement pour ceux demeurant en milieu rural. Il a été fréquemment observé lors de la récolte de plantes qu'une majorité de gens peuvent reconnaître un nombre important d'espèces végétales, les nommer dans leur langue vernaculaire et savoir où il est possible de les retrouver. Cette situation s'applique probablement à l'ensemble de l'Afrique de l'Ouest. Ces connaissances sont évidemment liées à l'utilisation quotidienne de ces espèces, soit pour s'en nourrir, s'en servir comme source d'énergie, comme matériaux de construction et aussi comme phytomédicaments, ceux-ci étant alors des remèdes courants et auto-administrables. D'autres types de phytomédicaments sont, par contre, préparés et prescrits exclusivement par les ethnomédecins. La présence fréquente de *M. charantia* près des maisons indique que cette plante est d'usage commun et à la portée de tous.

4. 4. 1. 1. Consensus entre la population locale et les ethnomédecins

Les deux catégories d'utilisation les plus importantes de *M. charantia* pour la population du Togo, soit les maux de ventre et les maladies virales infantiles, sont aussi les plus importantes chez les ethnomédecins, ce qui dénote un consensus d'utilisation entre les

deux groupes. La plus grande importance attribuée à la plante par les ethnomédecins dans les cas liés à la gynécologie est sûrement due à une utilisation réellement plus intense, mais possiblement aussi à une moins grande gêne à parler d'avortement avec l'interviewer. La plante est aussi relativement plus utilisée contre la fièvre et les infections par les ethnomédecins que par la population en général. À la lumière des résultats d'activité antivirale et antibactérienne discutée plus loin à la section 4. 4. 2. 1. 4., cette différence démontre des connaissances médicales plus approfondies chez les ethnomédecins. La même remarque s'applique aux utilisations de la plante dans les cas de diabète mentionnés aussi exclusivement par eux.

4. 4. 1. 2. Consensus entre les ethnies du Togo

Selon Cornevin (1969), il existerait 3 regroupements linguistiques principaux au Togo: les langues Gour, les langues Koua et celles dites intermédiaires. Les langues Koua rassemblent, pour la présente étude, les ethnies des sous-groupes Adja-Ewe (recensées: Ewe, Mina, Fon, Wegbé, Akan) et Yorouba (Ana, Ifé). Les langues Gour rassemblent, pour la présente étude, les ethnies des sous-groupes Paragourma (Bassari, Moba, Mossi), Tem-Kabyé (Kabyé, Losso, Lamba, Nawduba, Kotokoli) et Akébou. Les langues dites intermédiaires, appelées aussi semie-bantoues, n'étant représentées que par une seule mention (Akposso), ont été omises pour le reste de l'étude. La culture et le caractère distinct de chaque regroupement, et même de chaque sous-groupe, sont très fortement liés à la langue ou au dialecte parlé par les gens s'y rattachant. Ceux-ci partagent souvent les mêmes ancêtres et ont donc une histoire commune. La religion et les nombreuses traditions sont aussi des facteurs rassembleurs au sein d'une ethnie ou d'un groupe d'ethnies (Cornevin 1969).

Le consensus d'utilisation d'un phytomédicament par plusieurs ethnies envers une pathologie spécifique peut indiquer une bioactivité réelle de la plante (Arnason *et al.* 1981, Farnsworth 1985, Bye 1986, Trotter et Logan 1986, John *et al.* 1990). Les résultats de cette étude montrent que les ethnies de langue Gour emploient *M. charantia* pour les mêmes utilisations, et dans une importance semblable, que les ethnies de langue Koua. Même si les voies de communication se sont grandement multipliées et améliorées au Togo depuis les 30 dernières années, les habitudes et les traditions ne changent pas nécessairement instantanément lorsque les membres de deux ethnies différentes se côtoient. Cependant, *M. charantia*, espèce des zones tropicales humides, ne devrait pas se retrouver naturellement dans les régions sèches du nord Togo. La présence de la plante dans ces zones, uniquement près des habitations où elle y est entretenue volontairement, indique un nécessaire transfert de la plante du sud au nord (voir chapitre 3, section 4. 3). Le moment et l'ampleur de ce transfert, la provenance des génotypes et les ethnies impliquées sont des questions intéressantes, mais sortent du cadre de cette étude. Ainsi, la similitude d'utilisation entre les ethnies de langues Gour et Koua est un bon indice d'une véritable bioactivité de *M. charantia* en tant que phytomédicament. En effet, son efficacité lui a peut-être permis de franchir les frontières ethniques et linguistiques.

4. 4. 1. 3. Consensus à travers le monde

Les consensus interculturels à travers le monde apportent aussi des indices intéressants. Les utilisations mentionnées au Togo sont aussi répertoriées chez d'autres peuples (tableau 4.5). La catégorie d'utilisation la plus importante au Togo, soit contre les maux de ventre, est aussi mentionnée par le plus grand nombre de pays dans la base de données NAPRALERT. Cependant, *M. charantia* ne semble pas être tellement utilisée

Tableau 4. 5. Nombre de pays où *Momordica charantia* L. est utilisée traditionnellement pour différents usages. La colonne "Toutes les parties" inclut toutes les expériences impliquant cette espèce, peu importe la partie végétale utilisée. Les deux autres colonnes précisent les parties végétales utilisées. Données (n=234 mentions ethnobotaniques) tirées de NAPRALERT.

Usages	Toutes les parties	Feuilles	Fruits
Problèmes gastro-intestinaux	34	8	15
Diabète	21	7	11
Avortement/Contraception	20	6	4
Dermatose/Brûlure	20	4	6
Fièvre/Antibiotique	15	6	6
Foie et Rate	7	2	4
Paludisme	7	3	2
Inflammation interne	6	1	4
Nourriture	6	0	4
Tonique/Aphrodisiaque	6	2	1
Poumons	3	1	1
Coeur	2	1	1
Virus	2	1	0
Insecticide	2	0	1

mondialement contre les maladies virales infantiles comme c'est le cas au Togo. L'utilisation de *M. charantia* contre les problèmes de peau, troisième au Togo, est la quatrième utilisation en importance dans la liste mondiale.

Il est important de mentionner que les utilisations les plus courantes, peu importe l'espèce végétale étudiée, sont souvent liées aux pathologies les plus fréquentes. Le tableau 4.5 confirme tout à fait cette tendance. Les problèmes gastro-intestinaux sont effectivement des pathologies très courantes dans les pays en voie de développement, tout comme le sont les dermatoses, la fièvre, l'ictère et le paludisme. Il n'est donc pas surprenant de les voir en tête de liste. Par contre, on pourrait s'attendre à ce que le paludisme soit mentionné par davantage de pays vu ses conséquences néfastes considérables dans les pays tropicaux concernés. *Momordica charantia* est également peu utilisée au Togo contre le paludisme. L'absence d'activité antipaludéenne chez cette espèce (tableau 4.6) justifie cette "non-utilisation".

Malgré la progression des cas de diabète dans les pays en voie de développement, cette maladie n'y est toutefois pas connue depuis longtemps et les phytomédicaments traditionnels sont plutôt rares (Iwu 1993). Il est intéressant de constater que le diabète ne fait pas partie des catégories d'utilisations de *M. charantia* par la population du Togo, mais que cette catégorie existe chez les ethnomédecins et chez d'autres peuples à travers le monde. Plusieurs chercheurs, notamment de l'Asie, s'y intéressent et de nombreuses expériences ont été effectuées afin de vérifier l'efficacité réelle de la plante (Baldwa *et al.* 1977, Leatherdale *et al.* 1981, Welihinda *et al.* 1986, Day *et al.* 1989, Jeevathayaparan *et al.* 1991, Higashino *et al.* 1992). Bien que la plante présente des résultats prometteurs, ceux-ci sont souvent divergents et des études plus précises sont nécessaires. Une attention accrue devrait aussi être apportée à la provenance des plants utilisés.

L'utilisation traditionnelle mondiale de *M. charantia* dans les cas de gynécologie (avortement, accouchement, dysménorrhée) appuie cette même utilisation au Togo. Bien que les graines soient les parties végétales les plus utilisées pour cette catégorie d'utilisation, tant au Togo qu'ailleurs, les fruits et les feuilles sont parfois utilisés chez d'autres peuples. Les graines contiennent effectivement des composés toxiques, particulièrement la vicine et la momordine (Cunnick et Takemoto 1993).

Globalement, il existe un consensus à propos de plusieurs catégories d'utilisation de *M. charantia* entre le Togo et d'autres peuples du monde entier.

4. 4. 2. Connaissances traditionnelles en tant que compréhension de l'écologie chimique

4. 4. 2. 1. Évaluation de l'activité biologique des feuilles de *Momordica charantia*

4. 4. 2. 1. 1. Activités antivirales

La forte activité antivirale de *M. charantia* contre l'herpèsvirus HSV-1 justifie incontestablement l'utilisation traditionnelle des tiges feuillées de l'espèce au Togo contre les maladies virales infantiles, particulièrement la varicelle. En effet, cette maladie est également causée par un Herpesvirus, *Varicella*, qui fait donc partie du groupe des virus à double brin d'ADN enveloppé d'une double membrane lipidique (Pelczar *et al.* 1986). Certains caractères des virus ont été conservés à travers l'évolution (Dyda *et al.* 1994). L'effet de *M. charantia* contre HSV-1 pourrait s'appliquer aussi à *Varicella*.

Le virus Sinbis (SINV) est de la famille des Togaviridae et fait donc partie du groupe des virus à simple brin d'ARN (+) enveloppé dans une membrane lipidique simple (Darnell *et al.* 1988). Le virus causant la rougeole, *Morbillivirus* (Paramyxoviridae), contient aussi de l'ARN simple brin dans une couche lipidique, mais diffère par sa double membrane et le type (-) de l'ARN. La susceptibilité de SINV aux extraits de *M. charantia* justifie en partie l'utilisation de la plante au Togo contre la rougeole. De plus, des résultats préliminaires (non présentés) contre un virus de type influenza supportent encore davantage cette utilisation, puisque la famille des Orthomyxoviridae dont fait partie ce virus, présente des caractéristiques très similaires aux Paramyxoviridae. L'ensemble des résultats suggère à tout le moins un large spectre d'action antivirale.

Seulement deux expériences antivirales utilisant *M. charantia* sur les cinq recensées par NAPRALERT se sont avérées positives (tableau 4.6). Ces deux expériences testaient la susceptibilité du virus de la stomatite vésiculaire, virus pathogène chez l'humain, très similaire structuralement au *Morbillivirus* (Takemoto *et al.* 1983). Cependant, le test portait sur l'efficacité des fruits secs. Le jus des fruits montre aussi une activité antitumorale *in vivo* (Jilka *et al.* 1983).

Les tests de photosensibilité des extraits lyophilisés suggèrent la présence dans les tiges feuillées de *M. charantia* d'au moins 2 composés antiviraux ayant des propriétés différentes. L'un est un composé photosensible efficace contre les 2 types de virus. L'autre est un composé non-photosensible ayant une activité antivirale uniquement contre HSV-1. L'identité chimique des deux composés antiviraux n'est pas connue. C'est la première fois qu'une activité déclenchée par la lumière est démontrée chez cette espèce.

Les momordicines présentes dans les feuilles de *M. charantia* ne sont pas ces composés antiviraux suggérés. Pourtant, les cucurbitacines retrouvées chez plusieurs

Tableau 4. 6. Pourcentage d'expériences dans la littérature scientifique considérées positives quant à l'activité biologique de *Momordica charantia* L. envers différents organismes ou pathologies. La colonne "Toutes les parties" inclut toutes les expériences impliquant cette espèce, peu importe la partie végétale utilisée. Les deux autres colonnes, "Feuilles" et "Fruits", précisent les parties végétales utilisées. Le nombre total d'expériences répertoriées est entre parenthèses. Données tirées de NAPRALERT (mars 1995).

Pathologies	Toutes les parties ¹	Feuilles	Fruits
Virus	40% (5)	-- --	40% (5)
Helminthes	100% (3)	-- --	100% (2)
Bactéries	71% (85)	53% (17)	88% (50)
Gynécologie	24% (17)	11% (9)	0% (4)
Fungi	12% (33)	0% (4)	40% (10)
Paludisme	0% (6)	0% (5)	-- --

¹ Le nombre total d'expériences recensées n'équivaut pas toujours à l'addition du nombre d'expériences des deux colonnes suivantes si d'autres parties de la plante ont été testées.

cucurbitacées, démontrent une grande cytotoxicité envers les cellules tumorales KB et HeLa (Suffness et Douros 1979, Konopa *et al.* 1974). Ces triterpénoïdes tétracycliques, absents chez *M. charantia*, sont chimiquement très similaires aux momordicines.

Certains composés pourraient avoir un effet antiviral. Il a été constaté que l'activité de la guanylate cyclase s'accroît généralement au niveau des cellules tumorales (Hadden *et al.* 1972). Or, les fruits mûrs et les feuilles de *M. charantia* contiennent un inhibiteur de guanylate cyclase (Takemoto *et al.* 1982, Vesely *et al.* 1977) qui a été testé positivement contre des cellules leucémiques.

Finalement, l'utilisation de la plante contre la varicelle et la rougeole est peut-être aussi liée au soulagement des problèmes cutanés que ces pathologies engendrent. D'ailleurs, plusieurs répondants ont dit utiliser la plante de façon externe (en se lavant avec l'eau de trempage) en plus de consommer la plante. Les problèmes cutanés seront abordés à la section 4. 4. 2. 1. 4.

4. 4. 2. 1. 3. Activités anthelminthiques

L'activité anthelminthique des tiges feuillées de *M. charantia* justifie la plus importante utilisation de cette plante au Togo, soit contre les maux de ventre. En effet, plusieurs nématodes sont pathogènes à l'homme, particulièrement au niveau gastro-intestinal (Pelczar *et al.* 1986). La consommation de la plante pourrait réduire le degré de parasitisme intestinal. Pour des raisons de réglementation et de sécurité, les bioessais effectués pour la présente étude testaient l'efficacité nématocide de la plante contre des nématodes libres présents dans le sol, et non pas pathogènes à l'humain. Les nématodes étant des organismes relativement peu complexes, il est probable que l'effet nématocide

observé chez une espèce de nématode soit applicable chez une autre. Les 3 expériences anthelminthiques répertoriées par NAPRALERT sont toutes positives (tableau 4.6; fruit: Lal *et al.* 1976; graines: Sharma et Trivedi 1994, Sharma *et al.* 1971).

Les momordicines testées individuellement présentent un effet nématocide relativement important, chacune causant près de 20% de mortalité à seulement 20 µg/ml. Cependant, les valeurs absolues des CL₅₀ n'ont pu être établies pour la présente étude. Toutefois, si l'on observe les concentrations en momordicines des extraits testés, on voit que les momordicines I et II ont une activité nématocide similaire. En effet, l'extrait de Siou ne contient que des momordicines II et l'extrait de Togo Komé, deux fois moins concentré en momordicines totales et, donc, deux fois moins efficaces, contient principalement des momordicines I. Ceci contraste avec d'autres bioessais effectués sur des insectes démontrant une plus grande susceptibilité à la momordicine II (Chandravadana 1987, Yasui *et al.* 1998). L'extrait de Efolo contenant des proportions égales des deux formes de momordicines présente une CL₅₀ plus faible que prévue selon les résultats des deux autres extraits. Ceci pourrait indiquer une certaine synergie entre les deux composés quant à leur efficacité nématocide. Ce pourrait aussi être dû à la présence dans l'extrait d'autres composés apparentés ayant également un effet anthelminthique (Yasui *et al.* 1998).

4. 4. 2. 1. 4. Activités antibactériennes

Dans la base de données NAPRALERT détaillant les activités biologiques testées de *M. charantia*, on retrouve des expériences antibactériennes plus que toute autre (85 sur 153; tableau 4.6), étant probablement les plus aisées et les plus rapides à effectuer. *M. charantia* a un effet bactéricide important, puisque 71% des expériences effectuées envers des bactéries se sont avérées concluantes, et ce, peu importe la partie de la plante utilisée.

Les fruits sont plus souvent actifs (88% des expériences utilisant les fruits) que les feuilles (53%). Il est à noter qu'il existe davantage d'expériences testant l'efficacité des fruits que celle des feuilles. Ainsi, l'effort de recherche biaisée en faveur des fruits pourrait possiblement influencer ces observations cumulatives.

De façon intéressante, la plante est aussi efficace contre les bactéries du type gram + que contre le type gram - (tableau 4.7). Ces deux regroupements se caractérisent par des aspects morphologiques distincts, tels la composition et la structure des surfaces membranaires de la bactérie (Darnell *et al.* 1988). Les bactéries gram - sont en général plus résistantes et peu d'extraits végétaux les tuent en comparaison aux bactéries du type gram + (Dimayuga et Garcia 1991, Naqvi *et al.* 1991). De plus, la majorité de ces bactéries gram - fait partie de la famille des Enterobacteraceae (*Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, etc.). Elles se retrouvent surtout au niveau du système digestif et sont souvent la cause de plusieurs problèmes gastro-intestinaux importants (Pelczar *et al.* 1986, Caceres *et al.* 1990). *Momordica charantia* serait donc très active contre ce type de bactéries puisque 80% des 25 expériences répertoriées sont concluantes (tableau 4.7).

Ainsi, tous ces résultats antibactériens justifient incontestablement l'utilisation traditionnelle de la plante au Togo contre les maux de ventre.

4. 4. 2. 1. 5. Autres activités biologiques établies

Selon la base de données NAPRALERT d'activité biologique de *M. charantia*, les autres pathologies liées aux utilisations de la plante au Togo, soient les problèmes gynécologiques, les fungi et le paludisme, ne semblent pas ou peu affectées par *M. charantia* (tableau 4.6).

Tableau 4. 7. Pourcentage d'expériences dans la littérature considérées positives quant à l'activité antibactérienne de *Momordica charantia* L. La colonne "Toutes les parties" inclut toutes les expériences impliquant cette espèce, peu importe la partie végétale utilisée. Les deux autres colonnes, "Feuilles" et "Fruits", précisent les parties végétales utilisées. Le nombre total d'expériences répertoriées est entre parenthèses. Données tirées de NAPRALERT (mars 1995).

Bactéries	Toutes les parties	Feuilles	Fruits
Tous les types	71% (85) ¹	53% (19)	88% (50)
Gram +	83% (43)	56% (9)	95% (20)
Gram -	76% (42)	50% (10)	83% (30)
<i>Enterobacteriaceae</i>	80% (25)	50% (4)	84% (19)

¹ Le nombre total d'expériences recensées n'équivaut pas toujours à l'addition du nombre d'expériences des deux colonnes suivantes si d'autres parties de la plante ont été testées.

Pourtant, les graines contiennent effectivement des composés très toxiques, particulièrement la vicine, la momorcharine et la momordine, toutes trois étant des alcaloïdes (Cunnick et Takemoto 1993). Plusieurs expériences ont démontré les effets d'infertilité des graines de cette espèce ou de ces composés isolés (Sofowora 1982, Chan *et al.* 1984, 1985, Kubota *et al.* 1986). Les graines de *M. charantia* au Togo servent exclusivement au traitement des cas de gynécologie.

Les affections dermiques causées par des fungi ne sont probablement pas enrayerées à l'aide de *M. charantia*, puisqu'aucune des 4 expériences antifongiques testant les feuilles de cette plante ne s'est avérée concluante (tableau 4.6). Cependant, l'action anti-inflammatoire de la plante entière de *M. charantia* a été démontrée dans un test d'induction d'oedème de la patte chez le rat (Lal *et al.* 1990). De plus, en comparaison, certaines saponines du *Panax* ont démontré une activité anti-inflammatoire (Yuan *et al.* 1983) et même analgésique (Kita *et al.* 1981, Lei *et al.* 1984). De plus, les parties aériennes de *M. charantia* contiendraient des verbascosides et de l'acide rosmarinique ayant des propriétés anti-inflammatoires (Harbone et Baxter 1993). L'utilisation des feuilles de *M. charantia* contre les problèmes cutanés est donc possiblement liée à une activité anti-inflammatoire plutôt qu'à un effet antifongique.

Finalement, il est intéressant de constater, qu'une fois trempées, les feuilles et tiges de *M. charantia* sont parfois utilisées comme éponge pour le corps. Ces parties végétales contiennent des saponines (momordicines) et leur trempage dans l'eau fait mousser celle-ci à cause des propriétés émulsifiantes des saponines (Hiller 198?).

4. 4. 2. 2. Évaluation des critères de récolte des ethnomédecins

Les trois critères de récolte les plus utilisés par les ethnomédecins interviewés, soient l'heure de récolte, la proximité de la présence humaine et l'humidité de la zone, ont des relations différentes avec les contenus en momordicines des plants récoltés.

Tout d'abord, le fait de récolter la plante à diverses heures de la journée ne change en rien sa bioactivité telle qu'évaluée par sa concentration en momordicines. De plus, cueillir les plantes le matin, comme le font la majorité des ethnomédecins considérant ce critère, ne favorise probablement pas une récolte de plantes concentrées en momordicines. En effet, le contenu en eau des tissus tend à être plus élevé le matin, parce que la transpiration est plus faible et aussi parce que le sol est souvent encore humide des pluies nocturnes tropicales. Or, la concentration en momordicines par gramme de plant sec est plus faible dans les plants gorgés d'eau (tableau 4.4).

Néanmoins, la présente étude démontre qu'au moins un composé photosensible serait responsable de l'activité antivirale des extraits des tiges feuillées de *M. charantia* contre les virus HSV-1 et SINV. Cela pourrait en partie expliquer l'importance de l'heure de récolte pour les ethnomédecins. Ceux-ci pourraient de cette façon choisir le moment de la journée où les composés photosensibles n'ont pas été encore dégradés par les rayons de soleil intenses des tropiques (Arnason *et al.* 1995), ce qui dénoterait une connaissance traditionnelle importante des mécanismes de défense des végétaux. Les critères de récolte mentionnés le plus souvent par les ethnomédecins ne s'appliquaient pas exclusivement à *M. charantia*, mais à l'ensemble des plantes récoltées comme phytomédicaments. L'habitude de récolter le matin pourrait s'avérer une méthode générale visant la récolte de plantes riches en métabolites secondaires ayant subi peu de photodégradation. Évidemment, le contraire pourrait aussi être argumenté (récolter les

plantes le matin réduit la photosensibilité des phytomédicaments).

La sélection préférentielle de plants croissant à l'écart de la présence humaine n'est définitivement pas liée à l'écologie chimique de la plante, puisque les plants retrouvés près des habitations sont les plus concentrés en momordicines. Ce choix est plutôt lié à une notion primordiale d'hygiène. En effet, les ethnomédecins accordent une grande importance à la qualité des plantes utilisées pour leurs phytomédicaments. L'utilisation de matériel végétal exempt d'agents pathogènes, souvent liés à la présence humaine, est une exigence fondamentale pour ces gardiens de la santé.

L'humidité de la zone est plus difficilement définie et cela porte à différentes interprétations. Si l'on évalue la "sécheresse" d'un site par sa pluviométrie annuelle, les conclusions quant à la pertinence de ce critère de récolte sont contradictoires. Moins il pleut, plus les plants sont concentrés en momordicine I et moins ils le sont en momordicine II. Cependant, plus la variabilité des précipitations mensuelles moyennes est grande, plus les plants sont concentrés en momordicines. Les régions ayant des valeurs élevées de Vprécipitations sont situées dans le nord du Togo. Bien qu'elles puissent recevoir une relativement grande quantité de pluie très ponctuellement, surtout à plus haute altitude, ces régions sont grandement affectées par la saison sèche et particulièrement par l'Harmattan, un courant d'air très sec qui balaie les régions au sud du désert durant cette période (Trewartha 1981). La corrélation positive entre la variabilité des précipitations et la concentration en momordicines des plants récoltés supporte le choix d'une région sèche comme critère de récolte des ethnomédecins.

Un aspect physiologique important pourrait tout simplement expliquer ce critère populaire: les plants croissant en milieu sec sont moins gorgés d'eau, ce qui fait qu'un certain volume de plantes contient plus de composés secondaires que le même volume de

plants gorgés d'eau. Rappelons que les posologies sont plutôt approximatives et évaluées surtout au volume ("une poignée de plantes...").

Les génotypes des plants pourraient peut-être expliquer la préférence des ethnomédecins pour des plants de milieux secs. En effet, lorsque ce critère était mentionné, il n'était pas évident de comprendre si les ethnomédecins voulaient parler de la sécheresse d'un milieu quelconque, peu importe sa situation géographique, ou celle d'une région du nord Togo, caractérisée par une importante période de sécheresse. Or, il a été observé que certains plants provenant de la zone écologique 2 sont très concentrés en momordicines totales et en momordicine II en particulier (chapitre 3, section 3. 3. 1. 4.). La spécificité de ces plants est probablement liée à un chémotype distinct dont les ethnomédecins connaissent peut-être l'existence.

En résumé, pour cette section sur les critères de récolte des ethnomédecins, bien que l'heure de récolte ne soit pas importante quant à la concentration en momordicines des feuilles de *M. charantia*, elle pourrait l'être au sein d'une mesure générale de sélection des produits photoactifs non dégradés par l'excès de lumière. De plus, le fait de choisir des plantes se trouvant loin de la présence humaine démontre le souci des ethnomédecins envers l'hygiène des phytomédicaments préférablement à une concentration élevée en composés secondaires. Finalement, bien que la préférence des milieux secs par les ethnomédecins ne soit qu'en partie supportée par les valeurs de précipitations annuelles, elle est en majorité appuyée par 3 variables, soit la variabilité en précipitations mensuelles, l'aspect génotypique des plantes et leur physiologie. Ce dernier facteur pourrait aussi s'appliquer à un critère général de récolte.

Il est toutefois important de relativiser ces résultats. Les moyens utilisés pour tester l'hypothèse proposée ne sont peut-être pas tout à fait appropriés. Par exemple, la

concentration en momordicines a été choisie comme valeur quantifiable de l'efficacité biologique des feuilles de *M. charantia*, mais d'autres composés pourraient être de meilleurs marqueurs bioactifs. Les présents résultats sur l'efficacité antivirale, non liée aux momordicines, le confirment. De plus, la simple quantification des composés chimiques individuels ne tient pas compte des interactions et synergismes agissant au sein d'un ensemble de composés chimiques. Afin d'en tenir compte, il aurait été préférable de tester directement l'efficacité biologique de chaque plante récoltée. Enfin, le seul fait de connaître les propriétés médicinales de plusieurs dizaines d'espèces prouvent que les ethnomédecins possèdent un grand savoir sur la végétation et sur ses incessantes variations génotypiques et phénotypiques.

4. 4. 2. 3. Importance des différences culturelles: rites et protocoles

Il est impossible de passer sous silence l'importance portée par les rites et les protocoles au sujet de la crédibilité des ethnomédecins (Moerman 1979). Ceux-ci se doivent de gagner la confiance de leurs patients et, pour se faire, doivent avoir foi en eux-mêmes, ainsi qu'aux soins prodigués et aux phytomédicaments administrés. Cette confiance primordiale n'est possible que par l'exécution de certains gestes que l'on pourrait aussi dénommer rituels, cultes, symboles, protocoles, convenances, règles, bienséances, etc. Cette situation n'est pas exclusive aux ethnomédecins. Les sarraus blancs portés par les médecins "occidentaux", leurs diplômes accrochés au mur du bureau de consultation, leur serment d'Hippocrate, sont des règles établies par le système de santé où ils évoluent. Ces rites et protocoles sont en accord avec la culture de la majorité de leurs patients et sont nécessaires afin d'établir un climat de confiance propice à la guérison. Nul besoin de préciser l'envergure considérable des effets placebos dans le système de

santé "occidentale" où le "culte des pilules" est prédominant (Materson 1990, McQuay *et al.* 1996, Illyckyj 1997). Ainsi, les ethnomédecins ont aussi leurs rites et protocoles qui peuvent entre autres s'appliquer à la récolte des plantes. Certains ethnomédecins interviewés lors de la présente étude mentionnaient l'importance de récolter les plantes tôt le matin, avant d'avoir parlé à quiconque. La raison d'être de cette règle est peut-être une efficacité médicinale accrue de la plante ou bien un "rituel de confiance en soi". La première explication apparaît sûrement plus spectaculaire au niveau scientifique, mais, au bout du compte, n'en est pas plus importante que la deuxième, le résultat à atteindre étant l'amélioration de la qualité de vie de la communauté.

4. 5. CONCLUSION

Il existe donc un réel consensus d'utilisation de *M. charantia* entre les différentes ethnies du Togo et également entre la population en général et les ethnomédecins. L'espèce sert principalement de phytomédicaments contre les maux de ventre et les maladies virales infantiles. Les ethnomédecins semblent toutefois posséder des informations plus précises quant à l'utilisation de la plante, notamment dans les cas liés à la gynécologie ou aux infections bactériennes et au diabète.

Ces connaissances traditionnelles de l'activité biologique de la plante sont confirmées par des bioessais anthelminthiques et antiviraux, ainsi que par d'autres études tirées de la littérature scientifique. De plus, les critères utilisés par les ethnomédecins pour la récolte des plantes dénotent une certaine compréhension des phénomènes d'écologie chimique observés dans les milieux naturels. En effet, ils semblent choisir les plants les plus concentrés en métabolites secondaires, sans toutefois lésiner sur l'hygiène des produits naturels. Ils contrôlent aussi possiblement l'activité biologique photosensible des plantes, observées au niveau de l'activité antivirale de *M. charantia*, en les récoltant le matin. Les deux hypothèses proposées ont donc été globalement confirmées.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les efforts de recherche développés au cours de ce projet de maîtrise ont permis plusieurs avancées importantes concernant l'espèce *Momordica charantia* L. dans des domaines aussi variés que la phytochimie, l'écologie chimique et l'ethnobotanique.

Une nouvelle méthode de chromatographie liquide à haute pression (HPLC) permet dorénavant la séparation et la quantification rapide des momordicines, biomarqueurs importants chez cette espèce. Aucune méthode n'était disponible jusqu'alors. D'ailleurs, peu d'études phytochimiques se sont intéressées aux composés présents dans les feuilles de cette plante. Ces méthodes seront utiles autant aux chercheurs en écologie chimique qu'à ceux en ethnopharmacologie ou en phytopathologie.

Les théories en écologie chimique ont principalement été développées en milieux boréal et tempéré. La présente étude démontre que les principes généraux à la base des théories de l'équilibre croissance-différenciation et de l'équilibre carbone/nutriment sont aussi applicables aux climats tropicaux. Le métabolisme secondaire des plants récoltés au Togo et plusieurs facteurs environnementaux attribués aux sites de récolte sont significativement corrélés. Ces relations sont souvent de faible intensité et même parfois contradictoires entre les deux formes de momordicines. Néanmoins, il ressort qu'une intensité lumineuse élevée et un habitat plutôt sec en favorise une concentration élevée. Toutefois, le meilleur modèle de régression linéaire décrivant la variation en momordicines dans les plants récoltés au Togo inclut, dans l'ordre relatif d'importance, la température au mois de récolte, la variabilité mensuelle des précipitations et l'intensité lumineuse au site de récolte.

Une expérience en serre sur la croissance de la plante a permis de confirmer une tendance observée sur le terrain, soit qu'un effet génotypique s'exerce effectivement sur le métabolisme secondaire des plants du Togo. Cette expérimentation a même permis de localiser la présence d'un chémotype très concentré en momordicine II.

Ces deux approches écologiques, l'une comparative, l'autre expérimentale, ont permis d'en connaître davantage sur l'écologie chimique de cette espèce telle que retrouvée en Afrique de l'Ouest. Cela permettra aussi une meilleure utilisation de la plante, particulièrement dans le cadre du projet de valorisation des plantes médicinales au Togo.

Momordica charantia est une plante médicinale très populaire et importante au Togo et également dans toute cette sous-région de l'Afrique de l'Ouest. Son étude ethnobotanique a été une occasion privilégiée d'en connaître davantage sur l'étendue de ses utilisations et sur les différences et consensus existant entre les différentes ethnies togolaises l'utilisant. La description des propriétés médico-magiques importantes de cette espèce, particulièrement chez les Gèss du Bas-Togo, est un apport substantiel aux études anthropologiques du Togo.

Le travail des ethnomédecins est d'une importance primordiale quant à l'amélioration de la santé dans les pays en voie de développement. Leurs efforts et leur statut importants au sein des communautés pour lesquelles ils oeuvrent doivent être reconnus, autant par les membres de leur ethnie et de leur pays, que par la communauté internationale. La présente étude démontre qu'ils possèdent une bonne connaissance des activités biologiques de l'espèce. La très forte activité antivirale *in vitro* des extraits lyophilisés des feuilles, ainsi que leur importante activité anthelminthique justifient l'utilisation de la plante, tant par les ethnomédecins que par la population en général, contre les affections virales infantiles et les maux de ventre. Ces derniers seraient aussi influencés par

l'activité antibactérienne importante de la plante, particulièrement contre les *Enterobacteraceae*, tel que constaté dans la littérature scientifique. Cette activité antibactérienne justifie aussi l'utilisation de la plante contre la fièvre et diverses infections mentionnées plus fréquemment par les ethnomédecins. De plus, les connaissances traditionnelles des ethnomédecins seraient également le reflet d'une certaine compréhension de l'écologie chimique des milieux naturels. Grâce aux critères que la plupart d'entre eux utilisent pour la récolte des plantes médicinales, les plants de *M. charantia* récoltés sont plus concentrés en momordicines, mais l'hygiène des produits n'est pas négligée.

La forte et large action antivirale des feuilles de *M. charantia* et leur activité anthelminthique, toutes deux démontrées dans cette étude, apportent de nouvelles connaissances scientifiques quant à l'efficacité biologique de cette espèce dont les feuilles ont été moins étudiées que les fruits. La présence d'au moins un composé photosensible est relatée pour la première fois.

Tous ces efforts de recherche accomplis par différentes approches scientifiques ont permis de mieux cerner l'importance de la plante pour la population togolaise, ainsi que son réel potentiel en tant que phytomédicament. Il est à espérer que ces informations aideront d'une certaine façon le développement du Togo, d'une part en améliorant ultimement la santé des habitants, d'autre part, en incitant de nouveaux chercheurs à s'intéresser scientifiquement à son territoire, véritable transect écologique à grande échelle constitué d'écosystèmes variés et représentatifs de l'Afrique de l'Ouest.

RÉFÉRENCES

- Abbiw, D. K. 1990. Useful plants of Ghana. Intermediate Technology Publications Ltd., London. 337 p.
- Adjanohoun, E., Cusset, G., Issa, L., Keita, A., Lebras, M., Lejoly, J. et Waechter, P. 1989. Notice pour la récolte et l'entrée de données. ACCT, Paris. 124 p.
- Ahyi, A. M. R. 1997. Processus de développement de la médecine traditionnelle et des soins de santé primaires: le cas de Togo. Séminaire International: Développement des phytomédicaments éthiques. Eds. M. Gbeassor et J. T. Arnason. Les Presses de l'UB, Lomé. pp. 17-25.
- Arnason, T., Hebda, R. J. and Johns, T. 1981. Use of plants for food and medicine by Native Peoples of eastern Canada. Canadian Journal of Botany 59, 2189-2325.
- Arnason, J. T., Durst, T., Kobaisy, M., Marles, R. J., Szenasy, E., Guillet, G., Kacew, S., Hasspieler, B. and Downe, A. E. R. 1995. Fate of phototoxic terthiophene insecticides in organisms and the environment. *In* Light-Activated Pest Control, Eds. J. R. Heitz and K. R. Downum. ACS Symposium Series vol. 616. American Chemical Society, Washington D. C. pp. 144-151.
- Amavi, A. A. and Gnamey, D. K. 1997. Vécu de la diarrhée au Togo. Séminaire International: Développement des phytomédicaments éthiques. Eds. M. Gbeassor et J. T. Arnason. Les Presses de l'UB, Lomé. pp. 107-111.

- Anonyme. 1989. Fiche-espèce: *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). Médecine traditionnelle et pharmacopée (ACCT) 3, 177-194.
- Arvigo, R. and Balick, M. 1993. Rainforest remedies: One hundred healing herbs of Belize. Lotus Press, Twin Lakes. 165 p. Cité dans Raman et Lau (1996).
- Ayensu, E. S. 1978. Medicinal plants of West Africa. Reference Publications Inc., Michigan. 330 p.
- Bailey, C. J. and Day, C. 1989. Traditional plant medicines as treatments for diabetes. Diabetes Care 12, 553-564.
- Baldwa, V. S. 1977. titre n. d. Upsala Journal of Medical Sciences 82, 39-41.
- Baldwin, I. 1988. Damage-induced alkaloids in tobacco: pot-bound plants are not inducible. Journal of Chemical Ecology 14, 1113-1120.
- Balick, M. J. 1990. Ethnobotany and the identification of therapeutic agents from the rainforest. Ciba Foundation Symposium vol. 154: Bioactive compounds from plants. Wiley & Sons Inc., Chichester. pp. 22-39.
- Balick, M. J. and Mendelsohn, R. 1991. Assessing the economic value of traditional medicines from tropical rain forests. Conservation Biology 6, 128-130.
- Berenbaum, M. 1983a. Coumarins and caterpillars: a case for coevolution. Evolution 37, 163-179.
- Bernays, E. and Graham, M. 1988. On the evolution of host specificity. In Phytophagous arthropods Ecology 69(4), 886-892.

- Bodjrenou, A. B. 1997. Concept de la maladie dans le contexte africain. Séminaire International: Développement des phytomédicaments éthiques. Eds. M. Gbeassor et J. T. Arnason. Les Presses de l'UB, Lomé. pp. 105-106.
- Brenner, J. M. 1965. Inorganics forms of nitrogen. *In* Methods of soil analysis. Vol. 9, part II. Eds. C. A. Black *et al.* American Society of Agronomy, Madison. pp. 1179-1237.
- Brenner, S. 1974. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. Genetics 77, 71-94.
- Bryant, J. P. 1987. Feltleaf willow-snowshoe hare interactions: plant carbon/nutrient balance and floodplain succession. Ecology 68, 1319-1327.
- Bryant, J. P., Chapin, F. S. and Klein, D. R. 1983. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. Oikos 40, 357-368.
- Bryant, J. P. and Kuropat, P. J. 1980. Selection of winter forage by subartic browsing vertebrates: the role of plant chemistry. Annual Review of Ecology and Systematics 11, 261-285.
- Burkill, H. M. 1985. The useful plants of West Tropical Africa. 2nd ed. Vol.1. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Burkill, I. H. 1935. A dictionary of the economic products of the Malay peninsula. 2. University Press, Oxford.
- Bye, R. A. J. 1986. Medicinal plants of the Sierra Madre: comparative study of Tarahumara and Mexican market plants. Economic Botany 40, 103-124.
- Caceres, A., Cano, O., Samayoa, B. and Aguilar, L. 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. Part I: Screening of 84 plants against

Enterobacteria. Journal of Ehnopharmacology 30, 55-73.

Chakravarty, H. L. 1959. Monograph on Indian Cucurbitaceae. *In* Records of Botanical Survey of India,. eds. n. d. pp. 86-99.

Chambliss, O. L. and Jones, C. M. 1966. Cucurbitacins: specific insect attractants in Cucurbitaceae. Science 153, 1392-1393.

Chan, W. Y., Tam, P. P. L. and Yeung, H. W. 1984. The termination of early pregnancy in the mouse by β -momorcharin. Contraception 29, 91-100.

Chan, W. Y., Tam, P. P. L., So, K. C. and Yeung, H. W. 1985. The inhibitory effects of β -momorcharin on endometrial cells in the mouse. Contraception 31, 83-90.

Chandravadana, M. V. 1987. Identification of triterpenoid feeding deterrent of red pumpkin beetles (*Aulacophora foveicollis*) from *Momordica charantia*. Journal of Chemical Ecology 13, 1689-1694.

Cogniaux, A. 1881. Cucurbitacées. *In* Monographiae Phanerogamarum. Eds. A. deCandolle *et al.* vol. 3. Paris.

Cogniaux, A. and Harms, H. 1924. Cucurbitaceae-Cucurbiteae-Cucumerinae. *In* Engler A. das Pflanzenreich. 4, 275, 2. Verlag Von Wilhelm Engelmann, Leipzig. Cité dans Burkill (1935).

Coley, P. D. 1983. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. Ecological Monographs 53, 209-233.

Coley, P. D., Bryant, J. P. and F. Stuart Chapin, I. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. Science 230, 895-899.

- Cornevin, R. 1969. Histoire du Togo. 3ième éd. H. Deschamps Éditeur. Mondes d'Outre-Mer, série Histoire. Berger-Levrault, Paris. 554 p.
- Croom, E. M. J. 1983. Documenting and evaluating herbal remedies. *Economic Botany* 37, 13-27.
- Cunnick, J. and Takemoto, D. 1993. Bitter Melon (*Momordica charantia*). *Journal of Naturopathic Medicine* 1, 16-21.
- da Costa, C. P. and Jones, C. M. 1971. Cucumber beetle resistance and mite susceptibility controlled by the bitter gene in *Cucumis sativus* L. *Science* 172, 1145-1146.
- Darnell, J., Lodish, H. and Baltimore, D. 1988. La cellule: biologie moléculaire. Trad. par P. Brosseau et al. de *Molecular Cell Biology*. Décarie Éditeur, Ville Mont-Royal. 1189 p.
- Dastur, J. F. 1952. Medicinal plants of India and Pakistan. Taraporevala Sons & Co. Ltd, Bombay. Cité dans Morton (1966).
- Davies, R. I., Coulson, C. B. and Lewis, D. A. 1964. Polyphenols in plant, humus and soil. IV. Factors leading to increase in biosynthesis of polyphenols in leaves and their relationship to mull and mor formation. *Journal of Soil Science* 15, 310-318.
- Deheer, C. J. and Tallamy, D. W. 1991. Affinity of spotted cucumber beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae to cucurbitacins. *Environmental Entomology* 20, 1173-1175.
- del Moral, R. 1972. On the variability of chlorogenic acid concentration. *Oecologia* 9, 289-300.
- Descourtilz, E. 1829. Flore pittoresque et médicale des Antilles. Vol. 8. éd. n. d.

- Dimayuga, R. E. and Garcia, S. K. 1991. Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur, Mexico. *Journal of Ethnopharmacology* 31, 181-192.
- Dyda, F., Hickman A. B., Jenkins T. M., Engelman A., Craigie R. and Davies D. R.. 1994. Crystal structure of the catalytic domain of HIV-1 integrase: similarity to other polynucleotidyl transferase. *Science* 266, 1981-1986.
- Dymock, W., Warden, C. J. H. and Hooper, D. 1891. *Pharmacographia Indica: a history of the principal drugs of vegetable origin, met with in British India*. Kegan Paul, Trench, Trüber & Co. Ltd. 643 p.
- Ehrlich, P. R. and Raven, P. H. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18, 586-608.
- Em, H. 1979. Die Vegetation Togos, Gliederung, Gefährdung, Erhaltung. *Willdenowia* 9, 295-311.
- Etkin, N. L. 1988. Ethnopharmacology: Biobehavioral approaches in the anthropological study of indigenous medicines. *Annual Review of Anthropology* 17, 23-42.
- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D. and Guo, Z. 1985. Medicinal plants in therapy. *World Health Organization Bulletin* 63, 965-982.
- Fatope, M. O., Takeda, Y., Yamashita, H., Okabe, H. and Yamauchi, T. 1990. New cucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia*. *Journal of Natural Products* 53, 1491-1497.
- Feeny, P. 1976. Plant apparency and chemical defense. *Recent Advances in Phytochemistry* 10, 1-40.

- Fraenkel, G. S. 1959. The raison d'être of secondary plant substances. *Science* 129, 1466-1470.
- Frank, J. 1975. Physiotherapy of bodily diseases: an overview. *Psychotherapy and Psychosomatics* 26, 192-202. Cité dans Moerman (1979).
- Gbeassor, M., deSouza, C., Koumaglo, K., Akpagana, K., Gumedzoe, M. and Akiikokou, K. 1997. Pourquoi les phytomédicaments éthiques? Rôle du Centre Universitaire de Recherche et de Formation sur les plantes médicinales (CERFOPLAM). Séminaire International: Développement des phytomédicaments éthiques. Eds. M. Gbeassor et J. T. Arnason. Les Presses de l'UB, Lomé. pp. 1-5.
- Gbeassor, M., Kossou, Y., Amegbo, K., Koumaglo, K. and Denke, A. 1989. Antimalarial effects of eight African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 25, 115-118.
- Girón, L. M., Freire, V., Alonzo, A. and Caceres, A. 1991. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology* 34, 173-187.
- Givnish, T. J. 1987. Comparative studies of leaf form: assessing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constraints. (The) *New Phytologist* 106(supplement), 131-160.
- Griffiths, J. F. 1972. Wet and Dry Tropics. *In* *Climates of Africa*. Elsevier Pub. Co., New York.
- Grime, J. P. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American Naturalist* 111, 1169-1194.
- Grosvenor, P. W., Supriono, A. and Gray, D. O. 1995. Medicinal plants from Riau

- Province, Sumatra, Indonesia. Part 2: antibacterial and antifungal activity. *Journal of ethnopharmacology* 45, 97-111.
- Guha, J. and Sen, S. P. 1975. The cucurbitacins - a review. *The Plant Biochemical Journal* 2, 12-28.
- Hadden, J. W., Hadden, E. M., Haddox, M. K. and Goldberg, N. 1972. Guanosine 3'-5'-cyclic monophosphate a possible intracellular mediator of mitogenic influences in lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 69, 3024-3027.
- Halberstein, R. A. and Saunders, A. B. 1978. Traditional medical practices and medicinal plants usage on a Bahamian island. *Culture, Medicine and Psychiatry* 2, 177-203.
- Harbone, J. B. 1989. Recent advances in chemical ecology. *Natural Products Reports* 6, 85-109.
- Harbone, J. B. 1990. Role of secondary metabolites in chemical defence mechanisms in plants. *In* *Bioactive compounds from plants*. Wiley & Sons Inc., Chichester. pp. 126-139.
- Harborne, J. B. and H. Baxter. 1993. *Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants*. Taylor & Francis, Washington DC. 791p.
- Hiller, K. n. d. New results on the structure and biological activity of triterpenoid saponins. *In* book n. d. pp.167-184.
- Howard, R. A. 1952. The vegetation of the Grenadines, Windward Islands, British West Indies. *Contribution à l'Herbarium Gray*, no. LXXIV. Harvard University Press, Cambridge, Mass. Cité dans Morton (1966).

- Hussain, H. S. N. and Deeni, Y. Y. 1991. Plants in Kano ethnomedicine: screening for antimicrobial activity and alkaloids. *International Journal of Pharmacognosy* 29, 51-56.
- Iason, G. R. and Hester, A. J. 1993. The response of heather (*Calluna vulgaris*) to shade and nutrients- predictions of the carbon-nutrient balance hypothesis. *Journal of Ecology* 81, 75-80.
- IGN (Institut Géographique National - France). 1980. Cartes du Togo au 1:200 000 NB-31-XIV-XIII Lomé. Institut Géographique National, Paris.
- IGN (Institut Géographique National - France). 1986a. Cartes du Togo au 1:200 000 NB-31-XIX-XX Atakpamé. Institut Géographique National, Paris.
- IGN (Institut Géographique National - France). 1986b. Cartes du Togo au 1:200 000 NC-31-I-II Sokodé. Institut Géographique National, Paris.
- IGN (Institut Géographique National - France). 1989a. Cartes du Togo au 1:200 000 NC-31-VII-VIII Kara. Institut Géographique National, Paris.
- IGN (Institut Géographique National - France). 1989b. Cartes du Togo au 1:200 000 NC-31-XIII-XIV Dapaong. Institut Géographique National, Paris.
- Ilnyckyj, A., Shanahan F., Anton P. A., Cheang M. and Bernstein C. N.. 1997. Quantification of the placebo response in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 112(6), 1854-1858.
- Iwu, M. M. 1993. *Handbook of African Medicinal Plants*. CRC Press Inc., London. 435 p.
- Janzen, D. H. 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution* 20, 249-275.

- Jilka, C., Striffler, B., Fortner, G. W., Hayes, E. F. and Takemoto, D. J. 1983. *In vivo* antitumor activity of the bitter melon (*Momordica charantia*). *Cancer Research* 43, 5151-5155.
- Johns, T. 1990. With bitter herbs they shall eat it: chemical ecology and the origins of human diet and medicine. The University of Arizona Press, Tucson 352 p.
- Johns, T., Kokwaro, J. O. and Kimanani, E. K. 1990. Herbal Remedies of the Luo of Siaya Districts, Kenya: Establishing Quantitative Criteria for Concensus. *Economic Botany* 44(3), 369-381.
- Kerharo, J. et Adam, J. G. 1974. La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Vigot Presse, Paris. Cité dans Burkill (1985).
- Kimura, M. and Wada, H. 1989. Tannins in mangrove tree roots and their role in the root environment. *Soil Science and Plant Nutrition* 35, 101-108.
- Kirtikar, K. R. and Basu, B. D. 1918. Indian medicinal plants. Vol.1. Sudhindra Nath Basu, Allahabad. 1419 p.
- Kita, T., Hata T., Kawashima Y., Katu T. and Itoh E. 1981. Pharmacological actions of ginseng saponin in stressed mice. *Journal of Pharmacobio-Dynamics* 4 (6), 381-393.
- Konopa, J., Matuszkiewicz, A., Hrabowska, M. and Onoszka, K. 1974. Cucurbitacins, cytotoxic and antitumor substances from *Bryonia alba* L. Part II: biological studies. *Arzneim.-Forsch.* 24, 1741-1743.
- Kubota, S., Yeung, H. W. and Yang, J. T. 1986. Conformation of abortifacient proteins: trichosanthin, α -momorcharin and β -momorcharin. *Biochimica et Biophysica Acta* 871, 101-106.

- Labadie, R. P., van der Nat, J. M., Simons, J. M., Kroes, B. H., Kosasi, S., van den Berg, J. J., Hart, L. A., van der Sluis, W. G., Abeysekara, A., Bamunuarachi, A. and de Silva, K. T. D. 1989. An ethnopharmacognosic approach to the search for immunomodulators of plant origin. *Planta Medica* 55, 339-348.
- Lal, J., Chandra, S., Gupta, S. and Tandan, S. K. 1990. Studies on anticonvulsant and anti inflammatory actions of extracts of *Momordica charantia*. *Indian Veterinary Journal* 67, 82-83.
- Lamoureux, M. 1969. Carte pédologique du Togo au 1/1 000 000: notice explicative. ORSTOM, Paris. 91 p.
- Leaman, D. J. 1996. The medicinal ethnobotany of the Kenyah of East Kalimantan (Indonesian Borneo). Doctoral thesis. University of Ottawa.
- Leatherdale, B. A., Panesar, R. K., Singh, G., Atkins, T. W. and Baileys, C. J. 1981. Improvement in glucose tolerance due to *Momordica charantia* (karela). *British Medical Journal* 282, 1823-1824.
- LeCointe, P. 1947. Arvores e plantas uteis. *In Amazonia Brasileira*. Vol. 3. 2nd Ed. Companhia Editora Nacional, Sao Paulo. Cité dans Morton (1966).
- Lei, W. Y. 1984. [Analgesic and central nervous system inhibiting effects of total saponins extracted from the leaves of *Panax notoginseng*] [Chinois]. *Bulletin of Chinese Materia Medica* (Chung Yao Tung Pao) 9(3), 134-137. Cité dans Chemical Abstract 101:103905.
- Leroi-Gourhan, A. 1975. The flowers found in Shanidar IV, a Neanderthal burial in Iraq. *Science* 190, 562-564.

- Lewis, J. A. and Flemings, J. T. 1995. Basic culture Methods. In *Caenorhabditis elegans*, modern biological analysis of an organism. Methods in cell biology Series. Vol. 48. Academic Press, New York.
- Louda, S. M., Farris, M. A. and Blua, M. J. 1987. Variation in methylglucosinolate and insect damage to *Cleome serulata* (Capparaceae) along a natural soil moisture gradient. *Journal of Chemical Ecology* 13, 569-581.
- Mann, J. D., Edge, E. A., Lancaster, J. E., Blyth, K. 1980. Growth and solasodine production by *Solanum aviculare* and *Solanum laciniatum* under moisture stress at different temperatures. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 23, 361-366.
- Marles, R. J. and Farnsworth, N. R. 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2, 137-189.
- Martin, G. J. 1995. Ethnobotany. Eds. WWF, UNESCO and Kew Gardens. "People and Plants" Conservation Manuals. Chapman & Hall, New York. 268 p.
- Martinez, M. 1944. Las plantas medicinales de Mexico. 3ième éd. Ediciones Botas, Mexico.
- Materson, B. J., Reda, D. J., Cushman, W. C., Massie, B. M., Freis, E. D., Kochar, M. S., Hamburger, R. J., Fye, C., Lakshman, R. and Gottdiener, J. 1993. Single-drug therapy for hypertension in men: a comparison of six antihypertensive agents with placebo. *New England Journal of Medicine* 328(13), 914-921.
- McKey, D., Waterman, P. G., Mbi, C. N., Gartlan, J. S. and Struhsaker, T. T. 1978. Phenolic content of vegetation in two African rain forests: ecological implications. *Science* 202, 61-64.

- McQuay, H., Carroll, D. and Moore, A. 1996. Variation in the placebo effect in randomised controlled trials of analgesics: all is as blind as it seems. *Pain* 64(2), 331-335.
- Meir, P. and Yaniv, Z. 1985. An *in vitro* study on the effect of *Momordica charantia* on glucose uptake and glucose metabolism in rats. *Planta Medica* 3, 12-16.
- Mihaliak, C. A., Couvet, D. and Lincoln, D. E. 1987. Inhibition of feeding by a generalist insect due to increased volatile leaf terpenes under nitrate-limiting conditions. *Journal of Chemical Ecology* 13, 2059-2067.
- Moerman, D. E. 1979. Anthropology of symbolic healing. *Current Anthropology* 20, 59-80.
- Morton, J. F. 1966. The balsam pear: an edible, medicinal and toxic plant. *Economic Botany* 21, 57-68.
- Mossa, J. S. 1985. A study on the crude antidiabetic drugs used in Arabian folk medicine. *International Journal of Crude Drug Research* 23, 137-145.
- NAPRALERT (Natural Product Alert Database). The University of Chicago, Chicago.
- Naqvi, S. A. H., Khan, M. S. Y. and Vohora, S. B. 1990. Anti-bacterial, anti-fungal and anthelmintic investigations on Indian medicinal plants. *Fitoterapia* 62(3), 221-228.
- Nieuwolt, S. 1977. *Tropical Climatology*. Wiley & Sons Inc., New York. 207 p.
- Oakes, A. J. and Morris, M. P. 1958. The West Indian weedwoman of the United States Virgin Islands. *Bulletin of the History of Medicine* 32, 164-170.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S. and Krieg, N. R. 1986. *Microbiology*. 5th ed. McGraw-Hill Publishing Co., New York. 918 p.

- Perez-Arbelaez, E. 1956. Plantas utiles de Colombia. 3ième éd. Libreria Colombiana, Bogota. Cité dans Morton (1966).
- Perrett, S. and Whitfield P. J.. 1995. Atanine (3-dimethylallyl-4-methoxy-2-quinolone), an alkaloid with anthelmintic activity from the Chinese medicinal plant, *Evodia rutaecarpa*. *Planta Medica* 61, 276-278.
- Phillips, O. and Gentry, A. H. 1993. The useful plants of Tambopata, Peru: I. statistical hypothesis tests with a new quantitative technique. *Economic Botany* 47(1), 15-32.
- Piriaux, M. 1977. Le Togo aujourd'hui. Éditions J. A., Paris. 239 p.
- Poorter, H. 1989. Interspecific variation in relative growth rate: on ecological causes and physiological consequences. *In* Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants. SPB Academic Publishing, The Hague. pp. 45-68.
- Quinn, J. R., Boisvert, J. G. A. and Wood, I. 1973. Semi-automated N in hydrazine assay of Kjeldahl nitrogen. *Analytical Biochemistry* 58, 609-614.
- Raman, A. and Lau, C. 1996. Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). *Phytomedicine* 2, 349-362.
- Reader, R. 1979. Impact of leaf-feeding insects on three bog ericads. *Canadian Journal of Botany* 57, 2107-2112.
- Redak, R. A. and Cates, R. G. 1984. Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*)-spruce budworm (*Choristoneura occidentalis*) interactions: the effect of nutrition, chemical defenses, tissue phenology and tree physical parameters on budworm success. *Oecologia* 62, 61-67.

- Rhoades, D. F. and Cates, R. G. 1976. A general theory of plant antiherbivore chemistry. Recent advances in phytochemistry 10, 168-213.
- Roberty, n. d. 1954. n. d. pp. 794. Cité dans Burkill (1985).
- Royg y Mesa, J. T. 1945. Plantas medicinales, aromaticas o venenosas de Cuba. Ed. Ciltural, S. A., Havana. Cité dans Morton (1966).
- Salisbury, F. B. and Ross, C. W. 1992. Plant Physiology. 4th ed. Wadsworth Publishing Co., Belmont, CA. 682 p.
- Schaeffer, J. M. and Haines, H. W. 1989. Avermectin binding in *Caenorhabditis elegans*: a two-state model for the avermectin binding site. Biochemical Pharmacology 38, 2329-2338.
- Schultz, J. C. and Baldwin, I. T. 1982. Oak leaf quality declines in response to defoliation by gypsy moth larvae. Science 217, 149-150.
- Sharma *et al.* 1971. titre n. d. Indian Journal of Animal Research 5(1), 33-38.
- Sharma, G. C. and Hall, C. V. 1973. Relative attractance of spotted cucumber beetle to fruits of fifteen species of cucurbitaceae. Environmental Entomology 2, 154-156.
- Sharma, R. and Trivedi, P. C. 1994. Studies on bionematicidal properties of flowers and seed extracts of some plants. Proceedings of the National Academy of Science (India) 64, 231-232.
- Simpkin, K. G. and Coles G. C.. 1981. The use of *Caenorhabditis elegans* for anthelmintic screening. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 31, 66-69.
- Singh, Y. N. 1986. Traditional medicine in Fiji: some herbal folk cures used by Fiji Indians.

Journal of Ethnopharmacology 15, 57-88.

Sinha, A. K. and Krishna, S. S. 1970. Further studies on the feeding behavior of *Aulacophora foveicollis* on cucurbitacin. Journal of Economic Entomology 63, 333-334.

Smith, J. P. J. 1977. Vascular plant families. Mad River Press Inc., Eureka, CA. 320 p.

Sofowora, A. 1982. Medicinal plants and traditional medicine in Africa. John Wiley & Sons, Ltd., New York.

Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. 1995. Biometry. 3rd ed. W. H. Freeman & Co, New York. 887p.

Stadler, M., Dagne E. and Anke, Heindrun. 1994. Nematicidal activities of two phytoalexins from *Tavernia abyssinica*. Planta medica 60, 550-552.

Stimson, W. R. 1971. Ethnobotanical notes from Puerto Rico. Lloydia 34, 165-167.

Suffness, M. and Douros, J. 1979. Drugs of plant origin. Methods in cancer research 16, 73-126.

Swain, T. 1977. Secondary compounds as protective agents. Annual Review of Plant Physiology 28, 479-501.

Swami, K. 1973. Moisture conditions in the savanna region of West Africa. Savanna Research Series No.18, Climatological Research Series No.8. Department of Geography, McGill University, Montréal.

Takemoto, D. J., Jilka, C. and Kresie, R. 1982. Purification and characterization of a cytostatic factor from the bitter melon *Momordica charantia*. Preparative Biochemistry 12, 355-375.

- Tallamy, D. W. 1985. Squash beetle feeding behavior: an adaptation against induced cucurbit defenses. *Ecology* 66, 1574-1579.
- Tallamy, D. W. and Krishchik, V. A. 1989. Variation and function of cucurbitacins in *Cucurbita*: an examination of current hypotheses. *American Naturalist* 133, 766-786.
- Thienpont, D., Vanparijs, O. F. J., Raeymaekers, A. H. M., Vandenberg, J., Demoen, P. J. A., Allewijn, F. T. N., Marsboom, R. P. H., Niemegeers, C. J. E., Schellekens, K. H. L. and Janssen, P. A. J. 1966. Tetramisole (*R* 8299), a new, potent broad spectrum anthelmintic. *Nature* 209, 1084-1086.
- Thornton, J. K. 1998. Les racines du Vaudou. *Anthropologie et Sociétés* 22, 85-103.
- Trewartha, G. T. 1981. The earth's problem climates. Vol.2. The University of Wisconsin Press, Madison. 371 p.
- Trotter II, R. T. I. and Logan, M. H. 1986. Informant consensus: a new approach for identifying potentially effective medicinal plants. *In* Plants in Indigenous medicine and diet. Ed. Etkin, N. L. Redgrave Publishing Co., Bedford Hill. pp. 91-112.
- Trotter II, R. T., Logan, M. H., Rocha, J. M. and Louboneta, J. 1983. Ethnography and bioassay: combined methods for a preliminary screen of home remedies for potential pharmacological activity. *Journal of Ethnopharmacology* 8, 113-119.
- Velez Salas, F. 1959. Plantas medicinales de Venezuela. Editorial "Las Novedades", Caracas. Cité dans Morton (1966).
- Vesely, D. L., Graves, W. R., Lo, T. M., Fletcher, M. A. and Levey, G. S. 1977. Isolation of a guanylate cyclase inhibitor from the balsam pear (*Momordica charantia* abbreviata). *Biochemical and Biophysical Research Communications* 77, 1294-1299. Cité dans

Cunnick et Takemoto (1993).

Walters, T. W. and Decker-Walters, D. S. 1988. Notes on economic plants: balsam-pear (*Momordica charantia*, Cucurbitaceae). Economic Botany 42, 286-292.

Waring, R. H., McDonald, A. J. S., Larsson, S., Ericsson, T., Wiren, A., Arwidsson, E., Ericsson, A. and Lohammar, T. 1985. Differences in chemical composition of plants grown at constant relative growth rates with stable mineral nutrition. Oecologia 66, 157-160.

Welihinda, J., Karunanayake, E. H., Sheriff, M. H. R. and Jayasinghe, K. S. A. 1986. Effect of *Momordica charantia* on the glucose tolerance in maturity onset diabetes. Journal of ethnopharmacology 17, 277-282.

Weniger, B. 1991. Interest and limitation of a global ethnopharmacological survey. Journal of Ethnopharmacology 32, 37-41.

WHO (World Health Organization). (december) 1997. Mokeypox. Fact Sheet no.161. www.who.org.

West, M. E., Sidrak, G. H. and Street, S. P. W. 1981. The anti-growth properties of extracts from *Momordica charantia* L. West Indian Journal of Medicine 20, 25-34.

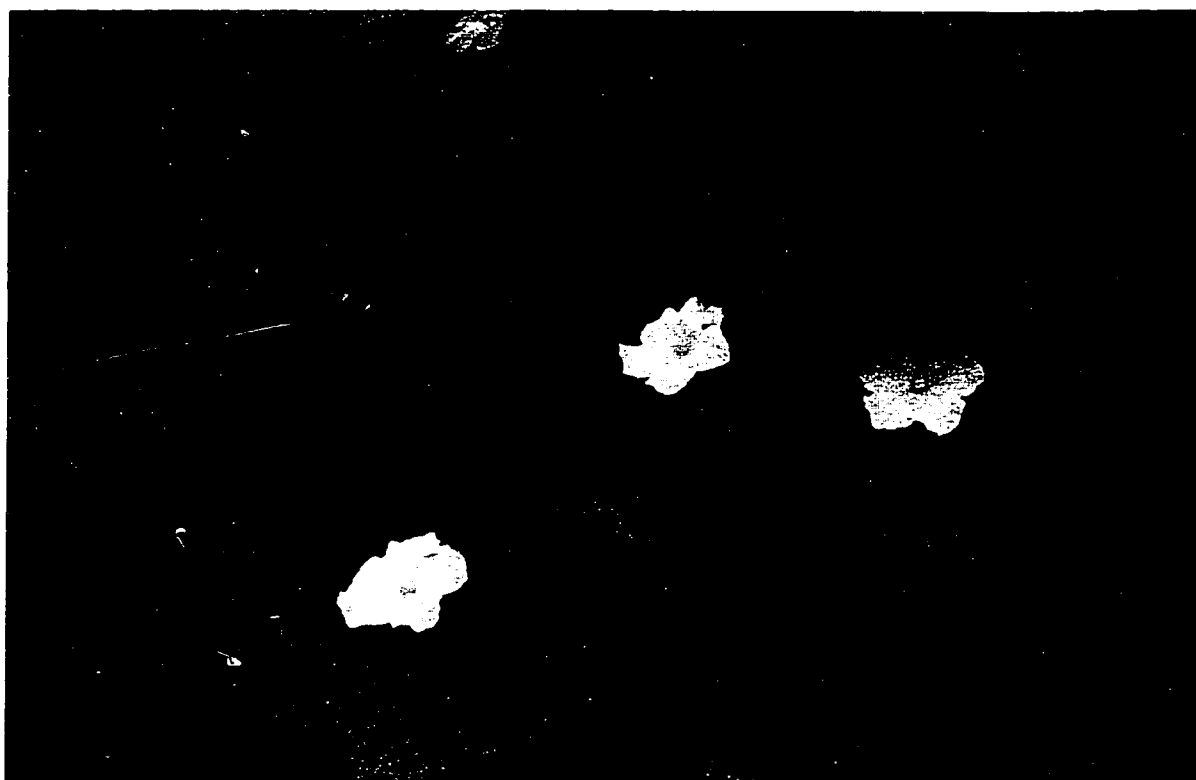
Williams, D. H., Stone, M. J., Hauck, P. R. and Rahman, S. K. 1989. Why are secondary metabolites (natural products) biosynthesized? Journal of Natural Products 52, 1189-1208.

Williams, J. T. and Ng, N. O. 1976. Variation within *Momordica charantia* L., the bitter gourd (Cucurbitaceae). Annales Bogorienses 6, 111-123.

- Witkowski, A. and Konopa, J. 1981. Binding of the cytotoxic and antitumor triterpenes, cucurbitacins, to glucocorticoid receptors of HeLa cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 674, 246-255.
- Wong, W. 1976. Some Folk Medicinal Plants from Trinidad. *Economic Botany* 30, 103-142.
- Yang, S.-L. and Walters, T. W. 1992. Ethnobotany and the economic role of the Cucurbitaceae of China. *Economic Botany* 46, 349-367.
- Yasuda, M., Iwamoto, M., Okabe, H. and Yamauchi, T. 1984. Structures of momordicines I, II, and III, the bitter principles in the leaves and vines of *Momordica charantia* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 32, 2044-2047.
- Yasui, H., Kato, A. and Yazawa, M. 1998. Antifeedants to armyworms, *Spodoptera litura* and *Pseudaletia separata*, from bitter gourd leaves, *Momordica charantia*. *Journal of Chemical Ecology* 24, 803-813.
- Yuan, W., Gui, L. H., Zhou, J. Y., Li, Q. Y. and Yu, Q. H. 1983. [Some pharmacological actions of ginseng saponins][Chinois]. *Acta Pharmacologica Sinica* (Chung-Kuo Yao Li Hsueh Pao) 4(2), 124-127.
- Zhang, Q. C. 1992. Bitter melon: a herb warranting a closer look. *PWA Coalition Newslines* 81, 48-49.

Annexe 1. Photos de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). a) la plante telle qu'observée au Nord-Togo (graines du Togo plantées à Lomé); b) la plante telle qu'observée au Sud-Togo (Aného); c) la plante recouvrant une hutte de paille à Bitchabé. Les habitants togolais la font souvent pousser à des fins médicinales, mais aussi pour son esthétique.

a)

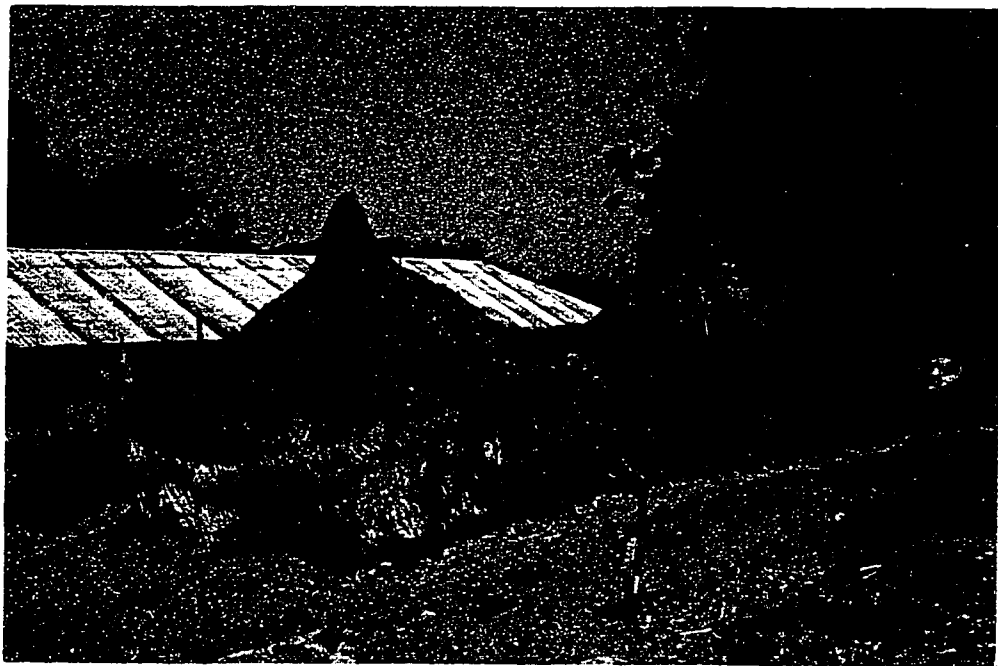


Annexe 1. (suite)

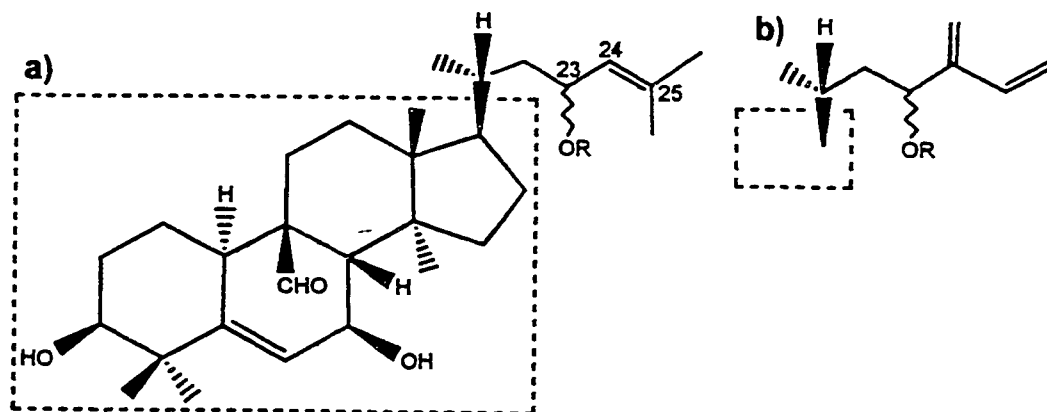
b)



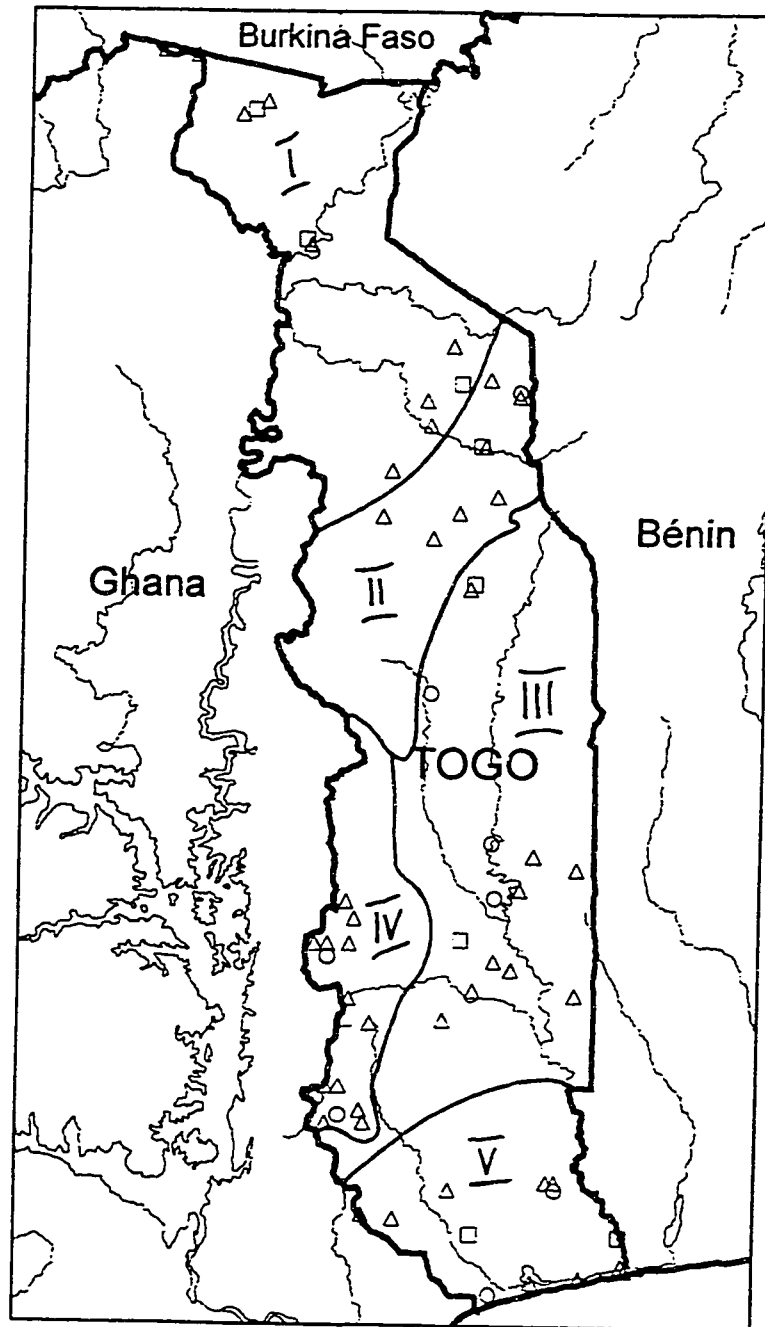
c)



Annexe 2. Structure chimique des momordicines I, II et III, telles que décrites par Yasuda *et al.* (1984). Le rectangle en pointillé pour b) représente la même structure tétracyclique qu'en a).



- a) R = H (momordicin I)
R = β -glucose (momordicin II)
b) R = β -glucose (momordicin III)



Appendice 3. Collection sites of *Momordica charantia* L. plants in Togo, West Africa. $\triangle$ = collection sites (n=54); $\square$ = pluviometry stations (n=10); $\circ$ = climatological stations (n=7). Area I to V represent ecological zones (Ern 1979). One site out of range: lat 5°20'N/ long 1°47'E.

Annexe 4. Données écologiques brutes, telles que récoltées sur le terrain pour les 13 premières colonnes et telles qu'évaluées en laboratoire pour les 12 dernières colonnes.

No. site	Villes environnantes	Mois de récolte	Heure de récolte	zone écologique	Latitude	Longitude	Altitude
1	Mango	octobre	14:00	1	10.350	0.483	150
2	Mango	octobre	07:30	1	10.350	0.483	150
3	Dapaong	octobre	07:50	1	10.867	0.200	300
4	Dapaong	octobre	07:00	1	10.867	0.200	300
5	Gouloung	octobre	09:30	1	11.117	-0.117	200
6	Sinkasse	octobre	12:00	1	11.100	0.017	250
7	Korbongo	octobre	12:30	1	10.917	0.300	300
8	Aholouko	novembre	11:45	5	6.583	1.083	110
11	Noutonko	novembre	15:45	5	6.617	1.500	60
12	Dudawa	novembre	13:00	5	6.617	1.467	100
13	Aneho	novembre	10:00	5	6.233	1.600	0
14	Zanve	novembre	13:00	5	6.283	1.767	10
15	Pagouda	novembre	11:00	2	9.750	1.317	430
16	Siou	novembre	15:30	2	9.817	1.200	400
18	Kande	novembre	09:15	1	9.950	1.050	280
19	Broukou	novembre	12:00	1	9.733	0.950	200
20	Kara	novembre	06:15	2	9.550	1.183	300
21	Kpesside	novembre	09:45	2	9.633	0.967	300
22	Kpesside	novembre	09:45	2	9.633	0.967	300
23	Bafilo	novembre	12:30	2	9.350	1.233	300
24	Kabou	novembre	08:15	2	9.450	0.817	400
25	Bassar	novembre	06:50	2	9.267	0.783	300
26	Malfakassa	novembre	10:45	2	9.183	0.983	500
27	Efolo	novembre	10:30	2	9.283	1.083	700
28	Sokode	novembre	16:30	3	8.983	1.133	385
29	Yodokpondji	decembre	13:00	5	6.267	1.783	0
30	TogoKome	decembre	14:30	5	6.217	1.417	0
31	Djebako	decembre	11:00	5	6.467	0.867	120
32	Batoume	decembre	12:00	5	6.483	0.750	100
33	Akpare	decembre	16:00	3	7.467	1.317	180
34	Ilama	decembre	08:30	3	7.500	1.250	160
35	Ountivou	decembre	12:30	3	7.367	1.567	170
36	Tchaoro	decembre	15:30	3	7.267	1.067	200
37	Kpendele	decembre	09:00	3	7.783	1.350	200
38	Efofami	decembre	11:30	3	7.867	1.567	200
39	Agodeka	decembre	15:00	3	7.917	1.400	200
41	Amoutcho	decembre	10:30	3	7.383	1.167	160
42	Agbetiko	janvier	12:00	4	6.900	0.733	240
43	Dalave	janvier	13:00	4	6.850	0.750	440
45	Gbalave	janvier	07:30	4	6.850	0.600	240
46	KoumaDovota	janvier	15:30	4	7.000	0.600	700
47	Kpime	janvier	08:30	4	7.000	0.150	240
48	Sassanou	janvier	11:30	4	7.267	0.667	300
49	Kpeto	janvier	14:30	4	7.250	0.767	680
50	Abrafo	fevrier	17:30	4	6.333	-1.383	130
51	Anyigbanyo	mars	12:30	4	7.667	0.700	440
52	Brounfou	mars	14:45	4	7.733	0.667	300
53	Agbetsekou	mars	08:00	4	7.567	0.550	200
54	Anonoe	mars	11:00	4	7.567	0.600	250
55	Zogbegan	mars	14:00	4	7.567	0.683	700
56	Tetebe	mars	09:30	4	7.350	0.683	800
57	Vogan	mars	11:30	5	6.333	1.031	30
58	Aneho	avril	11:30	5	6.233	1.600	0
59	Agbetiko	avril	14:00	4	6.900	0.733	240

Annexe 4. (suite)

Biotope environnant	Village à proximité	Intensité lumineuse	Abondance des plants	Trace d' herbivorie	Ammonium	Nitrite	Azote	Poids frais mg
dépotoir	x	3	2	9				50.00
maison	x	1	2	9				50.00
maison	x	2	3	4				50.00
maison	x	2	2	0	4.90	64.94	69.84	50.00
maison	x	3	2	2	23.72	0.99	24.71	50.00
maison	x	3	2	9	6.00	9.02	15.02	37.40
maison	x	3	3	3	6.93	1013.95	1020.88	50.00
chemin	x	3	2	2	1.38	10.98	12.36	50.00
dépotoir	x	3	1	2	7.26	21.21	28.47	50.00
maison	x	3	2	9	3.69	13.94	17.63	50.00
champs	x	3	3	3	3.35	2.38	5.73	50.00
lagune	0	3	3	3	5.89	1.65	7.54	50.00
maison	x	2	3	9	18.23	15.14	33.37	50.00
maison	x	3	3	9	5.46	3.02	8.48	50.00
maison	x	3	2	9	5.41	15.22	20.63	50.00
maison	x	3	3	9	13.42	11.79	25.21	50.00
maison	x	1	1	1	6.45	1.92	8.37	50.00
maison	x	3	1	4	6.76	44.66	51.42	25.20
maison	x	3	3	2	5.07	56.10	61.17	50.00
maison	x	3	2	0	23.33	17.08	40.41	40.50
maison	x	3	3	2	2.59	7.82	10.41	50.00
maison	x	2	1	1	2.59	7.82	10.41	46.80
maison	x	3	2	2	5.54	17.34	22.88	50.00
maison	x	3	3	2	10.80	8.36	19.16	50.00
maison	x	2	3	9	6.09	4.98	11.07	50.00
chemin	x	3	3	1	0.41	59.18	59.59	50.00
public	x	3	3	1	11.75	2.02	13.77	50.00
dépotoir	x	3	3	2	2.96	32.46	35.42	50.00
dépotoir	x	3	3	2	3.03	24.45	27.48	50.00
maison	x	3	2	9	1.52	6.27	7.79	44.30
toilette	x	3	3	1	4.04	6.92	10.96	50.00
chemin	x	2	3	2	3.71	1.49	5.20	50.00
maison	x	2	3	4	25.23	434.70	459.93	47.60
maison	x	3	3	2	5.17	411.03	416.20	50.00
maison	x	3	2	1	6.61	54.85	61.46	50.00
public	x	2	1	0	5.82	16.14	21.96	34.50
maison	x	3	2	2	5.23	3.32	8.55	50.00
chemin	0	1	1	4	17.34	80.43	97.77	50.00
chemin	0	2	1	2	48.54	12.74	61.38	50.00
boisé	0	2	3	2	25.97	129.84	155.81	50.00
boisé	0	2	1	1	42.75	50.44	93.19	39.70
chemin	0	3	2	2	13.17	5.72	18.89	50.00
chemin	0	2	2	2	14.46	132.84	147.30	50.00
chemin	0	3	2	2	11.70	0.75	12.45	50.00
chemin	x	3	1	9	2.97	70.88	73.85	50.00
plantation	0	3	2	0	17.51	58.22	75.73	50.00
dépotoir	x	3	1	0	4.35	95.03	99.38	31.50
maison	x	3	2	0				50.00
plantation	0	2	3	2	22.47	166.51	188.98	50.00
chemin	x	3	2	2	12.99	71.15	84.14	50.00
boisé	0	1	2	3	18.66	78.11	96.77	50.00
dépotoir	x	3	2	0	1.35	180.63	181.98	50.00
plantation	x	3	3	4	21.60	8.04	29.54	50.00
chemin	0	2	3	4				50.00

Annexe 4. (suite et fin)

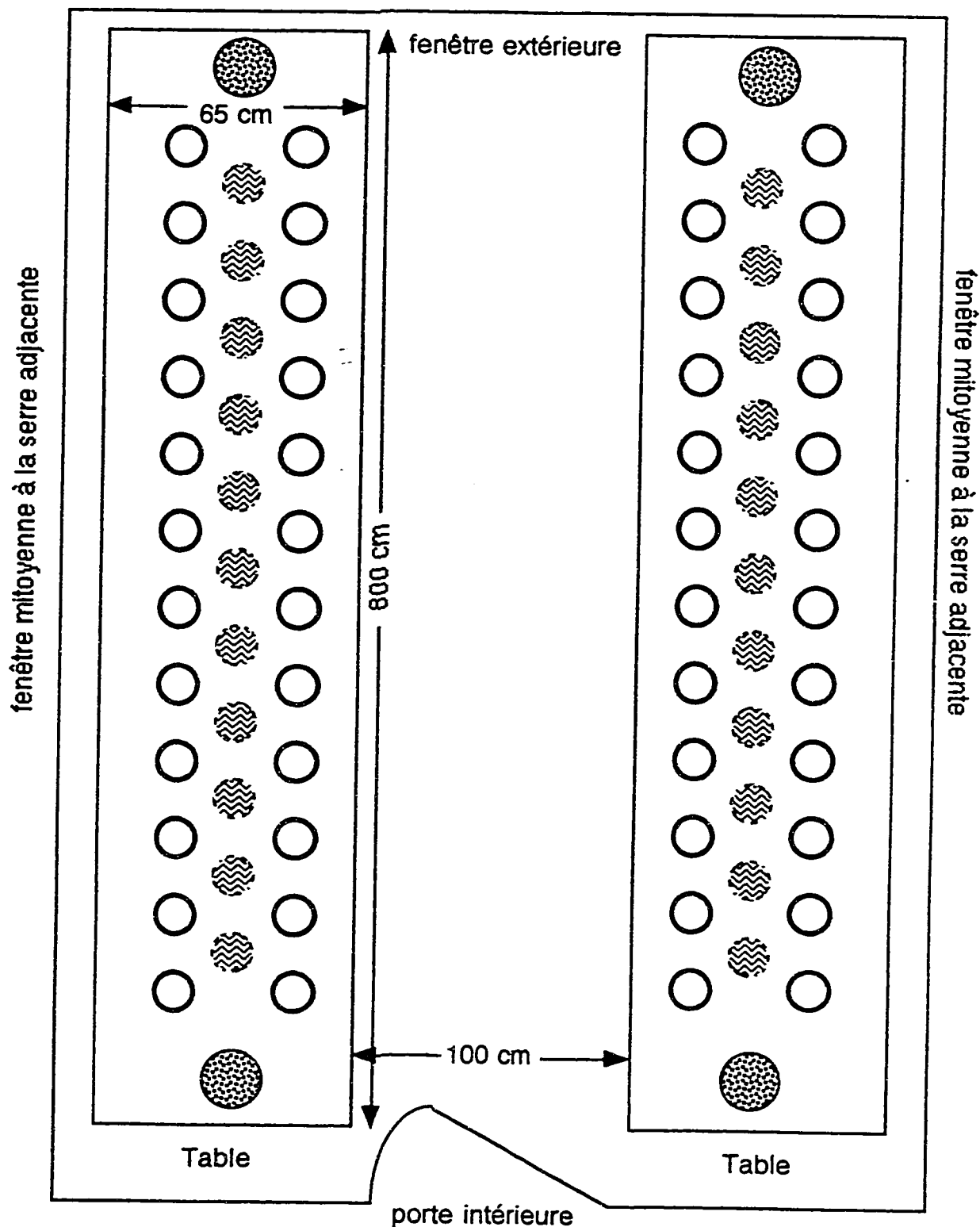
Poids sec mg	Poids de l'extrait mg	Hydratation des plants %	Station pluviométrique	Station climatologique	Momordicines		totales mg/g
					II mg/g	I mg/g	
4.63	0.927	0.89	Mango	Mango	1.28	4.10	5.38
7.85	1.249	0.82	"	"	3.17	6.08	8.25
8.09	1.492	0.81	Dapaong	Dapaong	0.21	2.96	3.17
6.70	1.100	0.84	"	"	3.45	3.65	7.10
7.87	1.373	0.82	"	"	1.11	5.12	6.22
7.44	1.140	0.77	"	"	2.98	4.25	7.23
8.85	1.650	0.79	"	"	4.13	8.27	12.41
10.67	1.870	0.75	Davié	"	2.48	1.68	4.16
9.50	1.697	0.78	Tabligbo	Tabligbo	1.60	3.65	5.15
10.11	1.811	0.76	"	"	1.79	3.33	5.12
12.52	2.822	0.70	Lomé	Lomé	1.80	14.19	15.99
11.94	2.140	0.72	"	"	0.93	7.68	8.61
10.97	1.770	0.75	Pagouda	Kara	16.12	4.87	21.00
9.63	1.833	0.77	"	"	37.53	0.00	37.53
10.29	1.993	0.75	Mango	Mango	13.93	11.05	24.98
10.65	2.055	0.75	"	"	4.88	12.15	17.03
12.07	2.070	0.72	Kara	Kara	16.49	6.58	23.08
5.53	1.329	0.73	Niamtougou	Niamtougou	32.36	0.00	32.36
10.45	2.053	0.75	"	"	30.22	0.00	30.22
9.49	1.892	0.72	Kara	Kara	18.43	12.33	30.76
7.75	1.452	0.82	Kara	"	1.58	2.74	4.32
10.39	1.687	0.74	"	"	11.10	10.22	21.32
12.27	2.069	0.71	Niamtougou	Niamtougou	6.40	16.42	22.82
11.93	2.329	0.71	"	"	12.30	10.99	23.29
11.41	1.913	0.73	Sokodé	Sokodé	10.08	8.70	18.78
13.27	2.173	0.69	Lomé	Lomé	2.18	13.63	15.81
13.36	2.359	0.69	"	"	1.92	14.38	16.31
10.57	1.874	0.75	Davié	"	2.07	6.68	8.74
8.68	1.780	0.79	"	"	7.49	9.23	16.71
8.67	1.370	0.77	Anié	Sokodé	4.61	4.69	9.30
11.86	2.058	0.72	"	"	11.57	6.94	18.51
11.97	2.071	0.72	"	"	5.09	6.05	11.16
10.00	1.804	0.75	"	"	2.86	6.64	9.50
9.55	1.850	0.77	"	"	6.91	7.16	14.07
9.51	1.606	0.78	"	"	1.87	3.80	5.67
8.26	1.365	0.72	Élavagnon	"	4.69	8.36	13.04
9.10	1.601	0.79	Anié	"	7.08	2.53	9.60
7.45	1.251	0.83	Kpalimé	Atakpamé	1.11	1.62	2.72
13.31	2.512	0.68	"	"	7.78	7.55	15.33
6.91	1.413	0.83	"	"	0.89	3.21	4.10
7.13	1.134	0.79	Kouma-Konda	"	1.78	4.03	5.81
11.53	2.531	0.72	"	"	5.86	5.42	11.28
10.62	2.016	0.75	Tomegbé	"	3.59	7.68	11.27
10.58	1.776	0.75	"	"	5.96	4.22	10.17
11.68	1.575	0.73	"	"	7.07	6.53	13.60
13.08	2.284	0.69	Kouma-Konda	"	14.51	6.68	20.19
5.88	1.081	0.78	"	"	0.48	0.99	1.46
10.33	1.929	0.75	"	"	3.48	2.63	6.11
11.36	2.063	0.73	"	"	3.15	2.60	5.76
10.57	1.865	0.75	"	"	10.43	4.61	15.04
11.12	1.923	0.74	Tomegbé	"	0.90	0.77	1.68
9.79	1.590	0.77	Avévé	Lomé	2.68	3.76	6.44
10.51	1.906	0.75	"	"	2.21	2.61	4.81
10.02	1.525	0.77	Kpalimé	Atakpamé	1.72	2.76	4.48

Appendice 5. Climatological variables of different stations in Togo. Raw data provided by "Service de météorologie du Togo" in Lomé, Togo. Stations are grouped per ecological zones as defined by Ern (1979).

Zone	Stations	Rain ¹	V rain	dry month	PET ²	V ETP	WB ³	nb +WB	TMP ⁴
1	Dapaong	947.49	105.85	6	1926.42	-	-978.93	3	-
1	Mango	1049.18	99.35	5	1724.33	-	-675.15	4	28.64
2	Kara	1278.15	91.14	5	1770.50	-	-492.35	4	27.17
2	Niamtougou	1328.51	91.41	5	1793.56	-	-465.06	4	-
2	Pagouda	1173.12	92.83	5	-	-	-	-	-
3	Sokodé	1262.53	88.04	5	1627.47	-	-364.95	4	26.62
3	Élavagnon	1198.32	87.69	4	-	-	-	-	-
3	Sotouboua	1206.38	-	4	-	-	-	-	-
3	Anié-Mono	1182.58	73.86	4	-	-	-	-	-
4	Atakpamé	1311.53	-	4	1611.93	-	-300.40	4	26.51
4	Kpalimé-Tové	1305.13	56.44	4	-	-	-	-	-
4	Tomegbé	1446.99	63.45	4	-	-	-	-	-
4	Kouma-Konda	1727.86	53.14	2	-	-	-	-	-
5	Lomé-aéroport	783.31	86.16	5	1667.26	-	-883.95	2	27.37
5	Tabligbo	1018.30	63.62	5	1570.08	-	-551.78	4	-
5	Avévé	755.81	76.69	6	-	-	-	-	-
5	Davié	1016.74	60.07	4	-	-	-	-	-

¹ Rain: mean annual precipitations (mm), V rain: coefficient of variation of mean monthly precipitations (mm), dry month: number of dry months per year (based on mean monthly precipitations); precipitations data from 1982 to 1996. ² ETP: mean annual potential evapotranspiration (mm), V ETP: coefficient of variation of mean monthly ETP (mm); ETP data from 1982 to 1992. ³ WB: mean annual water balance $(WB = \sum_{12} (\text{mean monthly precipitations} - \text{mean monthly ETP}))$, nb +WB: number of positive WB months per year (based on monthly WB). ⁴ TMP: mean annual temperature (°C), V TMP: coefficient of variation of mean monthly TMP (°C); temperature data from 1982 to 1996.

Annexe 6. Représentation schématique du design expérimental de l'expérience en serres. Cercles vides = plants de *Momordica charantia* L., cercles ondulés = ampoules incandescentes, cercles à pois = plants de *Nicotiana* sp. Le dessin n'est pas à l'échelle.



Annexe 7. Photo d'un insecte retrouvé sur des plants de *Momordica charantia* L. près de Sassanou, Togo. L'insecte est possiblement *Pyrrochoris* (Hemiptera: Pyrrhoridae).



Annexe 8. Données ethnobotaniques brutes, telles que recensées au Togo parallèlement à la récolte de plants de *Momordica charantia* L.

No. site	Ethnie	Groupe de langue	Maladies virales	Problèmes de peau	Maux de ventre	Paludisme	Gynécologie	Fièvre & infections	Nourriture
1	kotokoli	Gour	0	1	0	0	0	0	0
2	soussa	Gour	0	1	0	0	0	0	0
3	moba	Gour	1	0	0	1	0	1	0
4	kotokoli	Gour	1	0	0	1	1	0	0
5	mossi	Gour	0	0	1	0	0	0	1
7	soussa	Gour	0	1	0	0	0	0	0
8	ewe	Koua	0	0	1	1	0	0	1
10	ewe	Koua	1	0	1	0	0	0	0
13	mina	Koua	1	0	0	0	0	0	0
16	nawduba	Gour	1	0	1	0	1	0	0
17	lamba	Gour	1	0	1	0	0	0	0
19	kabye	Gour	1	0	1	0	0	0	0
20	kabye	Gour	1	0	1	0	0	0	0
21	lossa	Gour	0	1	1	0	0	0	0
23	kotokoli	Gour	1	0	1	0	0	0	0
24	bessari	Gour	0	0	1	0	0	0	0
25	bessari	Gour	1	0	1	0	0	0	0
26	kotokoli	Gour	0	1	0	0	0	0	0
27	kotokoli	Gour	1	0	1	0	0	0	0
28	kotokoli	Gour	1	1	1	1	1	0	0
29	mina	Koua	1	0	0	0	0	0	0
30	mina	Koua	0	0	1	0	0	0	0
31	ewe	Koua	1	0	0	0	0	0	0
32	ewe	Koua	1	1	1	0	0	0	0
33	wegbe	Koua	1	0	1	1	1	0	0
34	ife-ana	Koua	0	0	0	1	0	0	0
36	ana	Koua	1	0	1	0	0	0	0
37	kotokoli	Gour	0	0	0	0	0	1	0
38	ana	Koua	0	0	1	0	0	0	0
39	ife	Koua	0	0	0	0	0	0	1
40	ife	Koua	1	1	1	0	0	0	0
42	ewe	Koua	0	0	0	0	0	1	0
43	ewe	Koua	0	1	0	0	0	0	0
47	ewe	Koua	0	1	1	0	1	0	0
48	ewe	Koua	0	0	1	0	0	0	0
51	akebou	Gour	1	0	1	0	0	0	0
52	akebou	Gour	0	0	1	1	0	0	0
53	ewe	Koua	0	0	0	0	0	0	1
55	ewe	Koua	1	0	0	0	0	0	0
58	mina	Koua	1	0	0	0	0	0	1
59	ewe	Koua	1	0	0	1	0	0	0
a	ewe	Koua	0	0	1	0	0	0	0
b	ewe	Koua	0	0	1	0	0	0	0
c	fon	Koua	0	0	0	0	0	0	0
d	ewe	Koua	0	0	0	0	0	1	0

Annexe 9. Dénominations usuelles de *Momordica charantia* L. dans la langue des ethnies les plus importantes au Togo.

Ethnie	Nom
Akan (Fanti)	njenjɔ̃
Ana	kpalari
Bassari	katʃampuli
	kitʃampuli
Ewe	aduka
	kaklɛ
	aduma
Ewe (Fon)	ɔ̃ɖuke
Fon	njesike
Hausa	garafuni
Ife (Ana)	tʃati
Kabyè	katʃala
	katʃala
Kotokoli	katʃalajo
	karafindi
Lamba	hɔrɔro
Losso	sesakuɔ̃ɖum-moga
Mina	anjanra
Moba	nmɔ̃nti
Mossi	mɔ̃rdɔ
Nawduba	sisaku-moga
Tchamba	katʃala
Wegbe	adɖuke
Yanga	kenunmɔ̃na

IDENTIFICATION

1. Collecteur: _____ 2. # de fiche: _____ 3. Date (jj/mm/an): ____ / ____ / ____
4. Prescripteur: NOM: _____ Prénom: _____ Age: _____
- Titre: _____ Adresse: _____
9. Pays: _____ 10. Lieu de l'enquête: _____
11. Longitude: _____ ° _____ ' E / O Latitude: _____ ° _____ ' N / S

CARACTERISTIQUES DU MATERIEL VEGETAL

5. Nom latin: _____ 8. Nom français: _____
6. Noms locaux: _____ 7. Langues ou dialectes: _____ Traduction: _____
- _____
- _____
12. # échantillons: _____ à _____ 13. Herbar: _____
15. Lieu(x) de récolte: _____ 17. Culture [] _____
14. Parties utilisées (a, b, etc. liés aux différentes utilisations (voir #21-41):
- 14.a [] [] _____
- 14.b [] [] _____
16. Récolte: 16.1 Position de l'organe [] [] _____
- (méthodes 16.2 Moment de la journée [] [] _____
- préférées) 16.3 Stade de développement [] [] _____
- 16.4 Entreposage (avant préparation): _____
18. Biotopes: formation [] [] _____
- (lieux préférés) stade [] [] _____
- Caractères sol [] [] _____
- écologiques: _____
- lumière [] [] _____
- (lieux préférés) _____
- humidité [] [] _____
- pente/orientation [] [] _____
- autres [] [] _____
20. Remarques: _____
- _____

MODES DE PREPARATION ET D'ADMINISTRATION DU PHYTOMEDICAMENT**Affection** : _____21. Préparation: 21.1.1. Matériel végétal [] [] _____

(+ chaleur: source _____

& quantité) 21.2.1 Véhicule []: _____

21.3.1 Équipement: _____

22. Forme finale: 22.1. de base: [] _____ 22.2. élaborée: [] _____23. Concentration: 23.1. Qté organe: [] [] [] [] [] [] unités _____

23.2. Qté véhicule: [] [] [] [] [] [] unités _____

23.3. Qté finale: [] [] [] [] [] [] unités _____

24. Posologie: _____ 25. Fréquence de la prise: _____ 26. Période de la prise: _____

Sujet: [] [] [] [] [] [] unités _____ [] _____ [] _____

Sujet: [] [] [] [] [] [] unités _____ [] _____ [] _____

27. Durée du traitement: 27.1. Durée: [] [] _____29. Mode d'emploi: [] [] _____30. Entreposage: [] _____32. Plante(s) associée(s) (+ # échantillon): _____33. Remarques: _____ voir verso ⇨**INDICATIONS THÉRAPEUTIQUES**34. Maladies et [] [] [] [] [] _____symptômes: [] [] [] [] [] _____35. Effets physiologiques: [] [] _____

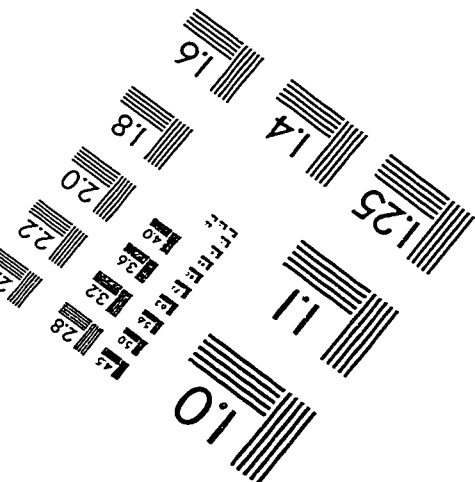
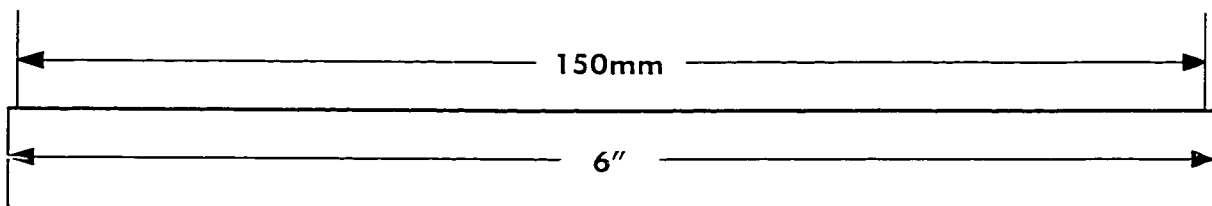
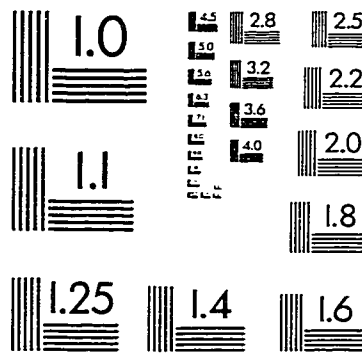
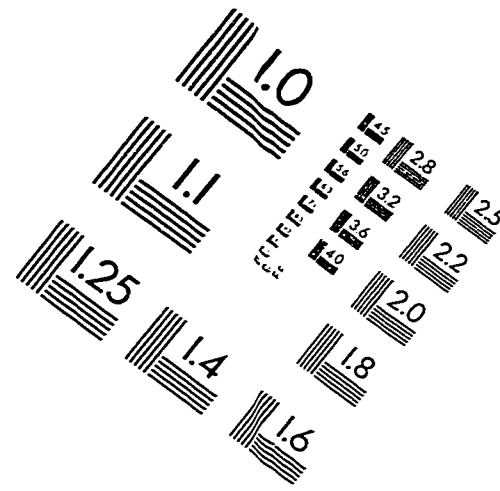
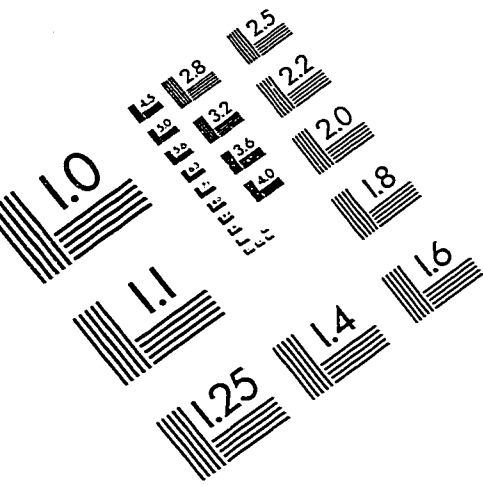
[] [] _____

36. Effets médico-magiques: [] [] _____

[] [] _____

37. Usages divers: [] [] _____38. Incompatibilités: _____39. Effet(s) secondaire(s): _____40. Médication(s) associée(s): _____

IMAGE EVALUATION TEST TARGET (QA-3)



APPLIED IMAGE, Inc
1653 East Main Street
Rochester, NY 14609 USA
Phone: 716/482-0300
Fax: 716/288-5989

© 1993, Applied Image, Inc., All Rights Reserved

