

République Algérienne Démocratique et Populaire

*MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE*

Université Mentouri de Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie et de Microbiologie

N° d'ordre :

N° de série :

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister
En Microbiologie appliquée.
Option : Biotechnologies microbiennes.

PAR : **BOULTIFAT LINDA**

Thème

**Evaluation de la contribution spécifique des fractions
soluble et insoluble de sous produits de l'agronomie
saharienne à la méthanogénèse ruminale d'ovins.**

Soutenu le :

Devant le jury :

Président : **BOULAHROUF A.** Prof. Univ. Mentouri de Constantine. Fac. SNV.

Rapporteur : **BOUSSEBOUA H.** Prof. Univ. Mentouri de Constantine. Fac. SNV.

Examineurs : **MERAIHI Z.** Prof. Univ. Mentouri de Constantine. Fac. SNV.

DJABRI B Dr. Univ. Larbi Tebessi de Tebessa. Fac. SV.

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2007-2008

Remerciements

Je tiens à remercier tout particulièrement Monsieur BOUSSEBOUA H. Professeur à l'université Mentouri de Constantine, pour m'avoir accueilli dans son équipe et encadré durant mes deux années de thèse. Pour son appui, ses conseils et le temps qu'il m'a consacré, je l'assure de ma profonde reconnaissance.

Je suis très honorée et tiens à remercier les membres du jury :

Mr. BOULAHROUF A. Professeur à l'université Mentouri de Constantine pour avoir accepté de
présider le jury

Mme MERAIHI Professeur à l'université Mentouri de Constantine et Mr. DJABRI B. pour avoir accepté de lire et de faire l'analyse critique de ce mémoire de thèse en tant qu'examineurs.

Je tiens à remercier profondément l'ensemble de mes collègues et amis du laboratoire de génie microbiologique et applications de l'université Mentouri de Constantine, que ce soit pour les conseils et services qu'ils m'ont apportés et plus généralement pour l'amitié qu'ils m'ont témoignée durant ces deux années.

Enfin, je ne saurais terminer cette liste, sans adresser un remerciement particulier à mes parents et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
1. L'effet de serre.....	3
2. les principaux gaz à effet de serre	3
3. Le méthane.....	4
4. Les différentes sources de méthane	6
5. Le méthane d'origine agricole.....	6
5.1. L'émission du CH ₄ par le sol	6
5.2. L'émission de CH ₄ par les animaux	6
6. Biochimie et microbiologie de la dégradation anaérobie	8
6.1. Hydrolyse.....	8
6.2. Acidogenèse.....	9
6.3. Acétogenèse.....	9
6.4. Méthanogénèse.....	9
7. <i>La production de méthane digestif par les ruminants</i>	9
7.1. La fermentation dans le rumen	11
7.2. Métabolisme des carbohydrates.....	11
7.2.1. Phase de dégradation des glucides.....	11
7.2.2. Phase d'élaboration des produits terminaux des fermentations.....	13
7.3. Les voies métaboliques de la méthanogénèse dans le rumen	13
7.4. Les microorganismes impliqués dans le métabolisme de l'H ₂ digestif	17
7.4.1. Les méthanogènes	17
7.4.2. Les protozoaires	20
7.4.2. Les acétogènes.....	20
8. Facteurs influençant la méthanogénèse ruminale.....	21
8.1. L'animal.....	21
8.2. Effet des caractéristiques du régime alimentaire.....	21
8.2.1. Matière organique digestible.....	21

8.2.2. Temps de séjour dans le rumen et le taux d'ingestion	22
8.2.3. Source de carbone et voie de la fermentation.....	22

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	23
2. Matériel animal.....	23
3. Protocole expérimental	23
3.1. Analyse chimique des substrats	23
3.3.1. La teneur en matière sèche	24
3.3.2. La teneur en matière organique et minérale	24
3.3.3. La teneur en sucres totaux	24
3.3.4. Dosage des NDF (neutral detergent fiber)	24
3.3.5. Dosage des ADF (acide detergent fiber)	24
4. Etude de la fermentescibilité des substrats	25
4.1. Technique de la production de gaz <i>in vitro</i>	25
4.2. Description du système de fermentation.....	25
4.3. Source d'inoculum.....	25
4.4. Préparation de l'inoculum	25
4.5. Inoculation.....	26
4.6. Incubation.....	26
5. Détermination de la digestibilité apparente de la matière sèche des substrats.....	26
6. Etude qualitative et quantitative des gaz produits	27
7. Méthode de séparation de la fraction soluble	27
8. Analyse statistique	27

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Composition chimique.....	29
1.1. La matière sèche.....	29
1.2. La matière minérale.....	29
1.3. La matière organique.....	30
1.4. La teneur en sucres totaux.....	30
1.5. La composition de la paroi cellulaire.....	30
2. Etude de la fermentescibilité <i>in vitro</i> des substrats par le microbite ruminal.....	31
2.1. Evolution du pH	31
2.2. Production qualitative des gaz fermentaires.....	34

2.3. Cinétique de production de gaz <i>in vitro</i>	36
2.4. Paramètres caractéristiques de la production de gaz <i>in vitro</i>	38
2.5. Analyse qualitative des gaz produits.....	41
3. Digestibilité de la matière sèche.....	43
Discussion générale et conclusion	47
Références bibliographiques	51
Annexes	66

Liste des abréviations

ADF : Acid detergent fibers.

AGV : Acides Gras Volatils.

ATP : Adénosine Triphosphate.

CFC : Chlorofluorocarbones.

CH₄ : Méthane.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

DMS : Digestibilité de la matière sèche.

GES : Gaz à effet de serre

H₂ : Dihydrogène.

IR : Infra-Rouge.

LCFA : Long Chain Fatty Acid.

MM : Matière minérale.

MO : Matière organique.

MOF : Matière Organique Fermentée.

MS : Matière sèche.

NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NDF : Neutral detergent fibers.

NDS : Neutral detergent solution.

NO₂ : Protoxyde d'azote.

Liste des figures

Figure 1 : Voies de dégradation de la matière végétale en anaérobiose.

Figure 2 : Types d'hydrates de carbones présents dans le matériel végétal.

Figure 3 : Voies majeures de la fermentation des carbohydrates par les bactéries du rumen.

Figure 4 : Cinétique de production de gaz total *in vitro*.

Figure 5 : Cinétique de production de gaz CH₄.

Figure 6 : Cinétique de production de gaz CO₂.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principaux gaz à effet de serre et leur pouvoir relatif.

Tableau 2 : Sources et dépôt du méthane atmosphérique (10^6 tonnes an⁻¹).

Tableau 3 : Sources anthropogènes du méthane atmosphérique (10^6 tonnes an⁻¹).

Tableau 4 : Estimation de la quantité des principaux produits terminaux résultant de la dégradation anaérobie de 1kg de matière organique dans le rumen.

Tableau 5 : Dégradation (%) de la matière sèche de paille *in sacco* dans le rumen d'agneaux gnotobiotiques en présence ou en absence de méthanogènes.

Tableau 6 : Méthanogènes isolés à partir du rumen.

Tableau 7 : Composition chimique des substrats étudiés (% de MS).

Tableau 8 : Evolution du pH après addition de la solution tampon.

Tableau 9 : Evolution de l'acidité après 96 heures de fermentation.

Tableau 10 : Production de gaz total et ses paramètres caractéristiques.

Tableau 11 : Coefficient de digestibilité apparente (CD%MS).

Introduction

L'augmentation de la température globale de la Terre, provoquée par l'élévation de la concentration atmosphérique des gaz à effet de serre, est devenue un sujet de grande préoccupation. D'où l'attention particulière portée au méthane (CH_4) qui est l'un des principaux gaz à effet de serre, son action en ce domaine étant estimée 21 fois supérieure à celle du dioxyde de carbone (CO_2). Les émissions de méthane provenant des ruminants constituent une source importante du méthane atmosphérique (66) et son apport est estimé à 16% au phénomène de réchauffement de la planète.

Chez les ruminants, bien plus que chez tout autre animal, le rôle du microbiote ruminal dans la fonction de nutrition est capital, puisque tous les aliments ingérés sont soumis à une digestion microbienne préalable. Les produits résultants de la fermentation microbienne constituent alors une source d'énergie (acides gras volatils) et de protéines (cellules microbiennes) disponibles pour le métabolisme des tissus de l'animal. Cependant, la fermentation ruminale engendre également des produits métaboliques non valorisables par l'animal, principalement le CH_4 et le CO_2 . La production de méthane dans le rumen représente une perte d'énergie sur le plan de la production animale (66), puisque une partie de l'aliment ingéré est éructée sous forme de gaz CH_4 dont la formation ruminale au dépend du CO_2 mobilise à perte une partie de l'énergie métabolique microbienne (NADH, H^+).

L'étude de la méthanogénèse du rumen est très complexe, elle est basée essentiellement sur la détermination de la stœchiométrie, de la cinétique de fermentation et de l'évaluation du potentiel énergétique des aliments, avec pour indicateur principal l'estimation de la valeur énergétique du substrat pris dans sa totalité. Cependant, la dégradation d'un substrat est tributaire aussi bien de sa fraction insoluble (parois végétales) que de sa fraction soluble (contenu cellulaire). Dans ce contexte, la présente étude a pour but d'évaluer la contribution de la dégradation spécifique des deux fractions, soluble et insoluble, à la production de méthane digestif. Pour cela, deux substrats purs (la cellulose type 101 et l'amidon de blé) ainsi que deux substrats originaires des zones arides (les pédicelles et les rebus de dattes) ont été étudiés. Les pédicelles et les rebus de dattes sont des fractions du palmier dattier (phoenix dactylifera), arbre caractéristique des zones arides en Algérie et il génère annuellement des quantités considérables de sous produits fréquemment introduits dans l'alimentation du bétail. Cette étude est menée comparativement au foin de vesce avoine, pris comme substrat standard de référence. Après fermentation dans des fermenteurs miniaturisés, la production totale de gaz (CH_4 et CO_2), ainsi que d'autres paramètres seront déterminés.

Synthèse bibliographique

Tableau 1. Les principaux gaz à effet de serre, leur pouvoir d'absorption et leur contribution relative au phénomène du réchauffement de la Terre, (Selosse et *al*, 2000).

Gaz à effet de serre	CO₂	CH₄	N₂O	CFCs
Pouvoir relatif d'absorption du rayonnement infrarouge, par unité de volume, ramené à celui du CO ₂ .	1	32	160	16 000
Contribution relative (en %) à l'effet de serre.	55	15	4	19

1. L'effet de serre

L'effet de serre est un phénomène naturel lié à l'absorption par des composés présents dans l'atmosphère : CO_2 , CH_4 , H_2O , O_3 , N_2O , CFC, des rayonnements Infra Rouge (IR) de grande longueur d'onde renvoyés, par la surface terrestre. Une partie du rayonnement IR n'est donc pas renvoyé vers l'espace. Il y a alors absorption d'énergie transformée en chaleur. En réalité la présence des gaz à effet de serre est essentielle pour maintenir la vie sur terre. En effet, sans ces gaz, notre planète aurait une température moyenne de -18°C au lieu de 15°C , puisque toute la chaleur provenant du soleil aurait été reflétée dans l'espace par la surface terrestre (102).

2. les principaux gaz à effet de serre

Les principaux gaz à effet de serre (GES) sont :

- La vapeur d'eau est la plus répandue des gaz à effet de serre et en plus celui qui a l'effet le plus important.

- Le CO_2 est le gaz le plus impliqué dans le phénomène du réchauffement de la terre. Ce dernier provient de plusieurs sources : la respiration des animaux et des végétaux, l'utilisation des combustibles fossiles (charbon, pétrole...) et la combustion ou la décomposition des plantes et des arbres. C'est le principal gaz à effet de serre influencé par l'activité humaine.

- Le méthane (CH_4) est le plus puissant des gaz à effet de serre, il se forme quand un composé organique animal ou végétal se décompose en absence d'oxygène par l'action d'archaebactéries. Une grande quantité de méthane présente dans l'atmosphère est d'origine naturelle et provient surtout des zones humides (marécages, marais,...). Mais d'importantes quantités de méthane proviennent aussi des décharges publiques, des rizières et du bétail.

- L'Oxyde nitreux (NO_2) provient principalement de la combustion incomplète des sols agricoles dégradés. La part "humaine" intervient dans le domaine de l'agriculture par l'utilisation des engrais azotés.

- Le Monoxyde de carbone (CO) est un gaz qui agit indirectement sur l'effet de serre. Il influence certains cycles chimiques atmosphériques qui créent ou détruisent d'autres

gaz à effet de serre, tels que l'ozone de la troposphère ou le méthane. Ce gaz est produit par les carburants et les combustibles.

- L'Oxyde d'azote (NO_x), l'anhydride sulfureux (SO₂), l'ozone (O₃) et les chlorofluorocarbones (CFC-11 et CFC-12) sont des gaz, produits par l'industrie abiotique, comme l'utilisation de combustibles fossiles, l'industrie chimique et certains appareils ménagers.

3. Le méthane

Si le méthane est un peu à part c'est qu'il s'agit d'un gaz dont la concentration atmosphérique a le plus augmenté depuis l'ère pré-industrielle (avant 1856), 5fois plus que le CO₂ et 11 fois plus que le NO₂ (5). Sa concentration dans l'atmosphère a quasiment doublé depuis le début du XX^{ème} siècle et, bien sur, les émissions anthropogéniques en sont la cause principale (92).

La contribution d'un gaz à effet de serre est habituellement caractérisée par un indice appelé le potentiel de réchauffement global. Il est calculé par rapport à une référence qui est le CO₂. Le potentiel du méthane est 60 fois supérieur à celui du CO₂, le potentiel de l'oxyde nitreux est 200 fois plus que celui du CO₂ (6). Certes, les émissions de CO₂ sont bien plus importantes que celles du méthane (environ 96 fois plus dans les données des années 90), mais eu égard au potentiel de réchauffement du méthane, les 2 gaz contribuent en fait de façon quasi-équivalente à l'effet de serre. Malgré l'énorme potentiel de réchauffement du NO₂, la quantité émise étant très faible par rapport au CO₂, son impact n'a pas la même importance que celui du méthane.

Le méthane est considéré comme le deuxième gaz à effet de serre après le dioxyde de carbone, il contribue à raison de 16% à l'effet de serre (35). Le méthane n'agit pas seulement par absorption du rayonnement infra-rouge (IR), il est aussi responsable de la formation photochimique d'autres gaz de serre, comme l'ozone (O₃) troposphérique. En effet, dans les régions à fortes concentrations d'oxyde d'azote, la dégradation de méthane est accompagnée d'une formation d'ozone troposphérique.

Une autre importance du méthane tient au fait que l'en pourrait stabiliser sa concentration dans l'atmosphère en réduisant les émissions anthropogéniques de 10%

Tableau 2. Sources et dépôts du méthane atmosphérique (10^6 tonnes /an), (Demeyer D et Fievez V. 2000).

Sources	Estimation
Naturelles	150
Anthropogènes	350
Total	500
Dépôts	
Elimination atmosphérique	470
Elimination par le sol	30
Accumulation atmosphérique	32

Tableau 3. Sources anthropogènes du méthane atmosphérique (10^6 tonnes/ an), (Demeyer D et Fievez V. 2000).

Sources	Estimation
Mines de charbon, gaz naturel, industrie pétrolière	100
Rizières	60
Elevage	80
Déchets d'élevage	25
Epuration des eaux usées	25
Remplissage de terres	30
Combustion de biomasse	40
Total	360

seulement, alors qu'il faudrait réduire de 60% les émissions de CO₂ pour une pareille stabilisation.

En effet, les molécules de méthane ne restent qu'environ 12 ans dans l'atmosphère avant leur récupération dans les puits de carbone tels que les océans, le sol et les plantes. Alors que les molécules de CO₂ y séjournent 10 fois plus longtemps (132), c'est pourquoi une stratégie de réduction des émissions de CH₄ aurait un impact beaucoup plus immédiat sur l'effet de serre qu'une action sur le CO₂, qui ne se ferait sentir qu'à bien plus long terme.

4. Les différentes sources de méthane

Les émissions de méthane ont plusieurs sources naturelles et anthropogéniques. L'augmentation de la concentration du méthane dans l'atmosphère est principalement liée à celle des populations, puisque seulement 30% des émissions sont d'origines naturelles. Tandis que le reste, c'est-à-dire les 70%, proviennent de sources anthropogènes dont les activités agricoles qui sont présumées responsables des 2/3 de l'ensemble de ces dernières (101). Ces sources sont assez bien connues et leur production semble dépasser le potentiel d'utilisation, ce qui provoque l'accumulation du méthane dans l'atmosphère comme l'illustre les tableaux 2 et 3.

5. Le méthane d'origine agricole

5.1. L'émission et l'absorption du CH₄ par le sol

Les sols contiennent des microorganismes qui peuvent soit dégager du CH₄, soit en consommer et le transformer en CO₂, ces deux transformations dépendent en grande partie de la teneur en eau du sol. Lorsque les matières organiques se décomposent dans les sols submergés ou détrempés, l'eau limite la circulation d'O₂ ce qui provoque la libération de grandes quantités de CH₄.

5.2. L'émission de CH₄ par les animaux

Une grande partie du CH₄ provenant des exploitations agricoles est produite par les ruminants (vaches, moutons, chèvres...). Leur système digestif comporte un rumen qui permet la digestion microbienne des fourrages et conduit à la production de CH₄ qui est ensuite éructé par l'animal. Ces émissions de CH₄ varient selon le type d'animal et son alimentation.

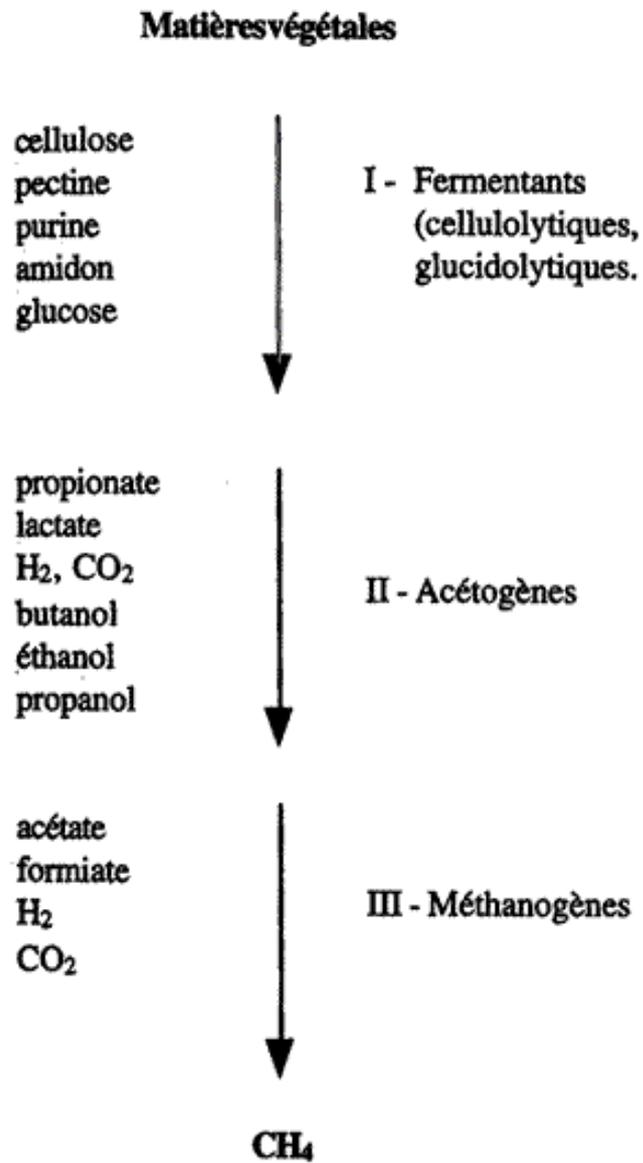


Figure 1. Voies de dégradation anaérobie de la matière organique, (Selosse et *al*, 2000).

Le méthane provient également du fumier et des lisiers composés d'excréments animaux. Comme toute matière organique, ces produits sont décomposés par les microorganismes libérant ainsi le CH_4 .

La participation du bétail aux émissions anthropogéniques varie localement selon l'importance du cheptel. Mondialement, la quantité de méthane émise par le bétail a été diversement estimée. Par exemple et en million de tonnes (MT) : 85-130MT, 77MT (84), 60MT (138), 80MT (144), 75-130MT (41), 120MT (129). Compte tenu du fait que le bétail mondial ne décroît pas, il est raisonnable d'estimer qu'à l'heure actuelle une bonne centaine de million de tonnes de CH_4 sont fournies chaque année par les animaux d'élevage. Le total des émissions anthropogéniques, quant à lui, a été estimé à 340MT (34), 375MT (101), 385MT (41), 371MT (133). Ces chiffres montrent que les animaux d'élevage participeraient de 26 à 29% aux émissions anthropogéniques.

6. Biochimie et microbiologie de la dégradation anaérobie ruminale

La dégradation anaérobie est la voie microbienne qui, en absence d'oxygène moléculaire, minéralise la matière organique en produisant un biogaz carboné. Ce mécanisme nécessite des conditions physico-chimiques adéquates pour que les groupes microbiens successifs impliqués soient actifs. Le métabolisme anaérobie est mis en évidence par la production de composés gazeux le méthane (CH_4) et de dioxyde de carbone (CO_2).

Le processus de biodégradation anaérobie de la matière organique se déroule en quatre étapes biochimiques réalisées par trois groupes bactériens formant une chaîne trophique.

6.1. Hydrolyse

Cette première étape est réductrice et il s'agit plus généralement d'une dépolymérisation (110).

Les exo-enzymes les plus rencontrées sont des hydrolases. Les liaisons covalentes susceptibles d'être clivées sont des liaisons de type esters, osidiques et peptidiques appartenant respectivement aux lipides, glucides et protéines.

L'hydrolyse des polysaccharides libère des oses. L'hydrolyse des protéines conduit à la formation de peptides, d'acides aminés, de dioxyde de carbone, d'azote ammoniacal et de composés sulfurés. L'hydrolyse des lipides conduit essentiellement à la formation d'acides gras volatils et d'acides gras à longues chaînes (LCFA). Ainsi, tous les substrats organiques peuvent subir une hydrolyse. Les produits solubles issus des dépolymérisations s'ajoutent à la

fraction déjà soluble de la matière organique. Cette mise en solution et la taille des particules autorisent leurs transports à travers les membranes microbiennes pour servir de substrat métabolique initial.

6.2. Acidogenèse

Les produits d'hydrolyse sont métabolisés pour libérer les acides gras volatils (acides acétique, propionique, butyrique, valérique, caproïque, ...), des alcools et de l'hydrogène (H₂).

Les micro-organismes rencontrés sont généralement de mêmes genres que ceux de la phase d'hydrolyse. C'est pourquoi ces deux phases sont généralement considérées comme une seule.

6.3. Acétogenèse

Au cours de cette étape, l'oxydation des substrats (surtout les acides propionique et butyrique et l'éthanol) est couplée à la formation d'hydrogène et d'acétate. Lorsque la pression partielle en hydrogène s'élève, cette oxydation est thermodynamiquement impossible (réaction endergonique). Par conséquent, la croissance de la flore acétogène et l'utilisation du substrat dépendent strictement de l'élimination de l'hydrogène du milieu par les microorganismes méthaniques. Cette association syntrophique avec des bactéries méthanogènes hydrogénophiles permet de rendre les réactions endergoniques possibles.

6.4. Méthanogenèse

Contrairement aux étapes précédentes où la diversité des genres microbiens est reliée à la variété des substrats, les archaebactéries méthanogènes forment un groupe restreint. Leurs substrats sont des molécules à un ou deux atomes de carbone, tels que les composés monocarbonés (formate, ...), le couple CO₂/H₂ et l'acétate.

7. La production de méthane digestif par les ruminants

La production de méthane par les animaux est essentiellement d'origine digestive. Elle est due à la présence d'*Archæa bactéries* dans le tube digestif, qui mobilisent l'hydrogène produit au cours de la fermentation de la matière organique (MO) par les bactéries anaérobies. Ce processus métabolique, joue un rôle primordial dans l'efficacité de la digestion microbienne chez les ruminants. En effet, le rumen est un compartiment situé au début de l'appareil digestif où les aliments ingérés sont stockés et digérés pendant plusieurs heures

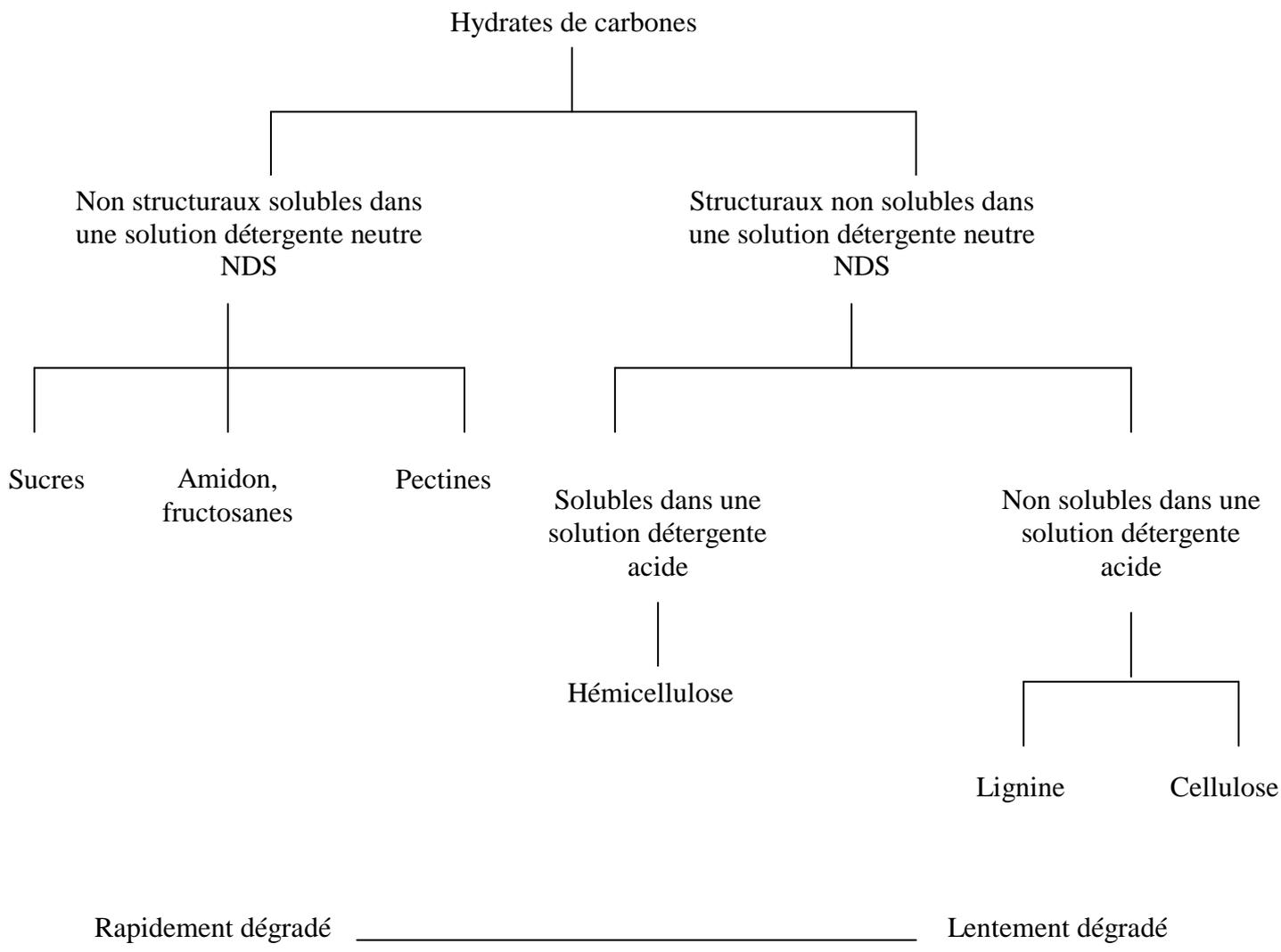


Figure 2. Types d'hydrates de carbones présents dans le matériel végétal.

avant d'être évacués vers l'estomac et la partie distale du tube digestif. Son volume qui est de l'ordre de 100 litres chez la vache adulte, permet d'accumuler des quantités importantes d'aliments qui sont alors soumis à une digestion et une fermentation anaérobies par une population microbienne dense et variée (10^{10} bactéries, 10^6 protozoaires et 10^4 champignons par mL de contenu ruminal). Ce microbiote dégrade de manière collective les polysaccharides des plantes en AGV, biomasse microbienne et gaz (CH_4 , CO_2).

Pour l'animal hôte, les AGV constituent la majeure source d'énergie (60-75% de l'énergie d'ingestion), cependant la production de méthane représente une perte d'énergie moyenne de 6%. (50, 59,66).

7.1. La fermentation dans le rumen

7.1.1 Métabolisme des carbohydrates

Les glucides représentent une proportion importante (70-80%) des substances organiques ingérées par les animaux ruminants. Ils sont situés dans la paroi et le contenu cellulaire. La paroi cellulaire est constituée à raison de 75 à 90% par des glucides, cellulose et hémicellulose, ou par des molécules qui leur sont biochimiquement proches, les substances pectiques qui sont plus ou moins hydrolysées et fermentées dans le rumen selon leur complexité structurale et leurs intérêts énergétiques et nutritionnels.

Les glucides des contenus cellulaires sont essentiellement constitués d'amidon et de sucres solubles (Figure 2).

La dégradation de ces carbohydrates peut être divisée en deux phases :

-Phase de dégradation des glucides

Cette 1^{ère} phase de la dégradation ruminale des polyholosides des rations, aboutie à la formation de molécules glucidiques simples ou oses, le glucose particulièrement. Ce processus de dégradation est lent pour les glucides des parois végétales : 2 à 10% dégradé/heure contre 15 à 60% / heure pour les amidons et 5 à 10% /minute pour les sucres solubles. L'amplitude de la digestion des glucides pariétaux varie largement, de 10 à 90%, selon l'aliment considéré. Ces variations sont notamment liées :

*A la présence de certaines molécules organiques qui ne sont pas dégradées par les micro-organismes : lignine, tanins, cutine et qui incrustent ou englobent les glucides des parois cellulaires les rendant ainsi moins accessibles aux enzymes.

Tableau 4 : Estimation de la quantité des principaux produits terminaux résultant de la fermentation anaérobie de 1kg de matière organique dans le rumen, (Sauvant, 2002).

Produits terminaux de la fermentation	Quantité
Acide acétique	6,7 moles (=350g)
Acide propionique	3,10 moles (=130g)
Acide butyrique	1,09 moles (=50g)
Acides Gras Volatils	0,9 moles (=30g)
Méthane	2,71 moles
Dioxyde de carbone	6,97 moles
Adénosine triphosphate	22 à 24 moles
Matière organique microbienne	300g

*Au temps de présence des particules alimentaires dans le rumen, à l'exemple du broyage qui diminue le temps de séjour et donc leur accessibilité aux enzymes microbiennes.

-Phase d'élaboration des produits terminaux de la fermentation

Cette seconde phase correspond à un processus de fermentation des oses, mécanisme logique en raison des conditions d'oxydoréduction qui règnent dans la panse. Les glucides à 6 atomes de carbone sont hydrolysés par la glycolyse, en deux molécules à 3 atomes de carbone qui sont transformées en acide pyruvique. Cet acide est ensuite rapidement impliqué dans 3 voies métaboliques principales. Il peut être décarboxylé pour donner de l'acide acétique et du gaz carbonique (CO₂). Ces deux éléments constituent les deux principaux produits terminaux des fermentations ruminales et en raison du pouvoir réducteur du milieu et de son rapport NADH₂/NAD élevé, le CO₂ est en partie transformé en méthane. L'acide acétique est en partie transformé en acide butyrique, autre produit terminal de fermentation. L'acide pyruvique peut être impliqué dans 2 autres voies métaboliques qui aboutissent à la formation d'acide propionique. Dans les conditions habituelles, les proportions molaires des acides acétique, propionique et butyrique sont de l'ordre de 60-70%, 15-25% et 10-15% respectivement (120).

A partir de la digestion et de la métabolisation des glucides, les microorganismes de la panse élaborent une partie de leurs substances et surtout les molécules d'ATP nécessaires à leur croissance. Le niveau de production de gaz et des trois acides gras volatils principaux évoqués est globalement proportionnel à la quantité de substrat glucidique ou organique dégradé et à la prolifération des micro-organismes (Tableau 4).

7.2. Les voies métaboliques de la méthanogénèse dans le rumen

Environ 70% de la MO digestible est dégradée puis fermentée dans le rumen par des enzymes uniquement d'origine microbienne. La fermentation anaérobie des équivalents glucoses issus des polysaccharides cellulosiques ou amylacés conduit à la formation de co-facteurs réduits tels que le NADH. Ceux-ci doivent être réoxydés en NAD⁺ et H₂ pour que le processus fermentaire se poursuive. Le NAD⁺ est régénéré par transfert d'électrons vers des accepteurs autres que l'oxygène en milieu anaérobie (40). Le CO₂ est le principal accepteur d'électrons dans le tube digestif en général et dans le rumen en particulier (68). La présence d'hydrogène, même à l'état de trace, inhibe l'activité de la plupart des bactéries qui utilisent des hydrogénases pour régénérer le NAD⁺ (96).

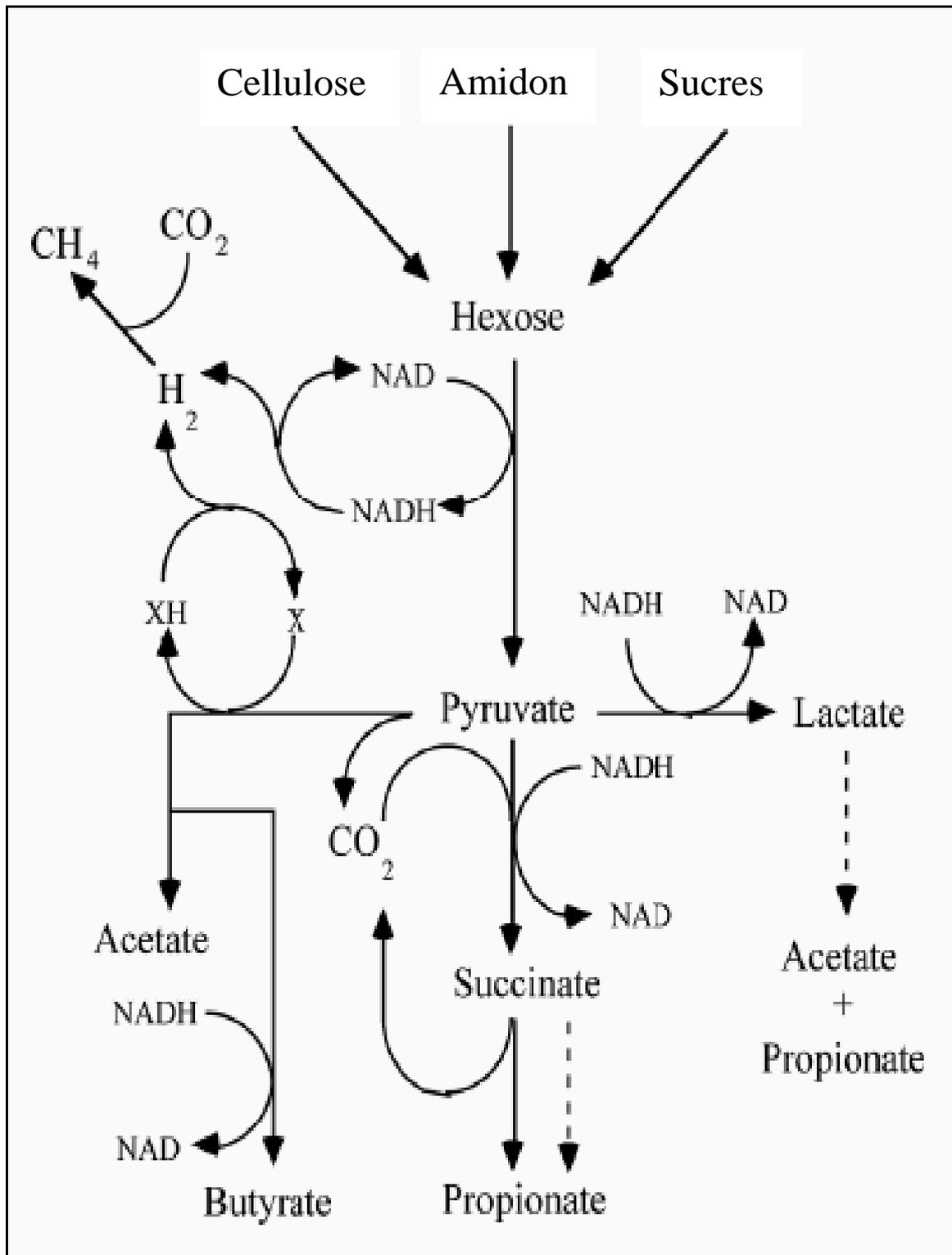


Figure 3. Voies majeures de la fermentation des carbohydrates par les bactéries du rumen, (Russell et Rychlik, 2001).

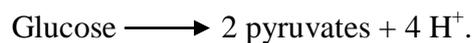
Les bactéries cellulolytiques et xylanolytiques sont, de ce fait, très sensibles à l'apparition d'hydrogène libre dans le milieu fermentaire. Seules les bactéries possédant des ferridoxin-linked pyruvate oxydoréductases peuvent métaboliser le glucose en présence d'hydrogène libre (94).

Bien que l'hydrogène soit l'un des produits terminaux majeurs de fermentation des protozoaires, des champignons et de certaines bactéries, il ne s'accumule jamais dans le rumen car il est rapidement utilisé par des bactéries hydrogénotrophes. La collaboration efficace entre les bactéries fermentaires et les bactéries utilisatrices d'hydrogène dans le rumen est appelée «transfert interspécifique d'hydrogène » (63). Cet échange peut se faire au niveau cellulaire puisque des bactéries méthanogènes colonisent la surface externe ou vivent dans le cytoplasme des protozoaires ciliés.

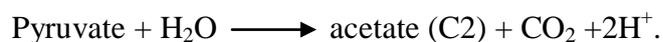
Dans le rumen, le méthane constitue la principale voie d'élimination de l'hydrogène à travers la réaction suivante : $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$, alors que la voie de l'acetogénèse est dominante dans l'intestin : $2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{-COOH} + 2\text{H}_2\text{O}$. Le transfert de l'hydrogène vers les méthanogènes est bénéfique pour la dégradation des carbohydrates de la paroi cellulaire comme il a été montré *in vitro* par Wolin et Miller avec des bactéries (152), par Bauchop et Mountfort (18) avec des champignons, et par Ushida et Jouany (145) avec des protozoaires. Ces résultats ont été confirmés *in vivo* chez des agneaux gnotoxeniques avec ou sans méthanogènes (49), (Tableau 5).

L'hydrogène métabolique, sous forme de protons réduits (H^+), peut être également utilisé durant la synthèse des AGV ou être incorporé à la matière organique microbienne. La stoechiométrie des principales voies fermentatives peuvent être résumées comme suit :

Réactions productrices d'H₂



(Voie d'Emden Meyerhof- Parnas).



Réactions utilisatrices de l'H₂

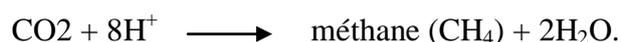
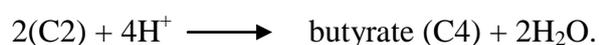
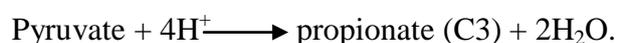


Tableau 5. Dégradation (%) de la matière sèche de paille *in sacco* dans le rumen d'agneaux gnotobiotiques en présence ou en absence de méthanogènes, (Demeyer D., Fievez V. 2000).

Période d'incubation (h)	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4	
	Méthanogènes		Méthanogènes		Méthanogènes		Méthanogènes	
	-	+	-	+	-	+	-	+
24	14,3	24,3	18,3	23,3	21,9	22,0	18,5	24,2
48	20,5	30,0	23,9	29,5	21,6	27,4	23,0	29,0
72	20,8	31,9	25,6	31,6	23,3	30,3	24,8	31,1

(+) : présence de méthanogènes, (-) : absence de méthanogènes

L'ensemble de ces réactions montre que la production d'acétate est reliée à la production de CH₄, alors que celle du propionate est reliée à la production de CO₂. Il existerait également une relation inverse entre la production de propionate et celle de CH₄. D'autres travaux ont montré que les concentrations de CH₄ et de CO₂ évoluent en sens inverse au cours de la journée ; les concentrations de l'un étant maximales dans le contenu ruminal au moment où les concentrations de l'autre sont minimales (147).

7.3. Les microorganismes impliqués dans le métabolisme de l'H₂ digestif

Dans le rumen, l'H₂ est un produit intermédiaire clé résultant de la dégradation des parois cellulaires des plantes par les microorganismes cellulolytiques, comme *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens* et les champignons anaérobies (47,134). L'H₂ ne s'accumule jamais dans le rumen parce qu'il est rapidement utilisé par les méthanogènes, qui sont les microorganismes utilisateurs d'hydrogène dominants (152). Les bactéries acétogènes hydrogénotrophes sont aussi capables d'utiliser l'hydrogène pour la production d'acétate. Ces dernières peuvent cependant être de très bons candidats pour entrer en compétition avec les méthanogènes et leur acétogénèse peut représenter donc une alternative bénéfique à la méthanogénèse qui constitue une perte d'énergie pour le ruminant.

7.3.1. Les méthanogènes

La méthanogénèse biologique est le résultat de l'activité de microorganismes anaérobies stricts, les Méthanogènes qui appartiennent tous au groupe des *Archaea* (151) et qui peuvent être différenciés d'autres microorganismes par le fait qu'elles produisent le CH₄ comme produit catabolique majeur (22). Ce groupe se distingue des autres bactéries par une génétique très différente.

Les particularités des *Archaea* par rapport aux deux autres domaines du vivant (Bactéries et Eucaryotes) sont les suivantes :

- La structure et la chimie des parois cellulaires, atypiques (absence du polymère peptidoglycane classique chez les bactéries, dans leur paroi cellulaire).
- La structure lipidique de leur membrane cytoplasmique : les lipides des archéobactéries consistent en de longues chaînes d'alcool isopréniques attachées au glycérol par des liaisons éther, alors que les autres organismes fabriquent les lipides de leurs membranes en assemblant deux chaînes d'acides gras avec une molécule de glycérol par l'intermédiaire d'une liaisons ester.

Tableau 6. Méthanogènes isolées à partir du rumen, (Mc Allister et *al*, 1996).

Microorganisme	Morphologie	Source d'énergie
<i>Methanobrevibacter ruminantium</i>	Batonnets courts	H ₂ /formate
<i>Methanobrevibacter</i> sp.	Batonnets courts	H ₂ /formate
<i>Methanosarcina barkeri</i>	Cocci irréguliers	H ₂ /methanol methylamines/acetate
<i>Methanosarcina mazei</i>	Cocci	H ₂ /methanol methylamines/acetate
<i>Methanobacterium formicicum</i>	Batonnets longs et filamenteux	H ₂ /formate
<i>Methanomicrobium mobile</i>	Batonnets courts	H ₂ /formate

- La présence d'ARN polymérase inhabituelles, beaucoup plus complexes que les ARN-polymérase des bactéries et étonnamment proches de celles des eucaryotes.
- Un chromosome circulaire de type bactérien mais comportant des gènes en mosaïque similaires à ceux des eucaryotes.
- Les protéines intervenant dans les processus de réplication et de réparation de l'ADN ressemblent à celles rencontrées chez les eucaryotes.
- Leur métabolisme qui est exclusivement méthanogène, la présence d'une chaîne d'enzymes et de co-facteurs uniques, assurant la méthanogénèse comme dépôt final d'hydrogène gazeux. La chaîne assure la réduction du CO₂ en stades successifs et dépend pour son activité de coenzymes liés à des oligo-éléments.

Les méthanogènes du rumen se développent uniquement dans un environnement dont le potentiel redox est inférieur à -300mv (134). L'équipement enzymatique des archaebactéries méthanogènes est sensible à l'oxygène même à l'état de traces. Des conditions d'anaérobiose stricte sont donc nécessaires pour l'expression de leur métabolisme. Il existe deux groupes de méthanogènes :

- méthanogènes acétoclastes convertissant l'acétate en dioxyde de carbone et méthane.
- méthanogènes hydrogénophiles ayant comme substrats uniques le dioxyde de carbone et le dihydrogène pour former du méthane et de l'eau.

Plusieurs espèces méthanogènes ont été isolées chez les ruminants mais quelques unes seulement ont été trouvées en nombre élevé (135). Il est probablement admis que la majorité des espèces méthanogènes du rumen ne sont pas encore identifiées (115). Les espèces méthanogènes les plus communes, isolées à partir du rumen, appartiennent aux genres :

Methanobrevibacter, *Methanomicrobium*, *Methanobacterium* et *Methanosarcinia* (Tableau 6). Le statut taxonomique des méthanogènes isolées du rumen n'a pas été établi de manière adéquate et nécessite une analyse à l'échelle moléculaire pour plus de clarification (95). Les méthanogènes sont fréquemment retrouvés en association avec les protozoaires (45, 79, 140, 141, 74, 136). Des études récentes utilisant l'ARNr 16s de différentes familles de méthanogènes ont montré que certaines vivent à l'état libre dans le fluide ruminal (free living) (128).

Bien que l' H_2 , le formate, l'acétate, le méthanol, et les mono, di et triméthylamine sont des substrats potentiels pour les méthanogènes, seulement l' H_2/CO_2 et le formate sont utilisés comme des précurseurs de méthane dans le rumen (96). Les réactions impliquées dans la production du méthane sont leur seul mécanisme générateur d'énergie.

7.3.2. Les protozoaires

Le rôle des protozoaires dans la formation du méthane est très intéressant car il a été établi que virtuellement toutes les bactéries attachées aux protozoaires sont des méthanogènes (144) et que ces bactéries sont responsables de 25 à 37% de la production totale de méthane (45, 106). L'élimination de la population des protozoaires par défaunation entraîne une modification de la population bactérienne ruminale.

7.3.3. Les acétogènes

Ce sont les bactéries majeures impliquées dans l'utilisation de l' H_2 dans le gros intestin tandis que leur population dépasse rarement la concentration de 10^5 /ml trouvée dans le rumen des ruminants adultes (97). Elles apparaissent dans le rumen tôt après la naissance des agneaux (98), et leur population décroît lors du développement des méthanogènes ce qui permet de confirmer la grande compétition entre les deux utilisateurs d' H_2 .

Lorsqu'elles sont inoculées chez des agneaux gnotobiotiques isolés sans méthanogènes, elles peuvent atteindre des concentrations de 10^8 à 10^9 ml⁻¹, l'inoculation de méthanogènes chez ces animaux gnotobiotiques induit une diminution dans la concentration des acétogènes et donc l'utilisation quasi-complète de l' H_2 à partir d' H_2 libre disparaît. Cela veut dire que les acétogènes et les méthanogènes sont en compétition et que les méthanogènes tirent toujours avantage de cette compétition comme il a été confirmé par Demeyer et al (36), Levan et al (78). Contrairement aux méthanogènes, les acétogènes peuvent utiliser d'autres sources que l'hydrogène pour produire de l'énergie. En effet, la présence de nutriments nombreux et abondants dans le rumen détourne vraisemblablement les acétogènes de l'utilisation de l'hydrogène pour produire de l'énergie et assurer leur croissance. En revanche, l'efficacité thermodynamique des *Archaea* dans l'utilisation de l'hydrogène qui constitue leur seule source d'énergie, les rend particulièrement compétitives dans les transferts interspécifiques d'hydrogène. Les acétogènes introduites dans des rumens d'agneaux gnotoxéniques sans méthanogènes se développent mais n'utilisent que peu d'hydrogène du fait de leur hétérotrophie (98).

8. Facteurs influençant la méthanogénèse ruminale

De nombreux facteurs influencent le profil fermentaire et donc la méthanogénèse dans le rumen, parmi ces facteurs citons :

8.1. L'animal

Il a été montré que la méthanogénèse présentait des variations significatives, lorsque le contenu du rumen est prélevé avant le repas, sur plusieurs moutons alimentés avec une même ration à base de foin. Ces profils différents sont sans doute liés à des populations microbiennes ruminales différentes, dont la nature pourrait être déterminée par la cinétique de salivation et donc de vidange du rumen. Le pH et l'activité des protozoaires sont également deux paramètres non seulement déterminés par la nature et le niveau de l'alimentation mais aussi par le contrôle, via l'animal, de la cinétique et du volume du contenu du rumen. De même Teacher et al (137) ont montré que la population de protozoaires peut varier énormément entre animaux nourris avec la même ration. La présence de protozoaires est associée à des taux de méthanogénèse importants et un renouvellement élevé des protéines microbiennes dans le rumen mais ils assurent aussi une limitation des productions d'AGV et donc de chute du pH, en raison du stockage temporaire de glucides solubles et d'amidon (103).

8.2. Effet des caractéristiques du régime alimentaire

8.2.1. Matière organique digestible

L'émission de méthane est étroitement liée à la quantité de la matière organique ruminale fermentée ou à la quantité de la matière organique digestible, puisque plus de 50% de la digestion se déroule dans le rumen. Quand la digestibilité de l'énergie augmente de 10%, les pertes d'énergie sous forme de méthane augmentent de 0,47 points dans le cas d'un régime à base d'aliment grossier et de 0,74 points dans le cas d'un régime mixte (26).

8.2.2. Le temps de séjour dans le rumen et le taux d'ingestion

Une réduction de la production du méthane est envisagée quand le temps de séjour de l'aliment dans le rumen est réduit, puisque la digestion ruminale décroît et les archaeobactéries méthanogènes sont moins compétitives dans de telles conditions. De plus, une vitesse de passage rapide favorise la production du propionate et l'utilisation convenable de l'hydrogène.

8.2.3. Source de carbone et voie de la fermentation

Puisque les proportions des AGV sont influencées par la composition de la matière organique du régime alimentaire, principalement par la nature et la vitesse de fermentation des carbohydrates, toutes ces caractéristiques alimentaires auront de larges effets sur la production de méthane. Un régime riche en amidon, qui favorise donc la production du propionate, diminuera le ratio méthane/MOF dans le rumen. L'effet d'un tel régime sur le pH ruminal peut aussi expliquer l'effet observé sur l'émission de méthane. Au contraire, un régime à base d'aliment grossier entraîne une augmentation de ce ratio (méthane /MOF).

D'autres caractéristiques du régime alimentaire peuvent aussi influencer la production de méthane elle s'accroît quand des fourrages secs et matures sont utilisés comme aliment ou quand ces fourrages sont hachés de manière grossière plutôt que d'être finement moulus (100). Elle décroît quand ces fourrages sont préservés en silots (100). Il a été montré que les traitements alcalins utilisés pour stimuler la dégradation des constituants de la paroi cellulaire, entraînent une augmentation de la perte d'énergie sous forme de méthane.

Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

Les aptitudes fermentaires du microbiote ruminal d'ovins vis-à-vis des constituants de la paroi végétale sont étudiées sur des sous produits de la phoeniciculture. Il s'agit des pédicelles et des rebus de dattes. La fermentation de ces substrats est comparativement étudiée à un substrat standard, le foin de vesce avoine, fourni par l'unité d'élevage des ruminants de Ain M'lila. La fermentation des substrats purifiés : l'amidon de blé et la cellulose type 101 (SIGMA CHEMICAL CO, Saint Louis USA), a été également étudiée.

Tous les substrats sont séchés à 60°C pendant 48 heures, excepté les rebus de dattes, dont le séchage est effectué à une température de 45°C. L'ensemble des substrats est ensuite broyé et calibré à 1mm.

2. Matériel animal

Les animaux utilisés comme source d'inoculum sont des ovins, choisis de manière aléatoire, d'âge et de sexe différents et pâturant sur des parcours naturels, selon les déclarations des propriétaires (un régime alimentaire libre et non défini). Ils sont sacrifiés aux abattoirs municipaux de BOUSSOUF.

3. Protocole expérimental

3.1. Analyse chimique des substrats

L'analyse chimique est la méthode la plus simple et pour évaluer les produits alimentaire des ruminants (110). La plupart des informations existantes concernant la composition chimique des aliments est basée sur des analyses approximatives qui ont été développées par Henneberg et Stohman (87). Ces dernières devenues archaïques et imprécises ont été soumises à de nombreuses critiques concernant les fibres brutes, la matière sèche et la matière azotée (87). L'alternative pour l'estimation des fibres proposée par Van Soest est maintenant la plus acceptée. Elle a été développée comme procédure pour quantifier les constituants de la paroi cellulaire, principalement au niveau du matériel végétal.

3.3.1. La teneur en matière sèche

La matière sèche est déterminée après dessiccation d'1g de chaque échantillon dans une étuve à 105°C jusqu'à poids constant. La différence de poids correspond à la perte d'humidité et le résidu représente donc la teneur en matière sèche.

3.3.2. La teneur en matière organique et minérale

La matière minérale correspond au résidu obtenu après incinération d'1g de chaque échantillon sec dans un four à moufle à 550°C pendant 6 heures. La perte de poids correspond à la matière organique et le résidu aux cendres.

3.3.3. La teneur en sucres totaux

Le dosage des sucres totaux est réalisé suivant la méthode de Dubois., 1956 (37), dont le principe est le suivant : les sucres en présence d'acide sulfurique concentré à 95% et à chaud se déshydratent et forment des composés méthyles furfurals, ces derniers se condensent avec un agent organique (le phénol) et donnent une couleur jaune orange dont la DO est mesurée à 488nm. Les valeurs obtenues sont traduites en concentration par référence à une courbe d'étalonnage préalablement établie. (Annexe 3)

3.3.4. Dosage des NDF (neutral detergent fiber)

La teneur en NDF (cellulose, hemicellulose et lignine) est estimée par la méthode de Van Soest (146). Les substrats sont traités par une solution NDS (Neutral Detergent Solution) (Annexe 2). Ils sont ensuite filtrés à travers des creusets en verre fritté. Les résidus obtenus sont séchés à 60°C pendant 48 heures.

3.3.5. Dosage des ADF (acid detergent fiber)

La teneur en ADF des substrats, est estimée par la méthode de Van Soest (146) qui consiste à traiter les substrats par une solution ADS (solution détergente à base de cethylethylammonium, suivie de sa filtration sur des creusets en verre fritté). Les résidus, constitués essentiellement de cellulose et de lignine, sont séchés à 60°C pendant 48 heures.

4. Etude de la fermentescibilité des substrats

4.1. Technique de la production de gaz *in vitro*

La technique de production de gaz *in vitro*, développée par Menke et *al* (90), est une simulation de la digestion dans le rumen. C'est une technique rapide, simple et peu coûteuse qui offre une très bonne méthode pour prédire la dégradation et la digestibilité des nutriments. Elle permet parallèlement l'étude des produits terminaux de la fermentation ruminale qui affectent l'environnement.

4.2. Description du système de fermentation

La fermentation est réalisée dans des seringues en polypropylène de 60 ml de capacité. Le bout de la seringue est connecté à un tuyau en téflon de 5 cm de longueur qui est fermé avec une pince de MOHR pour éviter la sortie des gaz produits lors de la fermentation. Les pistons des seringues sont préalablement lubrifiés avec de la graisse silicone, pour faciliter leur mouvement et prévenir l'échappement de gaz.

4.3. Source d'inoculum

Le prélèvement de l'inoculum (jus de rumen) est effectué sur des ovins sacrifiés aux abattoirs de BOUSSOUF. Il est préparé immédiatement après l'abattage et l'éviscération, à partir du contenu ruminal de 3 animaux différents. Cet inoculum est recueilli dans des thermos préalablement chauffés à 39°C et saturés en CO₂. Ils sont hermétiquement fermés et transférés directement au laboratoire ou ils sont traités, au plus tard dans les 2 heures qui suivent la collecte.

4.4. Préparation de l'inoculum

Le milieu de fermentation est obtenu en mélangeant un volume de jus de rumen filtré avec 2 volumes de salive artificielle (Annexe1). Cette solution de couleur bleue est un mélange composé de : 475ml d'eau distillée, 0,12ml de la solution des microminéraux, 240ml de la solution tampon, 240ml de la solution des macrominéraux, 1,22 ml de la solution de résazurine et enfin 100ml de la solution réductrice. Cette dernière est chauffée jusqu'au virage de la coloration bleue vers le rose, puis un barbotage est assuré en profondeur par un flux continu de CO₂ jusqu'à ce que la solution devienne incolore. A ce moment, le jus de rumen est ajouté, puis un barbotage en surface est maintenu pendant 15 min afin de créer une atmosphère totalement anaérobie.

4.5. Inoculation

Pour chaque substrat, 3 seringues contenant 200mg de matière sèche sont incubées avec 30ml du milieu de culture (jus de rumen + solution tampon). Des seringues témoins, ne contenant pas de substrat (uniquement le milieu de culture), sont incubées dans les mêmes conditions.

4.6. Incubation

Les seringues inoculées, sont incubées dans une étuve à agitation rotatoire (type GFL3033) à 9 tours/min et à 39°C pendant 96 heures.

Le suivi de la cinétique de fermentation est réalisé par la mesure du volume total des gaz produits lors de la fermentation. Il est indiqué par le déplacement du piston sous la pression des gaz libérés à différents intervalles de temps : 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 et 96 heures.

Les volumes de gaz, enregistrés sont traités par le model exponentiel proposé par Orskov et Mc Donald., 1979, (107), à fin de déduire les paramètres caractéristiques de la production de gaz.

$$Y=A+B (1- e^{ct})$$

Y : production totale de gaz.

A : production de gaz à partir de la fraction soluble.

B : production de gaz à partir de la fraction insoluble.

A+B : production potentielle de gaz.

C : vitesse de la production de gaz.

5. Détermination de la digestibilité apparente de la matière sèche des substrats

Après 96 heures de fermentation, le contenu de chaque seringue est centrifugé à 12000 tours/min pendant 20min et à 4°C. Le culot récupéré est séché dans des creusets en porcelaine à 60°C pendant 48 heures. Le coefficient de digestibilité apparente est calculé comme suit :

$$CDA \% = [msi-(msr_s-msr_b)/msi]* 100$$

msi : matière sèche initiale (introduite).

msr_s : matière sèche résiduelle du substrat incubé.

msr_b : moyenne de la matière sèche résiduelle des seringues témoins (blanc).

6. Etude qualitative et quantitative des gaz produits

La production réelle de gaz dans chaque seringue correspond au rapport entre la production de gaz après 96 heures soustraite du volume de gaz enregistré à t₀ et celui du volume de gaz moyen produit par le blanc et la matière sèche introduite :

$$(TGP)V96ml/200mg MS = (V96-V0-VB)*0.2/MS introduite.$$

Le volume des gaz produits (CH_4 et CO_2), est déterminé par un traitement à la soude (NaOH 10N) (44). Les gaz produits à chaque intervalle de temps sont transférés dans une autre seringue. Cette dernière est injectée de manière étanche par la soude qui réagit avec le CO_2 par absorption, entraînant le déplacement du piston d'un volume correspondant au volume de CH_4 . Le volume de CO_2 est déterminé par soustraction du volume net de CH_4 enregistré, par rapport au volume de gaz total produit.

7. Méthode de séparation de la fraction soluble

La fraction insoluble est récupérée par traitement du substrat brut à la solution d'NDS (procédure décrite par Schofield et Pell) (124). La production de gaz à partir de la fraction soluble est estimée par soustraction de la production de gaz due à la fraction insoluble de celle du substrat total brut (32).

8. Analyse statistique

Les données de l'analyse chimique, et celles de la production de gaz et ses paramètres ont été soumises à une analyse de la variance (ANOVA) à un seul facteur, par l'utilisation du logiciel informatique STATISTICA.5.

Résultats et discussion

Tableau 7. Composition chimique des substrats étudiés (% de MS)

Substrat	MS	MM	MO	NDF	ADF	ST
Rebus de dattes	91,29±0,03 ^a	4,2±0,2 ^b	95,8±2,3 ^a	45,75±1,93 ^c	32,82±0,51 ^b	79,35±1,34 ^a
Pédicelles	92,13±0,7 ^a	6,29±0,5 ^a	93,71±0,35 ^b	78,09±1,2 ^a	52,3±0,65 ^a	25,5±0,65 ^c
Foin de vesce avoine	90,2±0,01 ^b	5,8±0,17 ^{ab}	94,2±0,4 ^a	61,59±1,77 ^b	32,77±3,22 ^b	29± 0,75 ^b

MS : matière sèche, **MO** : matière organique, **MM** : matière minérale, **NDF** : neutral detergent fiber, **ADF** : acid detergent fiber, **ST** : sucres totaux, les moyennes dans la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

1. Composition chimique

L'analyse chimique est la méthode la plus simple pour apprécier la qualité des produits alimentaires destinés aux animaux ruminants. Cette dernière fournit une première évaluation du potentiel nutritif de l'aliment qu'elle divise en plusieurs fractions décrites dans le tableau 7, Pedraza (111) : la matière sèche, la matière organique, la matière minérale, les sucres totaux, la fraction NDF (cellulose, hemicellulose, lignine) et la fraction ADF (cellulose et lignine).

1.1. La matière sèche

Le tableau 7 montre que les substrats étudiés présentent de fortes teneurs en matière sèche (MS). Les pédicelles et les rebus de dattes ont un poids sec significativement similaire : 92,13 % et 91,29% respectivement, contrairement au foin de vesce avoine qui contient plus d'eau, sa MS étant de 90,2%. Ces faibles taux d'humidité pourraient s'expliquer par l'origine aride des substrats étudiés et recourent ceux publiés par d'autres auteurs. Ainsi, une teneur en matière sèche MS presque identique correspondant à 88,5% est détectée pour le foin de vesce avoine par Vitti et *al* (148). Mais d'autres auteurs ont signalés une valeur plus faible, soit 65,8% (53). Pour les rebus de dattes nos résultats sont comparables à ceux rapportés par certains auteurs (11, 52, 115). Il en est de même pour les pédicelles (11). Toutefois, les faibles variations observées s'expliqueraient par les différents stades végétatifs et la saison de récolte des substrats, souvent non mentionnés dans la littérature.

1.2. La matière organique

Le contenu des échantillons en matière organique est présenté dans le tableau 7. Les taux en matière organique sont statistiquement similaires ($p > 0,05$), soit 95,8%, 94,2% et 93,71% respectivement pour les rebus de dattes, le foin de vesce avoine et les pédicelles. En ce qui concerne le foin de vesce avoine, ce taux en MO est comparable à celui indiqué par certains auteurs qui enregistrent des valeurs de : 88,5% et 93,1% (52,133). Pour les pédicelles, la teneur en MO est du même ordre que les résultats rapportés par la littérature (12). Quant aux rebus de dattes une valeur de (98,07%) légèrement supérieure à la nôtre est donnée par Guetticha (52). Les variations notées sont probablement dues aux conditions climatiques et surtout aux variations de températures et de pluviométrie qui déterminent la composition chimique de la plante. Le stade végétatif de récolte, a aussi une influence sur la teneur en matière organique des substrats.

1.3. La matière minérale

Comme la matière minérale (MM) est le complément à 100 de la matière organique après incinération, il est logique que les teneurs en MM soient inversées par rapport aux teneurs en MO (Tableau 7). Il apparaît clairement que tous les substrats renferment de faibles teneurs en matière minérale avec 6,29%, 5,8% et 4,2% respectivement pour les pédicelles le foin de vesce avoine et les rebus de dattes. Ces valeurs sont comparables à celles enregistrées par d'autres auteurs travaillant sur les mêmes substrats. Pour le foin de vesce avoine les valeurs de MM signalées sont proches des nôtres soient 5,6% et 5,08% (12,109), tandis que d'autres auteurs indiquent des taux légèrement supérieurs mais restant du même ordre 6,4% (147). Pareillement pour les rebus de dattes et les pédicelles, des taux similaires de (1,96% et 6,3%) sont également notées (12).

Les faibles variations de la concentration en éléments minéraux, notées par les différents auteurs sont dues à l'origine des substrats, autrement dit, au type du sol, au climat, au stade de maturité et à la saison de récolte (76, 131, 142).

1.4. La teneur en sucres totaux

Le contenu en sucre totaux montre une différence significative ($p < 0,05$) en terme statistique pour les trois substrats testés : rebus de dattes, foin de vesce avoine et pédicelles qui enregistrent des valeurs de 79,35%, 29% et 25,5% respectivement (Tableau7). Les rebus de dattes sont très riches en sucres totaux, comparativement au foin de vesce avoine et aux pédicelles qui renferment des taux relativement inférieurs. Les résultats obtenus avec les rebus de dattes recourent ceux de la littérature (11, 130), les faibles variations notées sont probablement dues aux variétés de dattes utilisées, souvent non signalées par les auteurs. Pour le foin de vesce avoine, les valeurs obtenues sont très proches de celles rapportées par Pedraza., 1998 (111). Les différences notées entre les pédicelles et les rebus de dattes peuvent s'expliquer par la partie phénologique qu'occupe chaque substrat, à savoir tige et fruit respectivement. Ainsi, la fraction anatomique semble être un facteur influençant les teneurs en sucres totaux. A cet effet s'ajoute également celui de l'âge avancé des plantes au moment de la récolte. En effet, la littérature scientifique rapporte que l'effet négatif sur la digestibilité des plantes est du en grande partie au contenu élevé en parois cellulaires. Givens et *al* (54), en travaillant sur le maïs, ont expliqué cet effet par la translocation des glucides, principalement les monosaccharides, des feuilles vers les graines sous forme d'amidon.

1.5. La composition de la paroi cellulaire

D'une manière générale, les trois substrats étudiés présentent une composition pariétale différente ($p < 0,05$). Pour la fraction NDF (parois totales) les résultats obtenus ont permis de les classés par ordre croissant comme suit :

Rebus de dattes > foin de vesce avoine > pédicelles. Avec 45,75%, 61,59 % et 78,09% respectivement. Pour les rebus de dattes, ces faibles teneurs ont été également notées par certains auteurs. Pareillement pour les pédicelles qui présentent la plus forte teneur en parois totales, plusieurs auteurs rapportent des valeurs du même ordre que les nôtres (12,). De même, le foin de vesce avoine qui présente une valeur intermédiaire entre celle des rebus de dattes et des pédicelles, les teneurs rapportées par la littérature sont proches des nôtres (12,115).

Concernant la fraction ADF, représentée principalement par la cellulose et la lignine, elle est fortement liée à la digestion de la matière sèche des substrats. Ses valeurs sont de 52,3% pour les pédicelles, 32,77% pour le foin et de 32,82% pour les rebus de dattes. Les résultats enregistrés pour les pédicelles et le foin de vesce avoine recourent ceux rapportés par la littérature (12). Cependant, certains auteurs donnent des valeurs nettement inférieures aux nôtres ont été enregistrées (148). Ces différences, constatées sont probablement dues aux différents stades de maturité et surtout à la variété des dattes étudiées. Les teneurs en parois totales, relativement élevées pour les pédicelles et le foin de vesce avoine, pourraient s'expliquer en partie par l'origine aride de ces substrats. En réalité, dans des conditions extrêmes de chaleur (cas des zones arides et semi- arides), les plantes se caractérisent par une physiologie particulière entraînant une lignification précoce, elles produisent alors plus de fibres et emmagasinent moins de sucres solubles (19, 31). D'après la littérature, de faibles pourcentages en NDF sont proscrits, en alimentation animale et un intervalle de 26% à 28% est recommandé, en dessous de ce seuil apparaît le phénomène de l'acidose (19, 20, 55). La présence des fibres donc stimule la rumination et permet de maintenir une fonction ruminale normale. Cependant une limite fixée à 32% d'NDF, détermine l'apparition d'un effet antagoniste des fibres sur l'ingestion et la digestion du régime alimentaire (83).

2. Etude de la fermentescibilité *in vitro* des substrats par le microbite ruminal

2.1. Evolution du pH

Le pH des jus de rumen fraîchement collectés varie entre 5,87 et 6,63 (la valeur de 5,87 pourrait être justifiée par la nature du régime alimentaire des animaux donneurs) avec une valeur moyenne de 6,63 (Tableau 8). Cette valeur similaire à celle observée par Sauvante et *al.*

Tableau 8. Evolution du pH après addition de la solution tampon.

	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Moyenne
pH du jus frais	6,59±0,01	6,56 ±0,01	5,87±0,04	6,63±0,02	6,63±0,03
pH (jus de rumen /salive artificielle)	6,9±0,02	6,6±0,03	6,81±0,01	6,94±0,01	6,81±0,01

Tableau 9. Evolution de l'acidité après 96 heures de fermentation

	pH à t₀	pH à t₉₆
Blanc	6,81±0,05	6,95±0,02
Rebus de dattes	6,81±0,05	6,67±0,06
Pédicelles	6,81±0,05	6,82±0,03
Foin	6,81±0,05	6,53±0,01
Fractions pariétales		
Rebus de dattes	6,81±0,05	6,66±0,07
Pédicelles	6,81±0,05	6,95±0,04
Foin	6,81±0,05	6,88±0,09
Substrats purs		
Amidon	6,81±0,05	6,4±0,02
Cellulose type 101	6,81±0,05	6,62±0,05

(118), correspond à des conditions d'activité favorables aux microorganismes du rumen et surtout à l'activité cellulolytique (61, 67, 43,121).

Après addition de la salive artificielle, une légère augmentation est constatée, le pH du mélange jus de rumen /solution tampon atteint une valeur moyenne de 6,81. Ce résultat rapporté par plusieurs auteurs (72,81) peut être expliqué par l'effet conjugué du pouvoir tampon de la salive artificielle et du jus de rumen, qui contribuent ensemble à la neutralisation de l'acidité du milieu (62,71).

Au terme de 96 heures de fermentation, l'acidité du milieu (sans substrats) évolue vers la neutralité avec une valeur moyenne de 6,95 (Tableau 9). Il est à noter, que le pH tend à baisser et une variation significative est notée entre le pH initial et le pH final avec certains substrats. Cependant, une hausse des valeurs de pH est constatée, ainsi le pH passe de 6,81 à 6,82, 6,95 et 6,88 respectivement pour les pédicelles, la fraction insolubles des pédicelles et la fraction insoluble du foin de vesce avoine. Les mêmes résultats ont été signalés par Fakhri (42) qui note des valeurs de 6,69 à 6,84 pour la même durée d'incubation. De même LY et *al* (80), rapportent une augmentation de pH de 6,92 à 7,06.

L'acidité du milieu après 96 heures de fermentation serait due, à l'accumulation des acides gras volatils et de l'acide lactique résultants de la fermentation des substrats dans le milieu (24,79, 102,115), elle peut être également attribuée à la forte concentration en hydrogène (H₂) (24).

Hoover (60), rapporte qu'un pH bas peut diminuer l'efficacité de la croissance bactérienne et inhiber la dégradation des fibres (l'activité fibrolytique) *in vitro*. Cependant, les valeurs obtenues dans notre cas ne passent pas au dessous du seuil critique (<6,2) à partir duquel apparaît le phénomène de l'acidose (121), en raison du pouvoir tampon élevé de la salive artificielle de Menke (89).

L'augmentation du pH final notée pour certains substrats peut être expliquée par la concentration élevée du milieu en ammoniac résultant de la dégradation de l'urée par le microbiote ruminal (109), comme elle peut être attribuée aussi à une diminution de la concentration de l'hydrogène (24).

Tableau 10. Production de gaz total et ses paramètres caractéristiques modélisés.

Substrats		GP	a	b	c (h⁻¹)
Substrats bruts	Rebus de dattes	44,94 a	2,76	38,39	0,1226
	Foin de vesce avoine	38,33 b	10,44	31,24	0,0339
	Pédicelles	20,49 c	-5,14	12,40	0,025
Fractions pariétales	Rebus de dattes	19,32 a	-2,84	15,24	0,0271
	Foin de vesce avoine	17,67 a	-3,62	28,54	0,0206
	Pédicelles	10,74 c	-0,93	10,50	0,0169
Fractions solubles	Rebus de dattes	25,62 a	-1,56	–	–
	Foin de vesce avoine	20,66 a	3,04	–	–
	Pédicelles	9,75 c	1,81	–	–
Substrats purs	Amidon	47,79 b	-8,81	55,16	0,26
	Cellulose type 101	67,57 a	-9,20	82,31	0,0641

GP : production de gaz (ml/200mg MS), **a** : gaz produit à partir de la fraction soluble (ml/200mg MS), **b** : gaz produit à partir de la fraction insoluble mais potentiellement fermentescible (ml/200mgMS), **c** : vitesse de production de gaz (h⁻¹). Les moyennes dans la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement différentes (p<0,05).

2. 2. Production quantitative des gaz fermentaires :

Le tableau 10 présente les volumes de gaz dégagé par la fermentation des différents substrats et leurs fractions insolubles (NDF) et solubles (contenu cellulaire). La production de gaz total, *in vitro* est significativement différente entre les substrats étudiés ($p < 0,001$). Au terme de 96 heures de fermentation, il apparaît que parmi les substrats bruts, les rebus de dattes engendrent la plus grande production de gaz (44,94ml/200mg de MS). Ils sont suivis du foin de vesce avoine dont la production est comparable à cette dernière (38,33ml/200mg de MS). Les pédicelles se distinguent par un volume de gaz fermentaire plus faible (20,49ml/200mgMS). Cette différence notée pour le volume total de gaz produit est certainement associé à la composition chimique différente des substrats étudiés (Tableau 7), variable en fonction de la partie phénologique (les rebus de dattes et les pédicelles) et de la famille botanique (le foin de vesce avoine).

La production de gaz résultant de la fermentation des rebus de dattes montre que ces derniers sont très fermentescibles par le microbiote ruminal d'ovins, probablement du fait de leur richesse en sucres solubles rapidement fermentescibles. Le foin de vesce avoine se montre également très fermentescible, puisqu'il produit un volume comparable à celui des rebus de dattes. Ceci semble être due à son origine hybride, formée par l'association de deux plantes appartenant à deux familles botaniques différentes, la vesce (*vicia sativa*) qui est une légumineuse fourragère très riche en glucides mais aussi en protéines (15 à 23%) en raison de sa capacité à fixer l'azote atmosphérique (3, 118), alors que l'avoine (*avena sativa*) est une graminée riche en fibres. Cette situation entraîne une stimulation de l'activité fermentaire du microbiote ruminal en présence d'un aliment riche à la fois en azote et en énergie (46, 51, 138). Ce résultat a été également noté par Arhab (11) qui constate qu'après 96 heures de fermentation la production de gaz par la dégradation des résidus de dattes est comparable à celle du foin de vesce avoine. La faible production de gaz des pédicelles, comparativement aux deux autres substrats (rebus de dattes et foin de vesce avoine), n'est pas surprenante en raison de leur contenu élevé en fraction NDF (paroi totale). Ce résultat confirme une constatation courante qui corrèle la production de gaz *in vitro* négativement au contenu fibreux des aliments (9, 51, 75, 85). De plus ce résultat recoupe celui de Arhab (12), qui note une faible production de gaz pour les palmes sèches et les pédicelles (fractions du palmier dattier), essentiellement liée à leurs contenus élevés en fibres mais aussi en lignine et en tanins. En effet, les tanins se lient surtout aux protéines et aux fibres alimentaires avec lesquels ils forment des complexes résistants ne pouvant pas être dégradés par le microbiote ruminal (13, 14, 15, 17).

Le volume total de gaz dégagé, suite à la dégradation de la fraction pariétale des substrats traités par une solution détergente neutre, est indiqué dans le tableau 10. Il apparaît clairement que les différentes fractions présentent des volumes de gaz significativement inférieurs par rapport aux valeurs du volume total ($p < 0,001$), enregistrées avec leurs substrats bruts respectifs. Les valeurs passent de 44,94ml/200mg MS à 19,32ml/200mg MS de 38,33ml/200mg MS à 17,67ml/200mg MS et de 20,49ml/200mg MS à 10,74ml/200mg MS respectivement pour les rebus de dattes, le foin de vesce avoine et les pédicelles. Cette diminution résulte probablement du traitement par la solution d’NDS qui entraîne l’élimination de tous les composés solubles facilement fermentescibles (sucres, protéines, amidon et pectines). Pedraza (111), fait la même constatation, dans une étude comparative entre trois méthodes de séparation de la fraction insoluble sur différents types de substrats. Une baisse similaire a été également observée par Ly (80) pour les feuilles de bananier. Bien que les rebus de dattes soient très riches en fractions solubles, le résultat enregistré par fermentation témoigne que cette dernière est hautement fermentescible. Pour les pédicelles, ce résultat prévisible est probablement dû à la composition chimique de leurs paroi cellulaire qui montre que ces derniers sont caractérisés par un contenu élevé en fraction NDF(%), qui ne contribue pas de façon importante à l’apport de fibres facilement fermentescibles (111).

Les volumes de gaz produit par la fraction soluble des substrats étudiés, estimés par soustraction, sont également présentés dans le tableau 10. Les rebus de dattes enregistrent le plus grand volume de gaz avec 25,62ml/200mg MS, le foin de vesce avoine est toujours en deuxième position avec 20,66 ml/200mg MS, les pédicelles produisent le plus faible volume de gaz soit 9,75 ml/200mg MS. Ce résultat, prévisible pour les rebus de dattes, est essentiellement lié à leur contenu élevé en sucres totaux facilement fermentescibles, comparativement aux pédicelles dont les taux en sucres totaux sont relativement inférieurs.

La production moyenne de gaz résultant de la dégradation des différents types de substrats purs est aussi présentée dans le tableau 10. Elle est de 67,57 ml/200mgMS pour la cellulose type 101 contre 47,79 ml/200mg MS pour l’amidon de blé. Concernant la cellulose type 101 cette forte production de gaz n’est pas surprenante puisque nos résultats sont comparables à ceux publiés par Weimer (150), montrant que la cellulose type 101 peu cristalline, donne des valeurs élevées comparativement à d’autres types de celluloses microcristallines type 20 et type 50 respectivement. Il est à noter également que la cellulose type 101 produit plus de gaz que les fractions insolubles (fractions NDF) de tous les substrats.

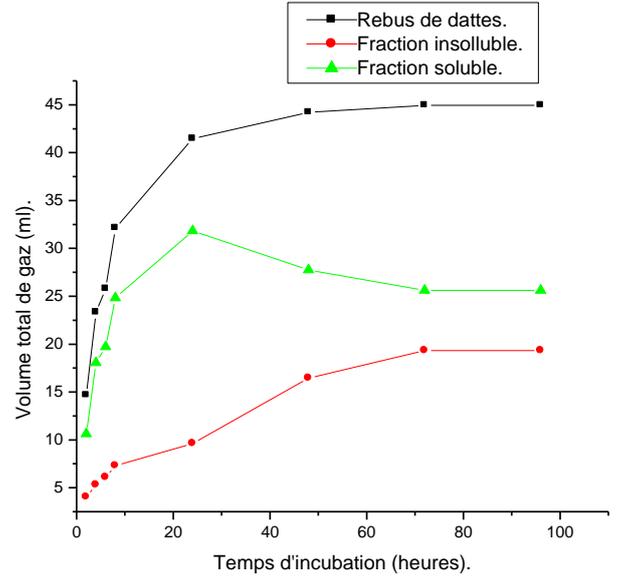
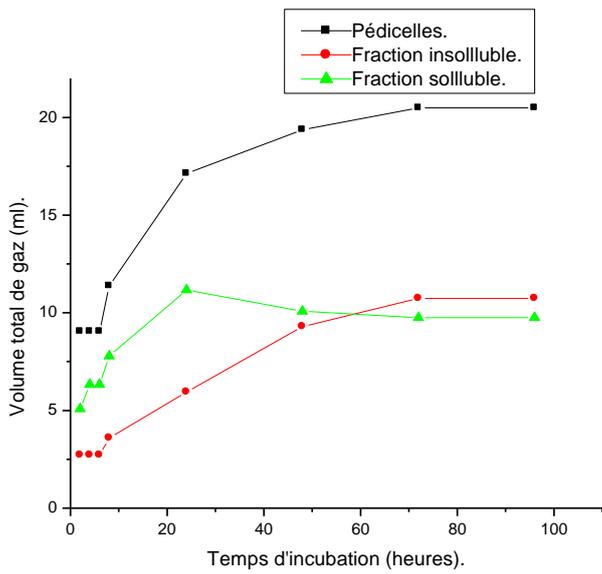
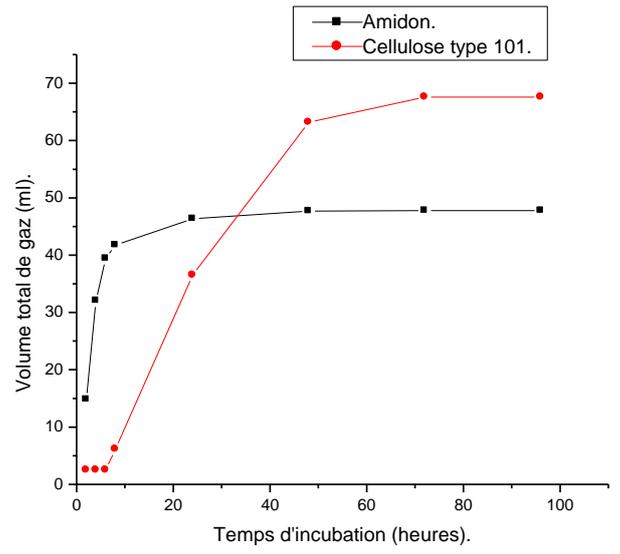
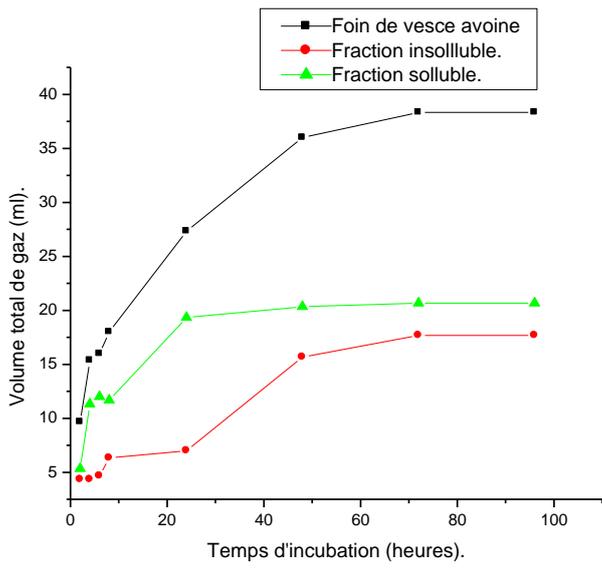


Figure 4. Cinétique de production de gaz total *in vitro*.

Cette situation est probablement différente de celle des plantes où la cellulose est plus ou moins amorphe et complexée à d'autres composants, ce qui la rend moins accessible aux microorganismes cellulolytiques et donc plus difficilement métabolisable. De même, la faible production de gaz notée pour les différentes fractions solubles, comparativement à l'amidon de blé, pourrait s'expliquer par la nature de la fraction soluble des substrats étudiés. En effet, cette dernière est constituée essentiellement de sucres solubles, d'amidon et de protéines. Le contenu relatif en protéines en est présumé responsable, parce qu'il est connu que le gaz produit par la dégradation des protéines est très faible que celui produit par la fermentation des carbohydrates tels les NDF et l'amidon (16, 33).

2. 3. Cinétique de production de gaz in vitro

La cinétique de production de gaz des substrats étudiés est illustrée dans la figure 4. Généralement, la cinétique de dégradation est caractérisée par 2 ou 3 phases distinctes.

La première phase correspond à une phase d'adaptation, elle présente une faible production de gaz et un temps de latence plus ou moins élevé, situé entre 0 et 6 heures pour les substrats bruts (foin de vesce avoine et pédicelles) et entre 0 et 8 heures pour les fraction insolubles. Cependant, cette phase est totalement absente dans le cas des rebus de dattes et des fractions solubles.

La deuxième phase est dite phase exponentielle ou phase de croissance rapide, elle est caractérisée par une production élevée de gaz, environ 75% du gaz total est produit durant cette période qui dure de 6 à 48 heures pour les substrats bruts (foin de vesce avoine et pédicelles), entre 8 à 48 heures pour les fractions NDF et entre 0 à 24 heures pour les rebus de dattes et les fractions solubles (Figure 4).

La troisième phase se situe entre 72 et 96 heures pour les substrats bruts et les fractions insolubles, entre 24 heures et 96 heures pour les fractions solubles et les rebus de dattes. Peu de gaz est alors produit et la fermentation diminue jusqu'à se stabiliser totalement par l'épuisement du milieu de fermentation (dégradation complète du substrat) et des conditions défavorables engendrées dans le milieu par l'acidité résultant de l'accumulation des acides gras volatils (AGV).

La cinétique de production de gaz total des deux types de substrats purifiés, la cellulose microcristalline type 101 et l'amidon de blé, est également illustrée par la figure 4. Il apparaît clairement que la cellulose type 101 atteint un maximum de production de gaz au bout de 72 heures de fermentation, tandis que celle de l'amidon soluble, dont la dégradation est intense

durant les premières 12 heures, atteint son maximum à 24 heures d'incubation. Ce résultat est en accord avec ceux publiés par Menke (91). Il est à noter également que la production de gaz à partir de la dégradation de la cellulose 101 est tributaire d'une phase de latence plus ou moins longue qui est de 8 heures. Ce résultat confirme celui déjà cité par Weimer (150) qui montre que la colonisation complète de différents types de celluloses s'effectue après 8 heures de fermentation. Il est à remarquer que cette phase est totalement absente dans le cas de l'amidon de blé.

2. 4. Paramètres caractéristiques de la production de gaz *in vitro*

Les paramètres cinétiques de la fermentation *in vitro* des différents substrats, déduits à partir du modèle d'Orskov et Mc Donald (108), sont mentionnés dans le tableau 10. Généralement, on constate que les valeurs du facteur (a) sont aussi bien positives que négatives. Elles sont de 2,76ml/200mg MS pour les rebus de dattes et 10,44ml/200mg MS pour le foin de vesce avoine, alors que les pédicelles donnent lieu à une valeur négative (-5,14ml/200mg MS). D'après plusieurs auteurs, la valeur négative de (a) serait la conséquence d'une phase de latence durant laquelle les microorganismes s'attachent et colonisent les particules alimentaires avant leur éventuelle dégradation (2). Cette constatation est également signalée par plusieurs auteurs travaillant *in vitro* et *in sacco* (1, 9, 21, 38). Pour le foin de vesce avoine, une valeur positive de (a) est également signalée (117). De même que des valeurs négatives de (a) pour les rebus de dattes (11).

Le volume de gaz produit à partir de la fraction insoluble mais potentiellement fermentescible (b) est statistiquement différent ($p < 0,001$). Le plus grand volume marque les rebus de dattes : 38,39ml/200mgMS, une valeur intermédiaire caractérise le foin de vesce avoine avec : 31,24ml/200mg MS. Les pédicelles se distinguent par la plus faible dégradation de leur fraction insoluble et produisent à peine 12,40ml/200mg MS. La différence observée entre les trois substrats, dans la fermentation de leurs fractions pariétales résulte de leur composition chimique différente. En effet, la faible production de gaz à partir de la fraction (b) observée chez les pédicelles peut être due à leur teneur élevée en fraction NDF. A cet effet s'ajoute probablement l'action des tanins (facteurs antinutritionnels) qui peuvent réduire la dégradation des fibres par la formation de complexes avec la fraction lignocellulosique, empêchant ainsi l'adhésion des microorganismes (88). Ils inhiberaient également les cellulases impliquées dans leur dégradation ou directement les bactéries cellulolytiques en formant des complexes avec les minéraux indispensables à leur croissance (58).

Les vitesses de fermentation des fractions insolubles des substrats étudiés sont relativement différentes ($p < 0,05$), les rebus de dattes expriment toujours leur aptitude en ce domaine en induisant la plus grande vitesse : $0,1226\text{h}^{-1}$. Des valeurs inférieures à celle-ci sont notées pour le foin de vesce avoine et les pédicelles avec $0,033\text{h}^{-1}$ et $0,025\text{h}^{-1}$ respectivement. La fermentation, bien plus rapide des rebus de dattes comparativement au foin de vesce avoine et des pédicelles, peut s'expliquer à la fois par leur valeur énergétique élevée riche en sucres solubles et pectines et par leur fraction insoluble peu lignifiée et facilement accessible au microbiote ruminal (53, 105, 122). La vitesse de fermentation agit sur l'ingestion des aliments car elle affecte la vitesse de passage des particules alimentaires dans le rumen (68). Elle dépend de la nature du substrat et plus précisément des fibres (82,93). Ces résultats concordent avec les études de plusieurs auteurs travaillant sur des substrats ayant la même composition chimique que les nôtres Tuah et *al* (143).

Les paramètres cinétiques de la production de gaz *in vitro* des différentes fractions pariétales obtenues après un traitement par une solution détergente neutre sont représentés dans le tableau 10. Elles montrent clairement que la fermentation des fractions pariétales de tous les substrats étudiés détermine une phase de latence caractérisée par des valeurs de (a) négatives. Ces dernières sont plus importantes pour les pédicelles et le foin de vesce avoine que celles obtenues avec les mêmes substrats bruts respectifs. Cette situation est certainement engendrée par la perte de matière organique rapidement ou facilement fermentescible et disponible pour le microbiote ruminal (4, 127).

La comparaison du volume de gaz produit par la fraction insoluble (b) des pédicelles (substrat brut) et des pédicelles traitées (fraction pariétale), permet de constater que les deux valeurs sont très proches : $12,40\text{ml}/200\text{mg MS}$ et $10,5\text{ml}/200\text{mg MS}$, de même pour le foin avec : $31,24\text{ml}/200\text{mg MS}$ et $28,54\text{ml}/200\text{mg MS}$ pour le substrat brut et sa fraction pariétale respectivement. Cependant la valeur de (b) enregistrée par la fraction pariétale des rebus de dattes est relativement inférieure en comparaison avec celle du substrat brut ($38,39\text{ml}/200\text{mg MS}$ contre $15,24\text{ml}/200\text{mg MS}$). Ce résultat explique parfaitement la contribution importante du contenu cellulaire des rebus de dattes à la production de gaz. Ainsi, la stabilité observée dans les valeurs de (b) est sans doute le résultat du traitement par la solution détergente neutre qui élimine seulement la fraction soluble, dont l'effet se manifeste sur la production de gaz. Cette constatation est également faite par Pedraza (111) pour la paille d'orge dont la fraction insoluble présente une valeur de (b) comparable à celle du substrat brut.

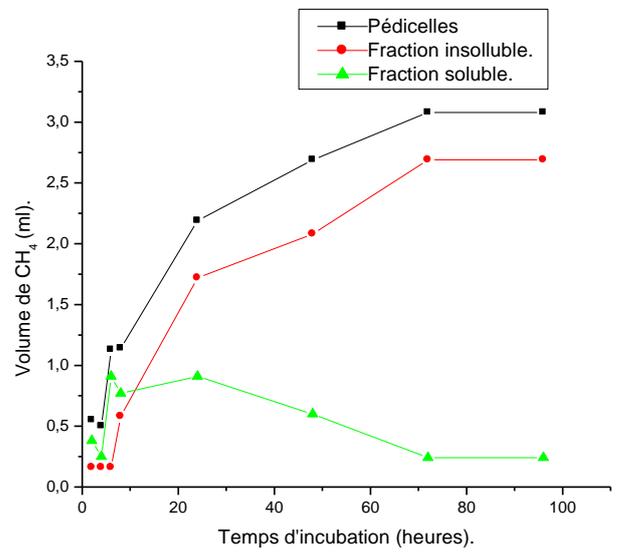
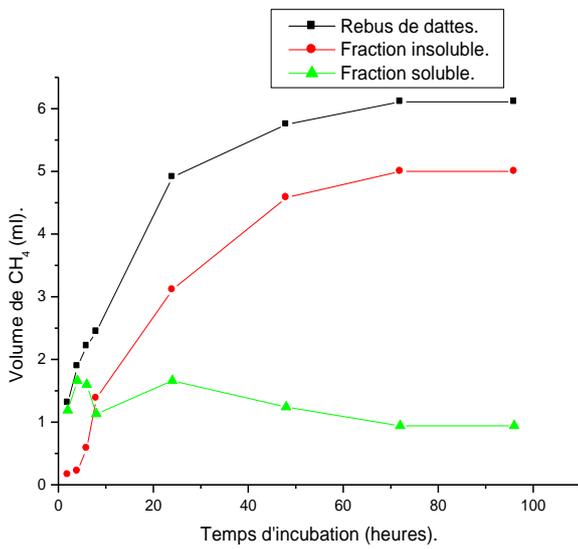
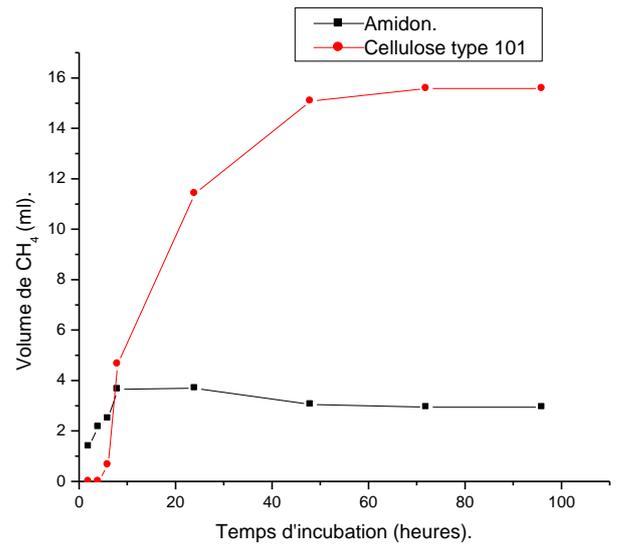
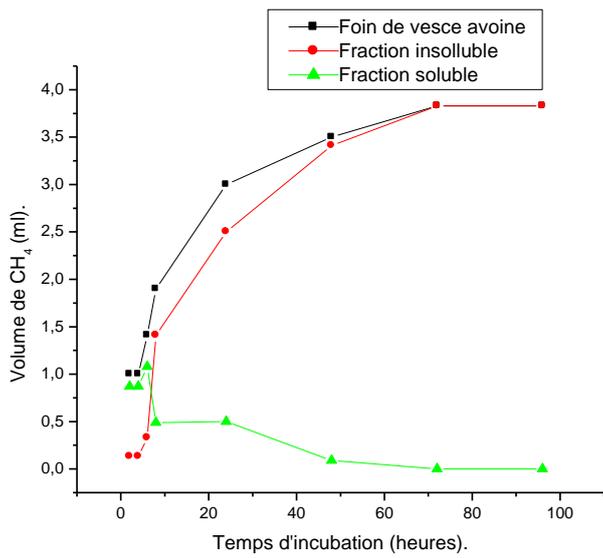


Figure 5. Cinétique de production du méthane (CH₄).

La même remarque est faite par Rachedi (113), qui note des valeurs de 24,89 et 25,66ml, respectivement pour le Drin (brut) et le Drin (traité).

Les rebus de dattes fournissent une fraction pariétale hautement fermentescible, caractérisée par une grande vitesse de dégradation comparativement aux deux autres substrats dont la fraction pariétale est constituée de composés insolubles mais potentiellement dégradables à terme.

2. 5. Analyse qualitative des gaz produits

La cinétique des gaz CH₄ et CO₂ produits, suite à la fermentation des substrats étudiés, est illustrée dans les figures 5 et 6. Elle révèle que les volumes de CO₂ et de CH₄ diffèrent statistiquement pour chaque substrat et varient également entre les différentes fractions ($p < 0,001$). En général, le gaz CO₂ est produit en un volume supérieur à celui du CH₄ pour tous les substrats, y compris par leurs différentes fractions.

Le volume le plus élevé est enregistré pour les rebus de dattes, suivis du foin de vesce avoine et enfin des pédicelles. Le même ordre est respecté pour les fractions pariétales. Le dioxyde de carbone provient principalement du système tampon. En effet, ce gaz est produit soit directement de la dégradation des carbohydrates des substrats ingérés, soit indirectement à partir des sels (HCO₃) présents dans la salive artificielle lors de la neutralisation des acides gras volatils (AGV) générés (10, 27, 33, 91). Ce CO₂ représente environ plus de la moitié du volume total du gaz produit dans le cas de l'utilisation du tampon de Menke (27, 91). Par référence à cette dernière observation, les volumes de CO₂ peuvent être corrigés afin de déduire ceux résultant seulement de la dégradation des substrats.

La production de méthane par les différents substrats étudiés, reste relativement inférieure à celle du CO₂. Durant les premières heures d'incubation, on note que les volumes de CH₄ enregistrés sont très faibles par rapport à ceux enregistrés après 24 heures. Ceux-ci atteignent un maximum de 6,11ml/200mg MS, 3,83ml/200mg de MS et 3,1ml/200mg de MS respectivement pour les rebus de dattes, le foin et les pédicelles. Contrairement, les volumes de CO₂ se montrent dominants pendant toutes les heures de fermentation. Ceci semble se confirmer par les résultats obtenus par la fermentation des fractions insolubles et ceux de la fraction soluble déduits par différence. Ces dernières sont dégradées de manière intense pendant les premières heures d'incubation. Elles ne contribuent pas de manière significative à la production de méthane. Cependant, la dégradation des fractions pariétales génère des

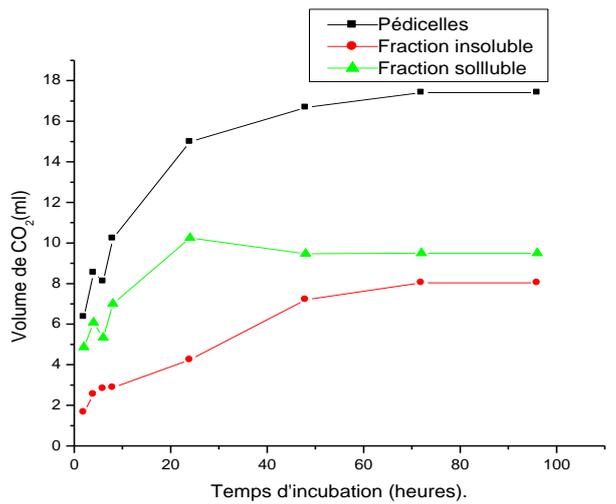
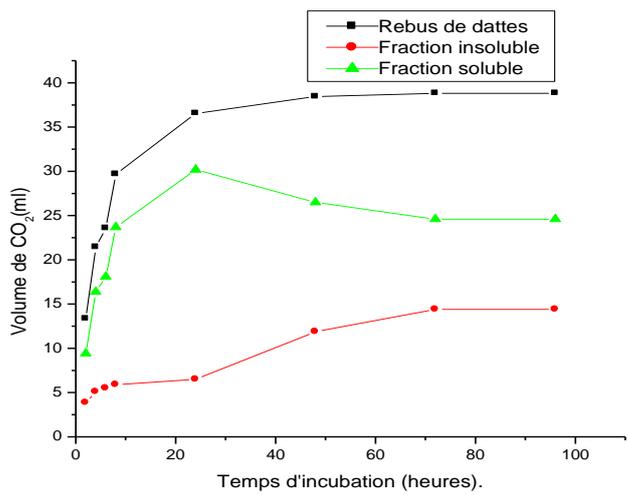
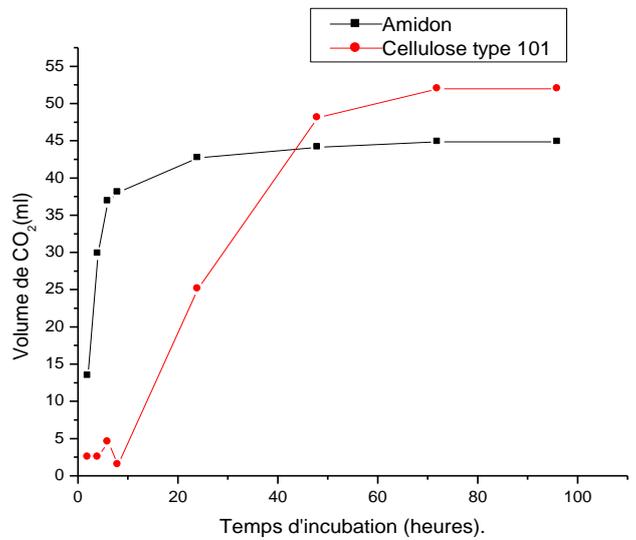
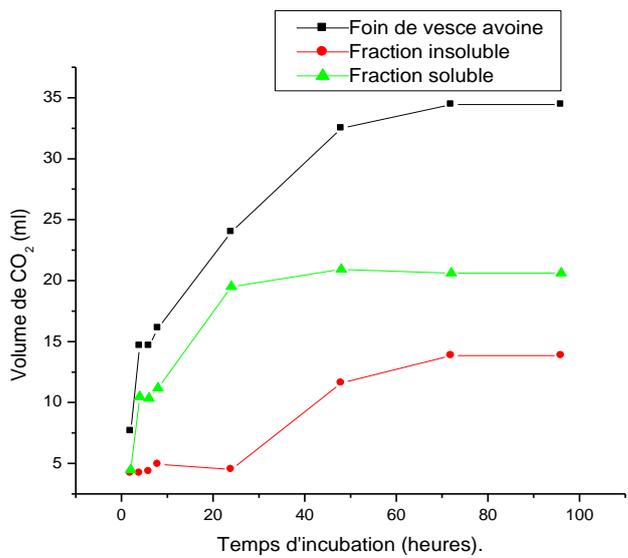


Figure 6. Cinétique de production de gaz carbonique (CO₂).

volumes de CH₄ assez proches de ceux produits par le substrat brut. La faible production du gaz CH₄ notée, par la fraction soluble, est probablement liée à sa nature.

Celle-ci est principalement constituée de sucres solubles dont la dégradation, conduit théoriquement à une fermentation propionique et butyrique productrice de CO₂. En effet, la production de gaz est directement liée à celle des acides gras volatils (25, 109). Jouany, rapporte que la fermentation de substrats riches en fraction soluble s'oriente vers une production d'AGV riches en butyrate et en propionate (48, 73), corrélative à celle du CO₂. Par ailleurs, celle de l'acide acétique est associée à une production importante d'hydrogène dont l'élimination engendre une production accrue de gaz sous forme de méthane. Le fait que les volumes de CO₂ et CH₄ enregistrés pour les pédicelles, soient nettement inférieurs à ceux engendrés par les rebus de dattes est probablement dû à leur composition chimique. Car en dehors des rebus de dattes, les autres substrats, présentent de faibles taux en sucres solubles. De plus, leurs fractions pariétales riches en NDF sont formées en grande partie de lignine et de facteurs antinutritionnels, connus par leur effet antagoniste vis-à-vis de la production de méthane. Ces derniers composés, agissent aussi indirectement en limitant l'accessibilité du microbiote ruminal aux substrats ou directement sur les méthanogènes du rumen, ce qui conduit à une faible production de gaz, en l'occurrence le CH₄ (15).

Pour les substrats purs, la cinétique des gaz fermentaires CO₂ et CH₄, montre que les deux substrats possèdent des profils fermentaires différents. En effet, la fermentation de l'amidon de blé s'oriente vers une production de CO₂, tandis que celle de la cellulose type 101 s'oriente vers une production de CH₄. Ce résultat recoupe parfaitement celui de la littérature (86), qui stipule que la dégradation d'aliments riches en amidon tend à produire plus de propionate, tandis que celle de substrats fibreux aboutit à la formation plus importante d'acétate. Cette situation indique aussi que les populations microbiennes impliquées dans la métabolisation de chacun des deux substrats sont différentes.

4. Digestibilité de la matière sèche

La digestibilité de la matière sèche DMS varie significativement entre les différents substrats ($p < 0,001$). Le plus grand coefficient de digestibilité est enregistré pour le foin de Vesce avoine avec une moyenne de 72,91%, suivi des rebus de dattes avec une valeur de 58,95%. Un pourcentage moindre caractérise les pédicelles avec 40,77% (Tableau 11). Pour le foin de vesce avoine, nos résultats sont supérieurs à ceux enregistrés par certains auteurs qui signalent des valeurs qui restent du même ordre. Rira (117) enregistre une valeur de 50,90% de même

Tableau 11. Coefficient de digestibilité apparente (CD% de MS).

	Substrats bruts			Fractions pariétales			Substrats purs	
	Rebus de dattes	Pédicelles	Foin de vesce avoine	Rebus de dattes	Pédicelles	Foin de vesce avoine	Amidon	Cellulose type 101
Valeurs du CD%	b 58,95±3,4	c 40,77±2,5	a 72,91±4,46	d 28,76±6,04	e 16,14±3,57	b 45,8±1,39	a 85,35±0,7	a 82,93±1,3

Les moyennes dans la même ligne affectées de lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,001$).

que Arhab (12) qui note un coefficient de 58,38%. Une autre étude menée par Arhab (11) sur le microbrite ruminal de dromadaire enregistre une valeur de 65,06%.

Ces valeurs, relativement supérieures enregistrées pour le foin de vesce avoine, pourraient être attribuées en partie à son contenu en matières azotées (15 à 23% de protéines), du à son origine hybride. Elles peuvent aussi être expliquées par la faible teneur en composés antinutritionnels, comme il a été montré par ces mêmes auteurs (117 et 12), qui signalent que le foin de vesce avoine renferme des teneurs réduites en composés phénoliques. L'utilisation digestive des rebus de dattes par le microbiote ruminal ovin est inférieure à celle enregistrée par Arhab (11), pour la digestibilité des sous produits de dattes étudiés *in vitro* chez le dromadaire, l'auteur mentionne un coefficient de digestibilité de 78,20%, qui est probablement dû au fait que la microbiote ruminal de dromadaire possède une aptitude fermentaire plus performante par rapport aux autres ruminants (39, 90, 91). Cette différence est peut être due aussi à la variété des dattes étudiées. Le fait que les rebus de dattes soient moins digestibles que le foin de vesce avoine pourrait aussi s'expliquer par leur faible contenu en matières azotées (11). La littérature scientifique rapporte que la digestibilité *in vitro* est corrélée positivement avec la teneur en azote, principalement celle du jus de rumen. Ainsi, le faible taux de dégradation de la matière sèche des rebus de dattes s'expliquerait par le fait que les jus de rumen prélevés sont pauvres en azote, ce qui limite le développement d'une population active capable de fermenter le substrat en question (28). Concernant les pédicelles, nous obtenons de meilleurs taux de digestibilité que ceux mesurés par d'autres auteurs (12). Cependant, elles restent moins digestibles que le foin de vesce avoine et les rebus de dattes, probablement en raison de leur contenu élevé en parois totales NDF (Tableau 7) et en composés phénoliques (12). En effet, la qualité et la quantité des fibres pariétales jouent un rôle primordial dans la digestibilité de la matière sèche (MS). Ainsi, la lignification de la paroi végétale apparaît comme étant une des principales contraintes à influencer la digestibilité et son impact est du même ordre que celui des tanins (1, 2, 13, 104, 126).

Pour les trois substrats, la fraction pariétale donne des coefficients de digestibilité apparente significativement inférieurs à ceux enregistrés avec les substrats bruts (Tableau 11). La plus forte diminution est observée avec les rebus de dattes de 58,95% à 28,76%, suivie du foin de vesce avoine qui diminue de 72,91% à 45,8% et, en fin, des pédicelles qui chutent de 40,77% à 16,14%. Cette diminution notée pour ce paramètre, comparativement aux substrats bruts, est probablement reliée à leurs contenus en composés solubles qui participent de manière significative à leur digestibilité, perdus après traitement par une solution détergente neutre.

Ceci concorde parfaitement avec notre étude de la composition chimique qui révèle que les rebus de dattes contiennent plus de matières solubles que le foin et les pédicelles. En effet, la fraction pariétale des différents substrats représentée principalement par la cellulose, l'hémicellulose et la lignine, diffère par son degré de digestibilité. Elle est partiellement dégradée selon sa composition en lignine, liée à la cellulose et l'hémicellulose, les rendant ainsi non ou peu dégradables. De plus, le traitement par la solution NDS entraîne une perte des pectines et de considérables taux de matière minérale, ces pertes se répercutent négativement sur la digestion des différents substrats (70, 111).

Quant aux substrats purs, l'amidon de blé et la cellulose type 101, ils semblent être très digestibles par le microbiote ruminal d'ovins. Ils présentent des valeurs du CD%, statistiquement comparables, soient : 85,35 et 82,93% respectivement pour l'amidon de blé et la cellulose type 101. Ce résultat confirme celui de la production de gaz, qui montre clairement les aptitudes fermentaires du microbiote ruminal, vis à vis des constituants des aliments destinés à l'alimentation du bétail.

Discussion et conclusion générale

Notre travail avait pour but, d'évaluer la contribution à la méthanogénèse ruminale d'ovins des deux fractions composantes, soluble et insoluble, de sous produits de l'agronomie saharienne, utilisés dans leur alimentation. Dans ce cadre, nous avons entrepris l'étude de la fermentescibilité de deux sous produits agroalimentaires, les pédicelles et les rebus de dattes qui représentent les fractions du palmier dattier, arbre caractéristique des régions arides en Algérie et dont la culture génère de considérables quantités de pédicelles. Une telle biomasse fournit une source potentielle considérable à l'alimentation animale. Cette étude est menée comparativement au foin de vesce avoine, substrat largement utilisé dans l'alimentation du bétail. La fermentescibilité des différentes fractions pariétales, obtenues après traitement par une solution détergente neutre (NDS), et celle deux substrats purs : l'amidon de blé et la cellulose type 101 ont été également étudiées dans les mêmes conditions.

Pour cela, la technique adaptée est celle de la production de gaz *in vitro* de Menke et al (89), elle est spécifiquement utilisée pour l'étude de la fermentation des nutriments ainsi que la détermination qualitative et quantitative des gaz fermentaires. Cette technique permet de donner une estimation de la contribution spécifique de chacune des fractions, soluble et insoluble, à la méthanogénèse ruminale.

L'analyse quantitative des gaz produits, suite à la fermentation des substrats bruts, révèle que les pédicelles sont de mauvaise valeur alimentaire, puisqu'elles sont les moins dégradables par le microbiote ruminal. Cela pourrait être attribué à leur composition chimique. En effet, les pédicelles sont très riches en parois totales, notamment en fractions lignocellulosiques non dégradables par les microorganismes du rumen. Par ailleurs, elles semblent particulièrement riches en composés phénoliques, connus pour leur effet antagoniste vis-à-vis des nutriments et du métabolisme microbien. Les rebus de dattes s'avèrent les mieux métabolisables, ceci est probablement du fait de leur potentiel énergétique élevé et de leur contenu en parois peu lignifiées, compensant de ce fait leur déficit azoté. Une valeur de fermentescibilité intermédiaire et comparable à celle des rebus de dattes caractérise le foin de vesce avoine, ce qui résulte vraisemblablement de sa faible teneur en composés phénoliques et tannoïdes (12, 116) et également à l'équilibre protéines- énergie qu'il offre en raison de sa nature hybride. Pour les substrats purs, la fermentescibilité de l'amidon de blé est meilleure que celle de la cellulose type 101 durant les premières heures de fermentation, une tendance inverse caractérise la cellulose type 101 et ceci après 24 heures d'incubation atteignant un maximum de production de gaz à 72 heures de fermentation. Ce résultat recoupe celui de la littérature

(146) et indique l'aptitude de la microflore ruminale à dégrader la cellulose cristalline type 101. La dégradation des celluloses pures est probablement différente de celles présentes dans les plantes qui sont plus ou moins amorphes et complexées à d'autres molécules moins accessibles au microbiote ruminal.

La production de gaz issue de la fermentation de la fraction pariétale des trois substrats étudiés diminue significativement par rapport aux substrats bruts. Cet effet se manifeste le plus sur le volume de CO₂. Ces résultats sont tout à fait compréhensibles et pourraient s'expliquer par l'absence de composés solubles, dont la dégradation conduit à une fermentation propionique liée à la production de CO₂, ce qui explique la stabilité des volumes de CH₄ et la chute de ceux du CO₂, par rapport aux substrats bruts. Cette situation a été également confirmée par les résultats de l'estimation de la contribution de la fraction soluble, déterminée par soustraction du volume de gaz produit par la fraction pariétale de celui du substrat brut.

Pour les substrats purs, l'analyse qualitative du pool gazeux, montre que les deux substrats possèdent des profils fermentaires différents. En effet, la fermentation de l'amidon de blé s'oriente vers une production de CO₂, tandis que celle de la cellulose type 101 s'oriente vers une production importante de CH₄.

Pour le pH, malgré la richesse des résidus de dattes en sucres solubles rapidement fermentescibles et l'utilisation de l'amidon de blé pur, leur dégradation n'aboutit pas à une chute de pH au dessous du seuil critique, comme il est indiqué dans la littérature. Ceci prouve à la fois la qualité du pouvoir tampon de la microflore d'ovin vis-à-vis des fermentations acides et l'efficacité du tampon de Menke utilisé.

Les valeurs de la digestibilité de la matière sèche concordent partiellement avec ceux de la production de gaz *in vitro*. Le foin de vesce avoine donne les meilleurs coefficients de digestibilité, alors que les rebus de dattes donnent des valeurs moyennes mais qui restent comparables au foin de vesce avoine. Cependant, les pédicelles présentent les faibles valeurs de la disparition de la matière sèche. L'ampleur de cette différence pourrait s'expliquer par la composition chimique différente constatée entre les trois substrats. Cette dernière inclut principalement les protéines, les constituants pariétaux et les composés phénoliques. En effet,

Les rebus de dattes présentent de faibles teneurs en matières azotées totales, induisant ainsi une digestibilité moyenne comparativement au foin de vesce avoine. Les pédicelles sont très riches en composés pariétaux dont l'effet négatif sur la digestibilité se conjugue à celui des composés antinutritionnels tel les tanins.

Le résultat le plus intéressant reste celui de la contribution spécifique de chacune des fractions, soluble et insoluble, au pool des produits fermentaires, principalement à la production de méthane. Il s'avère que le type de carbohydrates fermentés influence la production de CH₄. En effet la dégradation des fibres des parois cellulaires semble être plus impliquée dans la méthanogénèse ruminale. Cependant, il reste à préciser que cette dernière doit tenir compte de plusieurs facteurs tels que le degré de lignification des parois et leurs taux en facteurs antinutritionnels. Sur cette base, il apparaît que la nature du substrat est un facteur déterminant dans la production de méthane digestif.

Les résultats obtenus ont permis de conclure que les sous produits du palmier dattier et le foin de vesce avoine utilisés dans cette étude, ne contribuent pas de manière significative à la concentration atmosphérique en méthane et donc à l'effet de serre. La faible production de méthane ainsi observée pour les substrats étudiés nous conduit à nous questionner sur le devenir de l'H₂ généré lors de la fermentation. C'est pourquoi il semble intéressant de compléter cette étude par la détermination du bilan d'H₂, de même qu'une analyse qualitative et quantitative des acides gras volatils serait un précieux complément de notre étude.

Notre travail, a permis de confirmer que la méthode de séparation de la fraction pariétale, par une solution détergente neutre, combinée à la technique de production de gaz *in vitro* peut être une solution simple et rapide pour une première évaluation de la méthanogénèse ruminale. Elle pourrait permettre aussi de sélectionner les substrats aux taux de substances solubles les plus élevés, pour envisager leur incorporation dans les rations du bétail. Ainsi la métabolisation rapide des résidus de dattes constatée, par le microbiote ruminal, révèle la possibilité de leur incorporation dans l'alimentation du bétail. Il faut aussi signaler que nos résultats permettent également de confirmer la validité de la méthode de soustraction du volume de gaz pour l'étude de la cinétique de fermentation de la fraction soluble, et de distinguer ses apports spécifiques au pool des produits fermentaires, afin de comprendre la signification nutritionnelle de cette fraction importante dans les substrats.

Compte tenu des problèmes d'environnement liés aux émissions de méthane digestif, ainsi que les pertes en énergie pour les animaux, ces résultats indiquent l'importance de telles études afin de comprendre le mécanisme de la production de méthane digestif par les ruminants. Il semble donc nécessaire d'orienter les futures recherches vers une meilleure connaissance de la méthanogénèse, en développant une double approche quantitative (CH_4) et cognitive (aspect microbiologique), avec pour finalité l'application de technologies de manipulation de la ration alimentaire et de développement de pratiques qui influencent la fermentation ruminale, afin de réduire les émissions de CH_4 , ce qui aboutirait à un double gain : réduire les émanations de gaz à effet de serre et mieux potentialiser la ration alimentaire en diminuant la perte sèche d'énergie pour l'animal que constitue fondamentalement sa production de méthane.

Références bibliographiques

- 1. Abdulrazak S.A., Fujihara T., Ondiek J.K. AND Orskov E.R. 2000.** Nutritive evaluation of some acacia leaves from kenya. Anim. Feed. Sci. and Tech, 85: 89-98.
- 2. Ahmed. M.M.M and El-Hag. F.M. 2004.** Degradation characteristics of some Sudanese forages and tree pods in sacco and gas production techniques. Sml. Rum. Res, 54: 147 -159.
- 2. Ammar h., Lopez S. and Gonzalez J.S. 2005.** Assessment of the digestibility of some Mediterranean shrubs by in vitro techniques. Animal Feed Science and Technology, 119: 323-331.
- 3. Ammar H., Lopez S., Gonzalez J.S., Ranilla M.J. 2004.** Seasonal variation in the chemical composition and in vitro digestibility of some Spanish leguminous shrubs species. Anim. Feed. Sci and Tech, 115: 327-340.
- 4. Andersson B., Mader T. and Grant R. 1995.** Sampling feeds for analyses. Nebguide G 77 331-A.
- 5. André M. 1999.** Emission and Reproduction of greenhouse Gases from Agricultural food Manufacturing., Department of Energy. p4.
- 6. André M. 1999.** Emission and Reproduction of greenhouse Gases from Agricultural food Manufacturing., Department of Energy. p33.
- 7. André M. 1999.** Emission and Reproduction of greenhouse Gases from Agricultural food Manufacturing., Department of Energy. p14.
- 8. AOAC. 1991.** Official method of analysis (15th Ed), Association of official Analytical Chemist, Washington, DC.
- 9. Apori S.O., Castro F.B., Shand W.J., Orskov E.R. 1998.** Chemical composition, in situ degradation and in vitro gas production of some ghanian brose plants. Anim. Feed. Sci. and Tech, 76: 129-137.

10. Archimed H., Poncet C., Boval M., Nipeau F., Philibert L., Xande A. and Aumont G. 1999. Comparison of fresh and dried *Digitaria decumbens* grass intake and digestion by black belly rams. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 133 : 235-240.

11. Arhab R. 2000. Etude de la digestibilité in vitro de sous produits agro-industriels et de cellulose purifiée par la microflore ruminale de camélidés. Utilisation des gaz fermentaires comme marqueurs de fermentation. Thèse de magistère.

12. Arhab R. 2007. Etude de la fermentescibilité in vitro et de la digestibilité in vivo de végétaux des zones arides et de sous produits de l'agronomie saharienne par l'estimation de l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de doctorat.

13. Arhab R., Bousseboua H. and Daureau M. 2005. Degradation characteristics of some arid forages using in sacco technique. 11th Seminar of FAO-CIHIAM Sub-Network on sheep and goat nutrition, Catania (Italy), September, 8-10.

14. Arhab R., Rira M., Aggoun M., Bousseboua H. and Daureau M. 2005. Contribution of both soluble and insoluble fraction of desert by products to their in vitro fermentation. 11th Seminar of the FAO-CIHIAM Sub-Network on sheep and goat nutrition, Catania (Italy), September, 8-10.

15. Arhab R., Rira M., Aggoun M., Bousseboua H. and Daureau M. 2005. Prediction of nutritive value of arid palm leaves using in vitro and in situ measurements. 16^{èmes} journées de biologie, Hammamet, Tunisie, du 20-23 Mars.

16. Aregheore E.M. 2000. Chemical composition and nutritive value of some tropical by-product feedstuffs for small ruminants in vivo and in vitro digestibility. *Anim. Feed. Sci. Tech*, 76: 129-137.

17. Bahman. A.M., Tops J.H. and Rooke. J.A. 1997. The use of date palm leaves in high concentrate diets for lactating Friesian and Holstein cows. *J. of Arid Envir*, 35: 141-146.

18. Bauchop T., Mountfort D.O. 1981. Cellulose fermentation by rumen anaerobic fungus in both the absence and the presence of rumen methanogens. *Appl. Environ. Microbiol*, 42: 1103-1110.

- 19. Belyea R.L. and Ricketts R.E. 1993.** Forages for cattle: new methods of determining energy content and evaluating heat damage. Agricultural publication G3150.
- 20. Belyea R.L., Stevens B., Garner G., Whittier J.C. and Sewell H. 1993.** Using NDF and ADF to balance diets. Agricultural publication. G3 161.
- 21. Ben Salem H., Nefzaouui A., Ben salem I. 2000.** Sheep and goat preferences for Mediterranean fodder shrubs. In : Sheep and Goat Nutrition : Intake, Digestion, Quality of products and rangelands. Ledin, I., Morand-Fehr, P. (Eds), Cahier Option Méditerranéennes, 52: 115-159.
- 22. Bergey D.H. 1994.** The methanogens. In bergey's Manual of Determination Bacteriology. Edited by Holt G.J, 9eme Ed. p. 719-725.
- 23. Bernard J.K. 2001.** In vitro mixed ruminal microorganism fermentation of whole cotton seed, coated with Gelatinized corn starch and urea.
- 24. Bernard J.K., Colhoum M.C., Martin S.A.1999.** Effect of coating whole cotton seed on performance of lactating dairy cows. J. Dairy. Sci, 82: 1296-1304.
- 25. Blumel M., Beker K. 1997.** The degradability characteristics of fiftyfour roughages and roughages neutral detergent fibers as described by in vitro gas production and their relationship to voluntary feed intake.
- 26. Blaxter K.L., Clapperton J.L. 1965.** Prediction of the amount of methane produced by ruminants. Brt. J. Nutr.
- 27. Blumel M., Makkar H.P.S. and Beker K. 1997.** In vitro gas production: a technique revisited. In: J. Anim. Physiol. And Anim. Nutr, 77: 24-34.
- 28. Boutalbi-Adjroudi O. 1984.** Contribution à l'étude de la valeur alimentaire des fourrages algériens : Relation entre digestibilité in vivo, digestibilité in vitro et la composition chimique. Thèse de magistère. Institut National Agronomique.
- 29. Burton C.H., Turner C. 2003.** Manure management treatment strategies for sustainable agriculture.

- 30. Carulla J.E., Kreuzer m., Machmuller a., Hess H.D.2005.** Suplementation of acassia mearnsii tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forages- fed sheep. Aust. J. Agri. Res, 56: 961-970.
- 31. Chenost, Kayouli. 1997.** Utilisation des fourrages grossiers en regions chaudes. In : Etude FAO Production et santé Animales. Ed FAO (Rome) : 135.
- 32. Cheny K., Pell A.N., Chase LE., Schofield P. 1999.** Rate and extent of ethanol soluble and neutral detergent-insoluble fractions of corn grain. J.Anim. Sci, 77: 3077-3083.
- 33. Cone J.W. and Van Gelder A.H.1999.** Influence of protein fermentation on gas production profiles. Anim. Feed Sci. and Tec, 76: 251-264.
- 34. Crutzen P.J., Asehman I., Seiller W.1986.** Methane production by domestic animals, wild ruminants and other herbivores and human, 38: 271-281.
- 35. Demeyer D., Fievez V. 2000.** Ruminants et environnement : La méthanogènèse. Ann. Zootech, 49: 95-112.
- 36. Demeyer D.L., Fiedler D., De Graeve K.G. 1996.** Attempted induction of reductive acetogenesis into the rumen fermentation in vitro. Reprod. Nutr. Dev, 36: 233-240.
- 37. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem, 28: 350-356.**
- 38. El Hassan S.M., Lahlou Kassi A., Newbold C.J., Wallace R.J. 2000.** Chemical composition and degradation characteristics of foliage of some African multipurpose trees. Anim. Feed. Sci and Tech, 86: 27-37.
- 39. Elshami M.E., Mulen U.T. 1996.** Acomparision of three in vitro methods for the prediction of organic matter digestibility of forage in the sudan.Proc. Soc. Nutr. Physiol, 5: 120.

40. Erfle J.D., Sauer F.D., Mahadevan S. 1986. Energy metabolism in rumen microbes. In control of digestion and metabolism in ruminants. Milligan L.P. Eds Prentice-hall., Engelwood cliffs, USA. p 81-99.

41. Estimation present sinks and sources of methane. **1993.** Strategy paper for Reducing Methane emission. Communication from commission to the council and to the European parliament. www.vegetarisme.fr

42. Fakhri S., Moss A.R., Givens D.I., Owen E. 1997. Comparison of four in vitro gas production methods to study rumen fermentation kinetics of starch rich feeds. Proceed. Brit. Societ. Anim Scien pp196.

43. Fermentescibilité des résidus fibreux en seringues. www.inra.fr.

44. Fievez V., Babayemi O.J., Demeyer D. 2005. Estimation of direct and indirect gas production that requires minimal laboratory facilities. Anim. Feed. Sci. Tech.

45. Finlay B.J., Esteban G., Clarck K.J., Williams A.G., Embley T.M. 1994. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens. FEMS. Microbi. Lett, 117: 157-162.

46. Florence V. N., Ndlovu L.R. and Dzewela B.H. 1999. Relationship between in vitro gas production characteristics, chemical composition and in vitro quality measures in goats fed tree folder supplements. Sml. Rum. Rese, 31: 117-126.

47. Fonty G., Joblin K.N. 1991. Rumen anaerobic fungi: their role and interactions with other microorganisms in relation to fiber digestion. In: Physiological aspect of digestion and metabolism in ruminants. Proceeding of the Seventh International Symposium on Ruminants Physiology. Academic Press, San Diego, California. p 655-680.

48. Fonty G., Jouany J.P., Forano E., Gouet Ph. 1994. L'écosystème microbien du réticulo-rumen. In : Nutrition des ruminants domestiques. Ed: Jouany J.P. INRA (Paris): 330-341.

49. Fonty G., Williams A.G., Bonnemery F., Morvan B., Withers S.E., Gouet P. 1997. Effect of Methanobrevibacter sp MF1 inoculation on glucose hydrolase and polysaccharide

depolymerase activities in wheat straw degradation and volatile fatty acid concentrations in the rumen of gnotobiotically-reared lambs anaerobically, 3: 383-389.

50. Guetachew G., Robinson P.H., De Peters E.J., Taylor S.J., Gisi D.D., Higginbotham G.E., Riordan T.J. 2005. Methane production from commercial dairy rations estimated using an in vitro gas technique. *J. Dair. Sci.*

51. Guetachew G., Makkar H.P.S., Becker K. 2000. Tannins in tropical browses: Effects on in vitro microbial fermentation and microbial protein synthesis in media containing different amounts of nitrogen. *J. Agri. And Food. Chem*, 148: 3581-3588.

52. Guetitcha H. 2001. Etude de la fermentescibilité in vitro de sous-produits agro-industriels par la microflore ruminale de caprins. Thèse de magistère. ISN. Université de Constantine.

53. Gihad E.A., El Gallad T.T., Sooud A.E., Abou El -Nasr H.M., Farid M.F.A. 1989. Feed and water intake, digestibility and nitrogen utilisation by camels compared to sheep and goat fed low protein desert by-products. *Série séminaires. Options méditerranéennes*, 2: 75-80.

54. Givens D.L., Deaville E.R. 2001. Comparison of major carbohydrates fractions and cell wall degradability in silages made from older and newer maize genotypes grown in the UK. *J. Anim. feed. Scien. Tech*, 89: 69-82.

55. Grant R. 1996. Evaluation the feeding value of fibrous feeds for dairy cattle. *Nebguide* G91-1034.

56. Hadjigeorgiou I.E., Makkar h.p.s. and Beker K. 2003. Comparative preferred by sheep and goats for Graminaeae forages vary in chemical composition. *Sml. Rum. Reas*, 49: 147-156.

57. Hagerman A.E. 1987. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *J. Chem. Ecol*, 13: 437- 449.

58. Hervas G., Frutos P., Galdez F.J., Mantecon A.R. and Alvarez Del Pino M.C. 2003. Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. *Anim. Feed Scie and Tech*, 109: 65-78.

- 59. Holter J.B., Young A.J. 1992.** Methane production in dry and lactating dairy cows. J. Dai. Sci, 75: 2165-2175.
- 60. Hoover W.H. 1986.** Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. J. Dai. Sci, 69: 2755-2766.
- 61. Hungate R.E. 1966.** The rumen and its microbes. Academic press, Inc., New York.
- 62. Huntington J.A., Givens D.I. 1997.** The effect of inoculum concentration and method of incubation on the gas production profile high temperature dried grass. Proceed. Briti. Societ. Anim. Scie, pp: 192.
- 63. Ianotti E.L., Kalkewitz D., Wolin M.J., Bryant M.P. 1973.** Glucose fermentation products of *Ruminococcus albus* in continous culture with *vibrio succinogenes*: Changes caused by interspecies transfer of H₂. J. Bacteriol, 114: 1231-1240.
- 64.** Intergovernmental Panel on Climate change IPCC, 1995. www.vagetarisme.fr
- 65.** Intracellular Procaryotes in rumen ciliates protozoa- detection by confocal laser- Scaning microscopy after in situ hybridization with fluorescent 16s ribosomal RNA probes. Eur. J. Proti, 32: 523-531. www.inra.fr
- 66. Johnson, K.A., Johnson, D.E., 1995.** Methane emissions from cattle. J. Anim. Sci, 73: 2483–2492.
- 67. Jouany J.P., 1994.** Les fermentations dans le rumen et leur optimisation. INRA. Prod. Anim, 7: 207-225.
- 68. Jouany J.P., Brouduscon L., Prins R.A., Bony S. 1995.** Métabolisme et nutrition de la population microbienne du rumen. In : Nutrition des rumminants domestiques. INRA Eds, versaille., Fr., p 349-382.
- 69. Kamalak A. 2005.** Chemical composition and in vitro dry matter digestibility of leaves of *vitis vinifera*. Liv. Resea. for Rur. Dev, 16 (6).

70. Keir B., Van Bien D., Preston T.R. and Orskov E.R. 1997. Nutritive value of leaves from tropical trees and shrubs: In vitro gas production and in sacco rumen degradability. Liv. Res. For Rur. Dev, 9: 4.

71. Khazal K., Deinho M.T., Ribero J.M., Orskov E.R. 1995. Prediction of apparent digestibility and voluntary intake of hays feed to sheep : comparison between using fiber components , in vitro digestibility or characteristics of gas production or nylon bag degradation. Anim. Sci, 61: 527-538.

72. Kohn R.A., Dunlap T.F. 1998. Calculation of the buffering capacity of bicarbonate in the rumen and in vitro. J. Anim. Sci, 76: 1702-1709.

73. Kolb E. 1975. Physiologie de la nutrition. In : Physiologie des animaux domestiques. Ed : Vigot frères : 251-284.

74. Krumholz L.R., Forsberg C.W., Veira D.M. 1983. Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa. Can. J. Microb, 29: 676-680.

75. Larbi A., Smith J.W., Kurdi I.O., Raji A.M., Ladipo D.O. 1998. Chemical composition, rumen degradation, and gas production characteristics of some multipurpose fodder trees and shrubs during wet and dry seasons in the humid tropics. Anim. Feed Sci. and Tech, 72: 81-96.

76. Le Houerou H.N. 1980. Browse in Africa. In : Proceeding of International Symposium International Livestock Center for Africa (ILCA). Addis Ababa, 491 (Ethiopia).

77. Leedle J.A.Z., Greening R.C. 1988. Postprandial changes in methanogenic and acidogenic bacteria in the rumen of steers fed high- or low forage diets once daily. Appl. Envi. Microbi, 54: 502-506.

78. Levan T.D., Robinson J.A., Ralph J., Greening R.C., Snalenski W.J., Leedle J.A.Z., Schaefer D.M. 1998. Assessment of reductive acetogenesis with indigenous ruminal bacterium populations and Acetivoculum ruminis. Appl. Envir. Microb, 64: 3429-3436.

- 79. Lloyd D., Ralphs J., Durant L., Williams A.G., Ralph J.R., Amann R. 1994.** Studies of the bacterial endosymbionts of anaerobic protozoa using fluorescently labelled rRNA targeted oligonucleotide probes. *Biochem. Soc. Trans*, 22: 5323.
- 80. Ly J. 1997.** In vitro gas production and washing losses of tropical crop residues for ruminants and pigs. *Liv Res. For Rur. Dev*, 9: 4.
- 81. Madrid J., Megias M.D., Hernandez F. 2002.** In vitro determination of dry matter and cell wall degradation, and production of fermentation end products of various by-products. *Ani. Feed. Sci. Tech*, 51: 189-199.
- 82. Makkar H.P.S. 1997.** Recommendation for quality control of in sacco nylon bag technique. Animal Production and health Section. IAEA. Vienna.
- 83. Mbaye N.D. and Sall C.H. 1997.** Prediction of nutritive value of some crop residues and agr-industrial by-products from their chemical composition. Laboratoire National de L'élevage et de Recherches Veterinaires. I.S.R.A, Dakar-Hann, Senegal.
- 84. Mc Allister T.A. 1997.** Dietary and environmental aspect of methane production in ruminants. *Agri. Food. And Rur. Deve. Canada*.
- 85. Mc Allister T.A., Bae H.D., Jones G.A., Cheng K.J. 1994.** Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Anim. Sci*, 72: 3004-3018.
- 86. Mc Allister T.A. Okine E.K., Mathison G.W., Cheng K.J. 1996.** Dietary environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Can. J. Anim. Sci*, 76: 231-243.
- 87. Mc Donald P., Greenhalgh J.F.D., Edwards R.A., Morgan C.A. 1995.** *Animal Nutrition*, 5th Eds., Longmanns, London.
- 88. Mc Sweeney C.S., Palmer B., Mc Neill D.M. and Krause D.O. 2001.** Microbial interaction with tannins: Nutritional consequences for ruminants. *Anim. Feed. Sci. Tech*, 91: 83-93.

89. Medjkal S. 2004. Etude de la fermentescibilité de sous produits de l'agronomie saharienne par la microflore ruminale de caprins. Utilisation de la technique du washing loss pour la détermination de la dégradation spécifique des fractions pariétales des substrats. Thèse de magistère.

90. Menke K.H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Friz D., Schneider W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. J. Agri. Sci. Casab, 92: 217-222.

91. Menke K.H., Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid, Anim. Res. Dev, 28: 7-55.

92. Methane main properties. 1996. Strategy paper for Reducing Methane emission. Communication from commission to the council and to the European parliament. www.vegetarisme.fr

93. Michalet Doreau B., Nozière P. 1999. Intérêts et limites de l'utilisation de la technique des sachets pour l'étude de la digestion ruminale. INRA. Prod. Anim, 12: 195-206.

94. Miller T.L., Wolin M.J. 1973. Formation of hydrogen and formate by Ruminococcus albus. L. Bacteriol, 116: 836-846.

95. Miller T.L., Wolin M.J., Hongxue Z., Bryant M.P. 1986. Characteristics of Methanogens isolated from bovine rumen. Appl. Envir. Microb, 51: 201-202.

96. Miller T.L. 1995. Ecology of methane production and hydrogen sinks in the rumen. In : Ruminants physiology : Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. Fand Enke Verlag, Stuttgart. p 317-331.

97. Morvan B., Bonnemy F., Fonty G., Gouet P. 1996. Quantitative determination of H₂-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea from the digestive tract of different mammals. Curr. Microb, 32: 129-133.

- 98. Morvan B., Doré. J., Rieu-Lesme F., Foucat L. , Fonty G., Gouet P. 1994.** Establishment of hydrogen-utilizing bacteria in the rumen of the new born lamb. FEMS. Microbiol. Lett, 117: 249-256.
- 99. Moss A.R. 1993.** Methane–Global warming and production by animals, Chalcombe Publication, Canterbury, UK. p105.
- 100. Moss A.R. 1994.** Methane production by ruminants-Literature review of IDietary manipulation to reduce methane production and II Laboratory procedures for estimating methane potential of diet. Nutr. Abstr. Rev. Ser. B64. 786-806.
- 101. Moss A.R. 1995.** Contribution du méthane à l’effet de serre. Pew Center on Global Climate Change, Virginia, USA.
- 102. Moss A.R., Jouany J.P., Newbold J. 2000.** Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. Ann. Zootech, 49: 231-253.
- 103. Nagaraja T.G., Tone G., Reharka A.A. 1992.** Moderation of ruminal fermentation by ciliateprotozoa in cattle fed a high grain diet. App. Envir. Mic, 58: 2410-2414.
- 104. Ndlovu L.R. and Nherera F.V. 1997.** Chemical composition and relationsheep to in vitro gas production of Zimbabwean browsable indigenous tree species. Anim. Feed Sci and Tech, 69: 121-129.
- 105. Nefzaoui A. 1999.** Alternative feed ressources of the WANA. In: Development of integrated crop/livestock production systems in the corn rainfall areas of the west Asia and north Africa.
- 106. Newbold C.J., Lassalas B., Jouany J.P. 1995.** The importance of methanogenesis associated with ciliates protozoa in ruminal methane production in vitro. Lett. Appl. Microb, 21: 230-234.
- 107. Nguyen Bamui., Cu Xuan Dan., Vu Duy Giang. 2001.** The effect of kinds of pineapple residue silage on its chemical composition , in sacco degradability and influence of its partial replacement of green grass in the goat diet on some characteristics of rumen

fermentation. Proceeding-Workshop on improved utilization of by-products for animal feeding in Vietnam-NUFU project.

108. Orskov E.R. and Mc Donald P. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *J. of Agri. Sci, Cambridge*, 92: 499-503.

109. Orskov E.R., Ryle M. 1990. Manipulation of rumen microorganisms. In: Energy nutrition in ruminants. Ed: Elsevier Science.

110. Palmisano A.C., Barlaz M.A. 1996. Microbiology of solid waste CRC Press. p 224

111. Pedraza Olivera R.M. 1998. Use of in vitro gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fractions on the nutritive value of forages. Université de Camaguey. Cuba.

112. Polan C.E., Miller C.N., Mc Gillard M.C. 1976. Variable dietary protein and urea for intake and production in Holstein cows. *J. Dairy. Sci*, 59: 1910-1914.

113. Rachedi K. 2004. Etude de la fermentescibilité in vitro de plantes Présahariennes par la microflores ruminale d'ovins. Evaluation de la contribution spécifique des différentes fractions pariétales au pool des produits fermentaires. Thèse de magistère.

114. Ramos H.A., Clement T.C., Gianpola D.D., Dicson P.C. 2003. Methane emission of beef cattle on forages: efficiency of grazing management systems. *J. Envir*, 32: 269-277.

115. Raskin L., Stromley J.M., Rittman B.E., Stahl D.A. 1994. Group specific 16S_r RNA hybridization probes to describe natural communities of methanogens. *Appl. Envir. Microb*, 60: 1232-1240.

116. Rekik M., Lassoued N., Ben Salem H., Mahouachi. 2008. Effect of incorporating wastes dates in the diet on reproductive traits and digestion of prolific D'Man ewes. *Anim. Feed. Sci. Tech*, 147: 193-205.

- 117. Rira M. 2005.** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de magistère.
- 118. Rubanza C.D.K., Shem M.N., Otsyina R., Bakengesa S.S., Ichinoche T. and Fujihara T. 2005.** Polyphenolics and tannins effect on in vitro digestibility of selected Acacia species leaves. Anim. Feed. Sci and Tech, 119: 129-142.
- 119. Russell J.B., Rychlik J.L. 2001.** Factors that alter rumen microbial ecology. Science, 292: 1119-1122.
- 120. SAUVANT D. 2002.** Physiologie comparée de la digestion et de la nutrition. (Institut National Agronomique PARIS-GRIGNON).
- 121. Sauvant D., Meschy F. et Mertens D. 1999.** Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. INRA. Prod. Ani, 12 : 49-60.
- 122. Sauvant D. 1988.** La composition et l'analyse des aliments. In : alimentation des bovins, ovins et caprins. Ed : INRA (Paris) : 305-314.
- 123. Sauvant D. 1997.** Conséquences digestives et zootechniques des variations de la vitesse de digestion de l'amidon chez les ruminants. INRA. Produ. Anim, 10: 287-300.
- 124. Schofield P., Pell A.N., 1995.** Measurement and kinetic analysis of the neutral detergent- soluble carbohydrates fraction of legumes and grasses. J. Anim. Sci, 73: 3455-3463.
- 125. Selosse M.A., Barnola J.M. 2000.** La production biologique du méthane. Benoit. URGELLI.ENS. Lyon.
- 126. Seresinhe T. and Iben C. 2003.** In vitro quality assessment of tow tropical shrubs legumes in relation to their extractable tannins content. J. of Anim. Physio. and Anim Nutri, 87: 109-115.
- 127. Sewell H.B. 1993.** High moisture grain for beef cattle. Agricultural Publication G02056.

- 128. Sharp R., Ziemer C.J., Marshall D.S., Stahl D.A. 1998.** Taxon-specific association between protozoal and methanogen population in the rumen and model system. *FEMS. Microb.Ecol*, 26: 71-78.
- 129. Singh G.P., Nagpal A.K., Sainj N., 2005.** Methane production in relation to productivity of livestock and environment: a review. *Indian J. Anim. Sci*, 75: 143–148.
- 130. Souci S.W., Fachmann W., Kraut H. 1994.** La composition des aliments. Tableaux des valeurs nutritives. Ed: Medpharm Scientific publishers: 872-916.
- 131. Spear J.W. 1994.** Mineral in forages. In: Fahey, jr., G.C. (Ed), Forage quality, Evaluation, and utilization. National Conference on forage quality, Evaluation and Utilization, Lincoln, 128-317.
- 132.** Stabilisation and reduction of global methane emission.1996. Strategy paper for Reducing Methane emission. Communication from commission to the council and to the European parliament. www.vegetarisme.fr
- 133. Stem D.L., Kaufman R.K. 1998.** Annual estimates of global anthropogenic methane emissions: 1860-1994 Trends on line: A compendium of data on global change. Carbon Dioxide information Analysis Center, Caok Ridge National Laboratory, Departmen of Energy, US.
- 134. Stewart C.S., Bryant M.P. 1988.** The rumen bacteria. In: The rumen microbial ecosystem. Elsevier. Applied. Science. p 21-75.
- 135. Stewart C.S., Flint H.J., Bryant M.P. 1997.** The rumen bacteria. In: The rumen Microbial Ecosystem, edited by Hobson PN. P 10-72.
- 136. Stumm C.K., Gitzen H.J., Vogels G.D. 1982.** Association of methanogenic bacteria with ovine rumen ciliates. *Brit. J.Nut*, 48: 417-431.
- 137. Teacher R.M., Mahadevan S., Erfle J.D., Sauer F.D. 1984.** Negative correlation between protozoal and bacterial levels in rumen samples and its relation to the determination of dietary effects on the rumen microbial population. *App. Evir. Micr*, 47: 566-570.

- 138. Tendokeng P.E., Kana J.R., Tendokeng F. and Betfiang M.E. 2004.** Digestibilité in vitro de *Calliandra calothyrsus* en présence du polyéthylène glycol et de *Brachiaria ruziziensis*, *Trypsacum laxum* ou *Pennisetum purpureum* au Cameroun. *Lives. Resea. for Rur. Deve*, 16 (7).
- 139.** The national pollution prevention center for higher education, university of michigan, USA. www.vegetarisme.fr
- 140. Tokura M., Chagan K., Ushida K., Kojima Y. 1999.** Phylogenetic study of methanogens associated with rumen ciliates. *Curr. Microbiol*, 39: 123-128.
- 141. Tokura M., Tajima K., Ushida K. 1999.** Isolation of *Methanobrevibacter* sp as a ciliate associated ruminal methanogen. *J. Gen. Appl. Microbiol*, 45: 43-47.
- 142. Topps H.J. 1992.** Potential, composition and use of legume shrubs and tree as forage for livestock in the tropics (a review). *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 118: 1-8.
- 143. Tuah A.K., Kai D.B., Orskov E.R., Kyle D., Shand W., Greenhalgh J.F.D., Obese F.Y. AND Karikari P.K. 1996.** In sacco dry matter degradability and in vitro gas production characteristic of some Ghanaian feed. *Liv. Res. Rur. Dev.* Vol 8, N 1. January.
- 144.** United States Environmental protection Agency. **2002.** Ruminants livestock and global warming. Last update. www.inra.fr
- 145. Ushida K., Jouany J.P. 1996.** Methane production associated with rumen ciliate protozoa and its effects on protozoa activity. *Lett. Appl. Microb*, 23: 129-132.
- 146. Van soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. 1991.** Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal function. *J. Dai. Sci*, 74: 3583-3597.
- 147. Vermorel M. 1995.** Productions gazeuses et thermiques résultant des fermentations digestives. In : *Nutrition des ruminants domestiques : ingestion et digestion*. Jarrige R., Ruckebush Y., Journet M. Eds. INRA, Paris (France).

148. Vitti D.M.S.S., Abdallah A.L., Bueno I.C.CS., Silva Filho J.C.costa C., Bueno M.S., Nozella E.F., Longo C., Viera E.Q., Cabral Filho S.L.S., Godoy P.B.and Mueller Harvey I. 2005. Do all tannins have similar nutritional effect? A composition of three Brazilian fodder legumes. Anim. Feed. Sci. Technol, 119: 345-361.

149. Vogel G.D., Hoppe W.F., Stumm C.K. 1980. Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates. Appl. Envir. Microb, 40: 608-612.

150. Weimer P.J., Lopez-Guisa J.M., Frensh A.D. 1990. Effect of cellulose fine structure on kinetics of its digestion by mixed ruminal microorganisms in vitro. Appl. Environ. Microbiol, 56: 2421- 2429.

151. Woex C.R., Kandler O., Wheelis M.L. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domain Archaea, Bacteria and Eucarya. Pro. Nati. Acad. Sci.USA, 87: 4576-4579.

152. Wolin M.J., Miller T.L. 1988. Microbe-microbe interactions. In : Hobson P.N. Ed., The rumen microbial ecosystem. Elsevier Science publisher ltd.UK. p 343-459.

Annexes

Annexe 1 : Composition de la salive artificielle de Menke et *al.*

Solutions	Eléments	Concentrations
Solution A (g/100 ml) Solution de micriminéraux.	CaCl ₂ .2H ₂ O	13,2
	MnCl ₂ .6 H ₂ O	10,0
	CoCl ₂ . 6 H ₂ O	1,0
	FeCl ₂ .6 H ₂ O	8,0
Solution B (g/l) Solution tampon.	NaHCO ₃	35,0
	NH ₄ HCO ₃	4,0
Solution C (g/l) Solution de macrominéraux.	Na ₂ HPO ₄	5,7
	KH ₂ PO ₄	6,2
	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,6
Solution D (g/100 ml) Indicateur d'oxydoréduction	C ₁₂ H ₆ NO ₄ (résazurine)	0,1
Solution E (/90 ml) Solution réductrice	NaOH (1N)	2 ml
	Na ₂ S.9H ₂ O	0,625
	L-cysteine	0,625

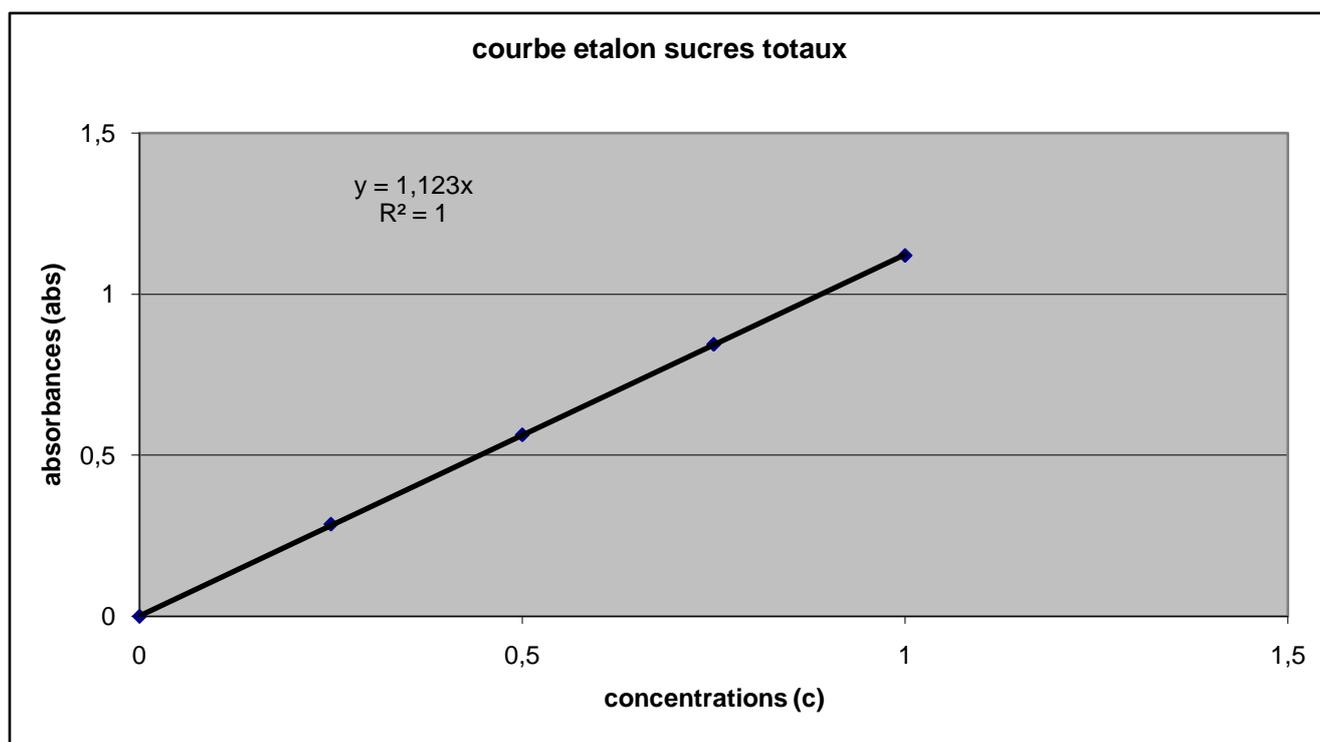
Composant	Quantité (ml)
Eau distillée	475
Solution A	0,12
Solution B	240
Solution C	240
Solution D	1,22
Solution E	100

Annexe 2 : Préparation de la solution d'NDS (Neutral Detergent Solution).

Eléments chimiques	Concentration (g/l)
Disodium Ethylène Tetra Acétique	18,61
Borate de Sodium dibasique	6,81
Lauryl Sulfate de Sodium	30,00
Phosphate disodique	6,095
Ether monoéthylique de l'éthylène	20ml

Annexe 3 : Courbe étalon des sucres totaux.

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance
0	0
0,25	0,285
0,5	0,563
0,75	0,845
1	1,12



Résumé

L'évaluation de la méthanogénèse ruminale est déterminée sur la base de la composition chimique des aliments destinés à l'alimentation animale et leur fermentation *in vitro*, par le microbiote ruminal d'ovins. Les substrats retenus pour cette étude sont des sous produits de l'agronomie saharienne : rebus de dattes, pédicelles et leurs fractions pariétales respectives. La fermentation de ces substrats est menée comparativement à un substrat standard qui est le foin de vesce avoine. La fermentescibilité de deux substrats purs, l'amidon de blé et la cellulose type 101, est également étudiée dans les mêmes conditions.

Les résultats de la fermentation *in vitro* des substrats bruts par le microbiote ruminal d'ovins révèle que les rebus de dattes produisent le plus grand volume de gaz. Ils sont suivis du foin de vesce avoine, alors que les pédicelles se caractérisent par la plus faible production de gaz. La fermentation des substrats génère également différents volumes de CH₄ et de CO₂. L'analyse qualitative des gaz fermentaires montre que, durant les premières heures d'incubation, les volumes de CH₄, enregistrés par les rebus de dattes et les pédicelles, sont très faibles par rapport à ceux enregistrés après 24 heures, contrairement aux volumes de CO₂ qui se montrent dominants pendant toutes les heures de fermentation. La même constatation est faite pour le foin de vesce avoine, substrat de référence. La production de gaz issue de la fermentation de la fraction pariétale des trois substrats étudiés diminue significativement par rapport aux substrats bruts. Cet effet se manifeste le plus sur les volumes de CO₂ qui chutent pratiquement pour tous les substrats, contrairement aux volumes de CH₄ qui restent stables par rapport à ceux enregistrés pour les substrats bruts.

Concernant les substrats purs, l'analyse qualitative et quantitative du pool gazeux montre que les deux substrats possèdent des profils fermentaires différents. En effet, la fermentation de l'amidon de blé est intense pendant les premières heures d'incubation et s'oriente vers une production de CO₂, tandis que la dégradation de la cellulose type 101 nécessite un temps de latence plus long et s'oriente vers une production accrue en CH₄. Sur cette base, il apparaît que la nature du substrat est un facteur déterminant pour la production de CH₄ dont l'importance est liée à sa teneur en fraction insoluble.

Mots clés : Effet de serre, méthane, production de gaz *in vitro*, microbiote ruminal, Sous-produits métaboliques, fraction végétale soluble, fraction végétale insoluble.

Abstract

The evaluation of ruminal méthanogénèsis is determined on the basis of chemical composition of substrates, used for animal nutrition, and their *in vitro* fermentation, by the ruminal microbiota. Substrates used for this study are agronomic by-products, dates by-products, racemes, and their respective parietal fractions. The fermentation of these substrates is conducted comparatively to vetch oats hay, taken as control. The degradation of two pure substrates, wheat starch and cellulose type 101, is also studied under the same conditions.

The results of the *in vitro* fermentation of the substrates, by the ruminal microbiota, reveal that the dates by products generate the largest volume of gas. They are followed by vetch oats hay, while racemes are characterized by a lower gas production. Substrates fermentation generates also different amounts of CH₄ and CO₂. The qualitative analysis of fermentative gases shows that the dominant gas released from the degradation of all substrates, in the early hours of incubation, is mainly CO₂. During the first hours of incubation, we note that volumes of CH₄ released from the fermentation of dates by products and racemes, are less important than those generated after 24 hours of incubation, contrarily to the volumes of CO₂, which are dominants in all times of fermentation. The same constatation is done for the standard substrate, vetch oats hay. The gas production resulting from the fermentation of the parietal portion of the three substrates studied, decreases significantly compared to rough substrates. This effect is most observed on the volumes of CO₂ which fall for all substrates, unlike CH₄ volumes remaining stable compared to those recorded for rough substrates.

Regarding pure substrates, the qualitative and quantitative analysis of gas pool shows that the two substrates have different profiles fermentation. Indeed, the fermentation of wheat starch is intense during the first hours of incubation and moving towards CO₂ production, while the degradation of cellulose type101 requires longer latency time, and moving to increased CH₄ production. On this basis, it appears that the nature of the substrate is a determining factor for the CH₄ production whose importance is linked to its content of insoluble fraction.

Key words: Greenhouse effect, methane, *in vitro* gas production, ruminal microbiot, arid by-products, substrate soluble fraction, substrate insoluble fraction.

ملخص

تم تقييم النشاط الميثاني الذي يحدث في كرش المجترات وذلك استنادا إلى التركيبة الكيميائية للمواد المخصصة للتغذية الحيوانية والى تخمرها عن طريق النشاط الأيضي لميكروفلورا كرش المجترات. المواد التي تم استعمالها في هذه الدراسة عبارة عن مخلفات الزراعة الصحراوية و المتمثلة في مخلفات و عنيقات التمر بالإضافة إلى أجزائها الجدارية. درست عملية التخمر مقارنة إلى مادة قياسية وتتمثل في الحشيش (الجفيف). في نفس الظروف تمت دراسة تخمر نوعين من المواد النقية و المتمثلة في نشاء القمح و السيليلوز نمط 101. أظهرت نتائج عملية تخمر المواد الخام أن مخلفات التمر تنتج اكبر حجم للغاز متبوعة بالحشيش بينما تتميز العنيقات بإنتاجها الضعيف للغاز. أدت عملية التخمر كذلك إلى إنتاج أحجام مختلفة من غاز الميثان و ثان ي أكسيد الكربون. حيث أظهر التحليل النوعي لغازات التخمر بأن أحجام غاز الميثان الناتجة عن عملية تخمر مخلفات و عنيقات التمر خلال الساعات الأولى من عملية الحضان كانت قليلة مقارنة بالأحجام المسجلة بعد 24 ساعة على عكس أحجام غاز ثاني أكسيد الكربون الذي يظهر سائدا طيلة فترة الحضان. نفس الملاحظة تم تسجيلها بالنسبة إلى المادة القياسية و المتمثلة في الحشيش. يعطي تخمر الأجزاء الجدارية للمواد الثلاثة كمية غاز قليلة مقارنة بالمواد النقية، حيث أن أحجام غاز ثاني أكسيد الكربون تنقص بالنسبة إلى جميع المواد غير أن أحجام غاز الميثان تبقى مستقرة مقارنة بالقيم المسجلة لدى المواد الخام. بالنسبة للمواد النقية أظهرت نتائج التحليل الكمي و النوعي لإنتاج الغاز أن المواد تتميز بمقاطع تخميره مختلفة حيث أن تخمر نشاء القمح يكون قوي في الساعات الأولى من الحضان و يؤدي إلى إنتاج غاز ثاني أكسيد الكربون بينما يحتاج تحلل السيليلوز نمط 101 إلى وقت اكبر و يؤدي إلى إنتاج كبير لغاز الميثان. يظهر على ضوء هذه الدراسة أن طبيعة المادة تعتبر عامل فعال في عملية إنتاج غاز الميثان.

الكلمات المفتاحية :

ظاهرة الاحتباس الحراري , غاز الميثان, إنتاج الغاز *in vitro* , ميكروفلورا الكرش, مخلفات الزراعة, أجزاء نباتية قابلة للذوبان, أجزاء نباتية غير قابلة للذوبان.