

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et de Microbiologie

N° d'ordre : 308/M09/2010

N° de série : 018/5N/2010

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de magistère

Spécialité : Ecologie Microbienne

Par M^{elle} : AMOKRANE Serine

Thème

*Etude des prétraitements microbiologiques des résidus
agro- alimentaires lignocellulosiques en vue de leur
valorisation en alimentation animale*

Soutenue le : 04/07/2010

Devant le jury :

Président : Benguedouar A. Professeur à l'université de Constantine
Rapporteur : Haddi M.L. Maitre de conférences à l'université de Constantine
Examineurs : Boudemagh A. Maitre de conférences à l'université de Constantine
Kitouni M. Maitre de conférences à l'université de Constantine
Mihoubi I. Maitre de conférences à l'université de Constantine

Année Universitaire : 2009-2010

Remerciements

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements
à mon DIEU qui m'a donné le courage et la
volonté d'achever ce travail.*

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à mon directeur de mémoire Monsieur Haddi M.L, maître de conférences à l'université de Constantine, pour sa patience, ses précieux conseils, le suivi et l'orientation dont j'ai pu bénéficier

J'exprime mes profonds remerciements à Monsieur le professeur Benguedouar A, pour nous avoir donné l'occasion d'accéder à l'espace de la recherche scientifique et d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury.

Je remercie vivement monsieur Kitouni M. et Mr Boudemagh A maîtres de conférences à l'université de Constantine, qui me font l'honneur d'accepter de juger mon travail, et de faire partie de mon jury.

Mes sentiments de reconnaissance vont également à Mme Mihoubi Ilhem, maître de conférences à l'université de Constantine, d'avoir accepté de juger ce modeste travail. Qu'elle trouve ici mes sentiments de gratitude.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

DEDICACE

Je dédie ce travail à mes parents,
Qu'ils trouvent ici toute ma
Gratitude pour leur
Soutien tout
Au long de
Mes
Études.

A mes soeurs et mes frères, que
Dieu les bénisse
A tous mes collègues et
Mes amies.
A tous ceux que
J'aime.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1 : Caractéristiques physico-chimiques du rumen.....	13
Tableau n°2 : Quelques caractéristiques de bactéries rencontrées dans le rumen.....	16
Tableau n°3 : Glycosyl hydrolases identifiées chez certaines espèces microbiennes ruminales cultivables.....	23
Tableau n°4 : Exemple d'interactions microbiennes au sein de l'écosystème ruminal.....	25
Tableau n°5 : Les solutions utilisées dans la préparation de la salive artificielle.....	39
Tableau n°6 : Les quantités requises pour la préparation de la salive artificielle.....	40
Tableau n°7 : pH du liquide ruminal, de la salive artificielle et du mélange	46
Tableau n°8 : Matière sèche, matière organique et minérale du liquide ruminal de différents essais	48
Tableau n°9 : Distribution des bactéries Gram- et Gram+ dans les trois types de frottis... .	49
Tableau n°10 : Répartition des différentes formes bactériennes Gram- et Gram+ dans les trois types de frottis	52
Tableau n°11 : Composition chimique des substrats en % de MS.....	57
Tableau n°12 : pH initiaux, quantités d'acide acétique (0.1N), quantités d'ammoniaque (0.1N) ajoutées (ml) et capacité tampon (en milliéquivalents d'acide acétique par gramme de MS) des différents substrats étudiés tels quels ou en mélanges.....	61
Tableau n°13 : Coefficient de corrélation entre les différents paramètres (pHi, capacité tampon, quantité d'ammoniaque, quantité d'acide acétique ajoutée et les paramètres a, b, c et d).....	64
Tableau n°14 : Paramètres cinétiques de la dégradation <i>in vitro</i> des résidus agroalimentaires et de leurs mélanges avec des aliments fibreux.....	71
Tableau n°15 : Pourcentage de dégradabilité apparente des différents substrats et de leurs mélanges avec la paille d'orge, le foin, les cardes et les chrysanthèmes.....	79
Tableau n°16 : Variation des valeurs de pH au cours de la fermentation.....	82

LISTE DES FIGURES

Figure n° 1 : Les principales voies de valorisation des résidus agroalimentaires.....	3
Figure n° 2 : Schéma de transformation des fruits d'agrumes.....	4
Figure n° 3 : Le processus de transformation de la tomate.....	6
Figure n° 4 : Arrangement cristallin des chaînes d'une microfibrille de cellulose.....	9
Figure n° 5: Structure de l'hémicellulose (exemple de Glucuronoarabinoxylane).....	9
Figure n° 6: Structure de la pectine	9
Figure n° 7 : Les alcools constitutifs des lignines.....	11
Figure n° 8 : Voies du métabolisme des glucides dans le rumen.....	22
Figure n° 9 : Appareil de mesure de gaz <i>in vitro</i> en marche.....	42
Figure n° 10 : Deux champs différents d'un frottis du liquide ruminal frais (avant filtration) sous microscope optique (40×10).....	51
Figure n° 11: Deux champs différents d'un frottis du liquide ruminal filtré sous microscope optique (40×10).....	51
Figure n°12: Courbes des cinétiques de production de gaz par les substrats seuls.....	70
Figure n°13: Cinétiques de production de gaz des mélanges de résidus agroalimentaires et d'aliments fibreux.....	76
Figure n° 14 : Valeurs des pH de différents substrats seuls ou mélangés, comparés au pH initial d'incubation.....	84

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
1- La valorisation des résidus agroalimentaires.....	2
1.1- Les principaux sous-produits agroalimentaires valorisés en alimentation des ruminants	2
1.1.1- Les sous produits des agrumes.....	2
1.1.2- Les sous produits de tomates	5
1.1.2.1- Les pulpes de tomates.....	5
1.1.2.2- Les peaux de tomates.....	5
1.1.2.3- Les graines de tomates.....	5
1.1.3- Les pulpes de pommes.....	7
1.2- Les contraintes dans l'utilisation des résidus agro-alimentaires.....	7
2 – Eléments structuraux des sous produits agroalimentaires.....	8
2.1- Les polysides pariétaux.....	8
2.1.1- La cellulose.....	8
2.1.2- Les hémicelluloses.....	8
2.1.3- Les pectines.....	8
2.2- Les constituants pariétaux non polysaccharidiques.....	10
2.2.1- Les protéines de structure.....	10
2.2.2- Les composés phénoliques.....	10
2.3- Les constituants cytoplasmiques.....	11
2.3.1- Les glucides.....	11
2.3.2- Les constituants azotés.....	11
3- Dégradation des sous produits agroalimentaires par la microflore ruminale	11
3.1- La microflore ruminale.....	12
3.1.1- Les bactéries.....	12
3-1-2- Les protozoaires.....	18
3-1-3- Les champignons.....	19
3.1.4- Les bactériophages.....	19
3.2- Dégradation des sous produits agroalimentaires.....	19
3.2.1- Dégradation de la cellulose.....	20
3.2.2- Dégradation de l'hémicellulose et de la pectine	20

3.2.3- Dégradation de l'amidon.....	20
3.2.4- Dégradation des protéines.....	21
3.2.5- Dégradation des lipides.....	21
3.2.6- Les métabolismes hydrogénotrophes.....	21
3.3 - Bioconversion ou neutralisation de quelques substances antinutritionnelles.....	23
3.4- Les interactions microbiennes dans le rumen.....	24
3.4.1- Les interactions entre espèces bactériennes.....	25
3.4.2- Les interactions bactéries - protozoaires.....	26
3.4.3- Les Interactions bactéries - champignons.....	26
3.4.4- Les interactions protozoaires - champignons.....	27
4- Les techniques d'estimation de la valeur nutritive des aliments	27
4.1- Les méthodes chimiques	27
4.2- Les méthodes physiques.....	28
4.3- Les méthodes enzymatiques	28
4.4- Les méthodes microbiologiques	29

Chapitre II : Matériel et méthodes

1- Matériel.....	31
1.1- Matériel végétal.....	31
1.2- Matériel animal.....	31
2 - Analyse des caractéristiques de l'inoculum.....	31
2.1- Analyse des caractéristiques physico-chimiques.....	31
2.1.1- Le pH.....	31
2.1.2- Le potentiel d'oxydoréduction.....	32
2.1.3- Détermination de la matière sèche.....	32
2.1.2- Détermination de la matière organique et de la matière minérale.....	33
2.2- Analyse des caractéristiques microbiologiques de l'inoculum.....	34
2.3- Description quantitative et qualitative de la flore ruminal rencontrée.....	35
3 – Analyse des caractéristiques des différents substrats	35
3.1- Analyse des caractéristiques physico-chimiques.....	35
3.1.1- Composition chimique des substrats étudiés.....	35
3.1.2- Détermination de la capacité tampon de différents substrats.....	36
3.2- Etude de la fermentescibilité <i>in vitro</i> de différents substrats.....	38

3.2.1- Mesure de la production de gaz <i>in vitro</i>	38
3.2.1.1- Préparation de la verrerie et du matériel.....	38
3.2.1.2- Préparation de la salive artificielle	39
3.2.1.3- Préparation de l'inoculum.....	40
3.2.1.4- Inoculation et incubation.....	41
3.2.2 - Détermination des paramètres cinétiques de la production de gaz <i>in vitro</i>	42
3.2.3 - Estimation du pourcentage de dégradabilité apparente.....	44
4- Analyse statistique.....	44

Chapitre III : Résultats et discussion

1- Analyse des caractéristiques de l'inoculum.....	45
1.1-Analyse des caractéristiques physico-chimiques	45
1.1.1- Le pH du liquide ruminal.....	45
1.1.2- Le pH de la salive artificielle.....	45
1.1.3- Le pH du mélange.....	45
1.1.4- Le potentiel d'oxydoréduction.....	47
1.1.5- La matière sèche, la matière minérale et la matière organique	47
1-2- Analyse des caractéristiques microbiologiques	49
2- Analyse des caractéristiques de différents substrats	55
2.1- Analyse des caractéristiques physico-chimiques.....	55
2.1.1- Composition chimique des substrats.....	55
2.1.2- La capacité tampon des substrats seuls et de leurs mélanges.....	60
2.1.2.1- Le pH initial.....	60
2.1.2.2- Quantité d'ammoniaque (0.1N) ajoutée.....	63
2.1.2.3- Quantité d'acide acétique (0.1N) ajoutée.....	65
2.1.2.4- La capacité tampon de différents substrats seuls ou en mélanges.....	66
2.2- La fermentescibilité <i>in vitro</i> des substrats seuls et de leurs mélanges.....	69
2.2.1- Les paramètres cinétiques de la production de gaz <i>in vitro</i>.....	69
2.2.1.1- Substrats non mélangés.....	69
2.2.1.2- Substrats mélangés.....	74
2.2.2- Pourcentage de dégradabilité apparente.....	77
2.2.3- Variation du pH de l'inoculum après fermentation en fonction de différents Substrats.....	81
Conclusion générale.....	86
Références bibliographiques.....	88

INTRODUCTION

Introduction

La production animale est fonction surtout des disponibilités fourragère et de la qualité du fourrage. Dans les pays en développement, le faible potentiel fourrager, lié à la limitation en eau et en surface cultivable, éprouve de grandes difficultés à produire suffisamment des protéines animales de haute qualité pour la population humaine et entraîne un recours massif aux importations de produits animaux à l'instar des produits laitiers et carnés. C'est pourquoi, la priorité des chercheurs travaillant dans ce domaine est de trouver des compléments alimentaires locaux qui puissent remplir trois conditions essentielles : une abondance sur le site d'élevage, des prix abordables pour les éleveurs et surtout un potentiel nutritionnel avéré et exploitable

Aujourd'hui, en Algérie, des millions de tonnes de résidus de nature lignocellulosiques, produit par l'industrie agroalimentaire, sont rejetés en l'état. Ils représentent pourtant une source énergétique non négligeable pour les ruminants qui tirent beaucoup mieux profit de cette biomasse lignocellulosique, grâce à une flore microbienne très dense hébergée dans le rumen.

La valorisation de ces résidus est devenue une pratique nécessaire parce qu'elle permet de sauvegarder l'environnement et évite ainsi une pollution de plus en plus sérieuse, et baisse le cout alimentaire, comble le déficit fourrager et par conséquent, améliore la production animale.

Dans notre cadre, nous avons entrepris des travaux sur la fermentescibilité *in vitro* de trois résidus agroalimentaires disponibles dans notre pays : il s'agit de résidus de tomates, de pommes et d'oranges. Nous avons mis en place une série d'expérimentations pour étudier l'impact de plusieurs régimes alimentaires proposés à base des résidus agroalimentaires seuls ou complétés par des aliments fibreux : paille d'orge, foin, chrysanthèmes (*Chrysanthemum coronarium*) et les cardes (*Sylibum marianum*) sur l'activité de la flore microbienne du rumen à travers des caractéristiques physicochimiques (capacité tampon et pH) et microbiologique (fermentation *in vitro*, dégradabilité apparente *in vitro*).

Le but est d'évaluer la possibilité de leur utilisation dans les rations alimentaires des ruminants locaux.

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

1- La valorisation des résidus agroalimentaires

La être éliminés et si possible valorisés (Demarquilly *et al.*, 2002).

Selon Ademe (2000), un sous-produit est un produit résidu qui apparaît durant la fabrication ou la distribution d'un produit fini. Il est non intentionnel et non prévisible, et est accidentel. Il peut être utilisé directement ou bien constituer un ingrédient d'un autre processus de production en vue de la fabrication d'un autre produit fini.

La valorisation des résidus agroalimentaires est le réemploi, le recyclage ou toute autre action visant à obtenir, à partir des déchets, des matériaux réutilisables ou de l'énergie (Proot, 2002) (figure1).

1.1- Les principaux sous-produits agroalimentaires valorisés en alimentation des Ruminants

1.1.1-Les sous produits des agrumes

En Algérie, une quantité énorme de résidus d'agrumes est produite annuellement estimée à 1.488.000 tonnes/an (FAO, 2007).

Les agrumes comprennent plusieurs fruits : orange (*Citrus sinensis* : 67.8% de la production mondiale), mandarine (*C.reticulata* : 17.9%), citron (*C.limon* : 6.3%), pamplemousse (*C. paradisi* : 5.0%) (préparation, par les industries agroalimentaires, des aliments finis destinés à l'alimentation humaine est accompagnée de sous produits, de nature et d'importance très variables, qui doivent Mirzaei- Aghsaghali and Maheri-Sis, 2008).

Etant riche en sucres, en pectines et en parois peu lignifiées, la pulpe d'agrumes se dégrade rapidement dans le rumen ; pour éviter les problèmes d'acidose, il importe donc d'accoutumer progressivement les animaux à l'ingestion de la pulpe d'agrumes (Grasser *et al.*, 1995).

A titre indicatif, les pulpes d'oranges sont plus pauvres en extrait étheré, en minéraux et en parois et plus riches en matières azotées que les pulpes de citrons ou de pamplemousses. Ainsi les pulpes et les peaux de citrons sont légèrement plus acceptables que ceux des oranges et des pamplemousses (Martinez *et al.*, 2008). La valeur énergétique de la pulpe d'agrumes est très élevée, en revanche, la valeur azotée est très limitante (Rihani, 1991).

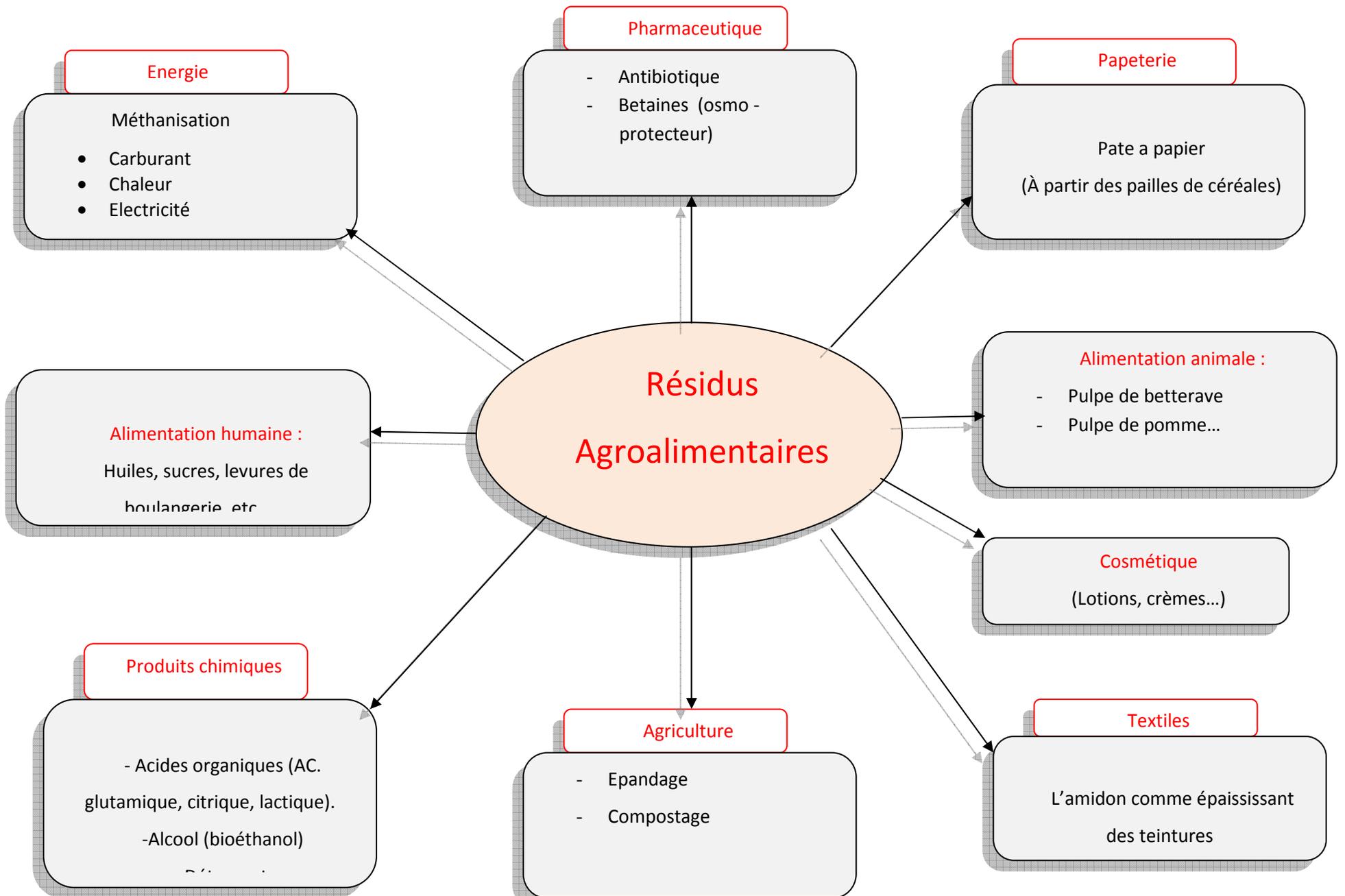


Figure n° 1: Les principales voies de valorisation des résidus agroalimentaires

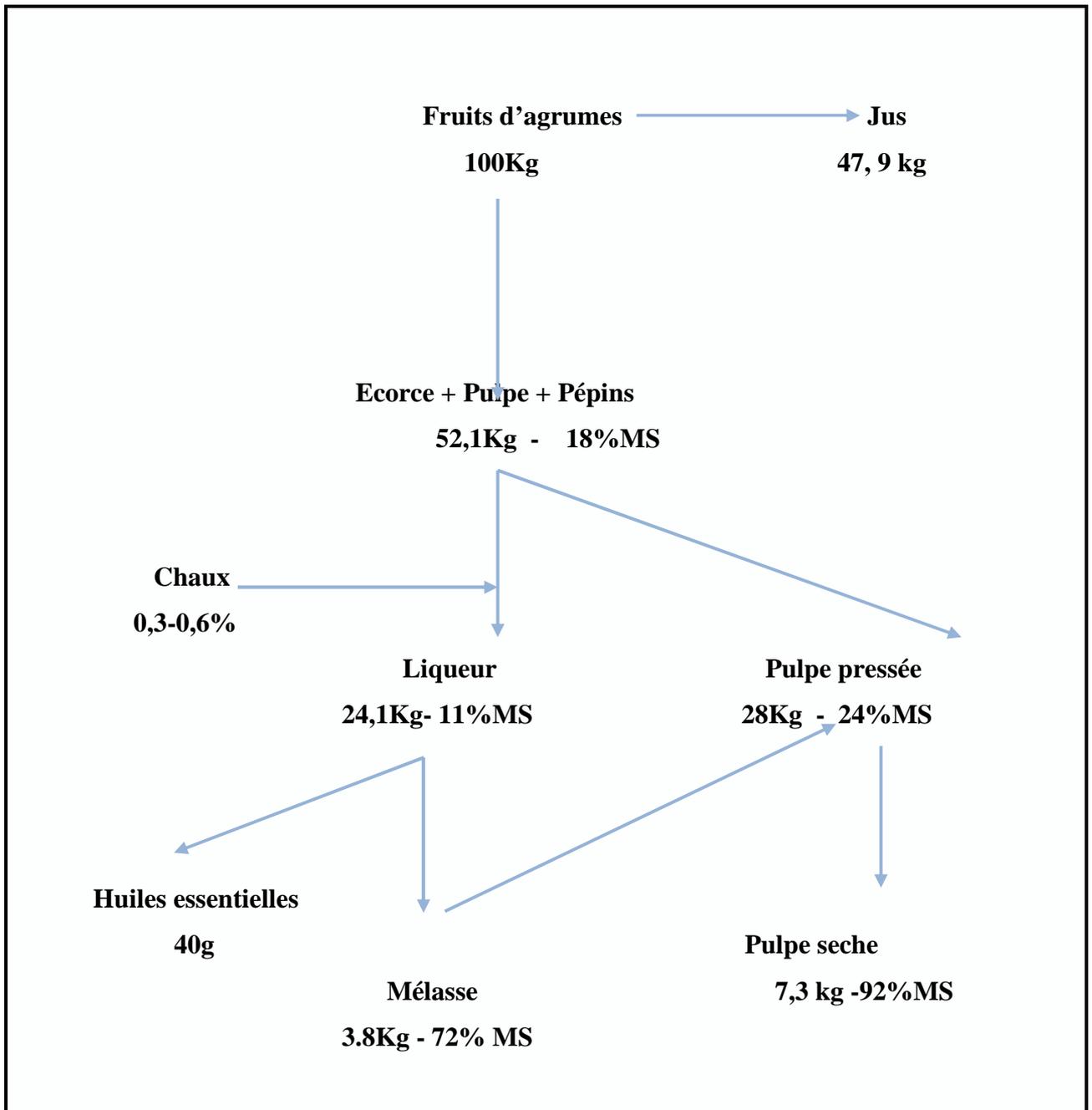


Figure n°2 : Schéma de transformation des fruits d'agrumes
(Rihani 1991)

1.1.2- Les sous produits de tomates

En Algérie, la production annuelle des résidus de tomates est estimée à 1.305.000 tonnes/an (FAO, 2006)

Les sous produits de l'industrie de transformation de la tomate (*Lycopersicon esculentum*) sont constitués de peaux, pépins, d'un peu de pulpes et des pédoncules parfois mélangés à quelque feuilles et écarts de triage (Ventura *et al.*, 2009).

1.1.2.1- Les pulpes de tomates

Ce résidu est peu répandu et reste disponible pendant la période estivale (d'aout à octobre). Les analyses des composés pariétaux montrent une forte teneur en cellulose brute et en lignine de 24.65% de MS, par rapport à celle de la pectine 5% (Cotte, 2000).

Les protéines ont une composition en acides aminés proche de celle du tourteau de soja, ceci place les pulpes de tomates parmi les aliments ayant une valeur protéique intéressante pour les ruminants. La pulpe de tomate est ainsi une source raisonnable de vitamine B₁ B₂ et vitamine A (Aghajanzadeh- Golshani *et al.*, 2010).

1.1.2.2- Les peaux de tomates

Concernant les tomates, récoltées généralement à un stade de maturité assez avancé, les peaux sont donc essentiellement constituées de cellules à parois lignifiées (15 à 35% de lignine). Elles sont recouvertes d'une cuticule constituée de produit d'excrétions lipidiques désignées globalement sous le terme de cires ou de cutine. A l'instar de la lignine, les constituants de la cuticule des tomates sont donc susceptibles de diminuer la digestibilité du sous produits, notamment celle de la matière organique (Cotte, 2000)

1.1.2.3- Les graines de tomates

Les graines de tomates présentent une forte teneur en matière grasse (MG) et protéines, une analyse qualitative séparée des peaux et graines de tomate donne les valeurs suivantes : 24.5% de protéines et 28.1% de MG dans les graines contre 10% de protéines et 3.6% de MG dans les peaux. Au vu de ces données, il apparaît que les graines représentent la part la plus importante du potentiel énergétique et azoté des sous produits de la tomate (Cotte, 2000).

1.1.3- Les pulpes de pommes

Les pulpes de pomme sont issues de la fabrication de jus de pomme ou de cidres. Ils représentent 30% de la totalité du fruit (Baumgärtel *et al.*, 2007).

Les pulpes de pomme sont des résidus de valeur nutritive médiocre, en raison de leurs faibles teneurs en matières azotées digestibles, de la mauvaise digestibilité de leurs parois cellulaires riches en sucres insolubles et de leurs faibles teneur en minéraux et en vitamines (Villas-BÔas *et al.*, 2003). Ils sont réputés pour leur appétibilité, cependant, leur consommation doit être limitée à 1% du poids vif en raison de leur teneur en alcool qui peut atteindre 100 g/kg de MS (Sauvant et Michalet-Doreau, 1988)

La pulpe de pommes est une source naturelle de substances pectiques qui se présentent sous forme de protopectine (Vendruscolo *et al.*, 2008)

1.2- Les contraintes dans l'utilisation des résidus agro-alimentaires

Plusieurs facteurs limitent l'utilisation de quelques résidus agroalimentaires, parmi lesquels :

- Une valeur nutritive faible (Grignons d'olives)
- Une période d'utilisation courte (disponibilité saisonnière surtout pour les sous produits de fruits et légumes).
- Une forte humidité (comme la pulpe de citron, pulpe de tomate, grignons d'olives, etc.)
- Un coût élevé de manipulation et de transport de l'emplacement de production (pulpe de tomate, grignons d'olive, marc de raisin, etc.) à la ferme.
- Présence de facteurs antinutritionnels (tannins, composés phénoliques principalement les saponines, etc.).
- La déshydratation peut causer la perte de la valeur des protéines.
- Peroxydation des lipides (rancissement des produits à haute teneur en graisses, comme les grignons d'olives).
- La croissance des moisissures sur les aliments (secrétant l'aflatoxines) peut causer leur toxicité. (Tripodo *et al.*, 2004 ; Aghajanzadeh- Golshani *et al.*, 2010 ; Ben Salem *et al.*, 2001).

2-Éléments structuraux des sous produits agroalimentaires

2.1- Les polysides pariétaux

Les polysides structuraux constituent la forme essentielle de stockage de l'énergie des végétaux. Ils représentent 40-60% de la matière sèche des fourrages et constituent de 50-70% de la matière sèche des parois (Fonty et Forano, 1999). Leurs teneurs respectives varient fortement selon l'espèce botanique, l'âge de la plante, les organes et les tissus (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007). Ses composants appartiennent à trois groupes de glucides :

2.1.1- La cellulose

La cellulose est la molécule organique renouvelable la plus abondante sur terre, Elle représente plus de la moitié de la biomasse terrestre et constitue un réservoir de carbone sous forme organique à l'échelle de la planète. (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007) (Figure 4)

C'est un homopolysaccharide composé de longues chaînes de β (1-4)-D glucose, basé sur la répétitions d'unité de cellobiose, les chaînes sont orientées en un assemblage cristallin stabilisé par des liaisons faibles de types hydrogène intra- et inter chaînes. (Res *et al.*, 2006).

2.1.2 - Les hémicelluloses

Ils constituent entre 10-25% de la matière sèche des fourrages. Les hémicelluloses présentent un axe caractéristique linéaire qui est généralement formé d'un seul monomère. Elles portent des chaînes latérales courtes et flexibles formées de sucres simples ou de petites séquences de sucres. Ces derniers sont liés entre eux par différentes types de liaisons :

β (1-4) ; β (1-3) ; α (1-4) ; α (1-3). Le nombre des ramifications, leur répartition le long de l'axe et la longueur des chaînes latérales conduisent à une grande variété de macromolécules, aux propriétés différentes (Jarrige *et al.*, 1995) (figure 5)

Les xylanes sont les hémicelluloses les plus importantes des céréales et des monocotylédones. La digestibilité des hémicelluloses est fortement liée à celle de la cellulose et négativement corrélée à la lignification (Meyer *et al.*, 2005).

2.1.3- Les pectines

Les pectines (ou substances pectiques) sont constituées par une chaîne principale d'unités d'acide D-galacturonique liées en β (1-4). Des oses neutres sont toujours trouvés en association. La chaîne linéaire peut être également interrompue de place en place par des unités L-rhamnose (pentose neutre méthylé) liées aux acides galacturoniques (Fonty et Forano, 1999 ; Res *et al.*, 2006) (figure 6)

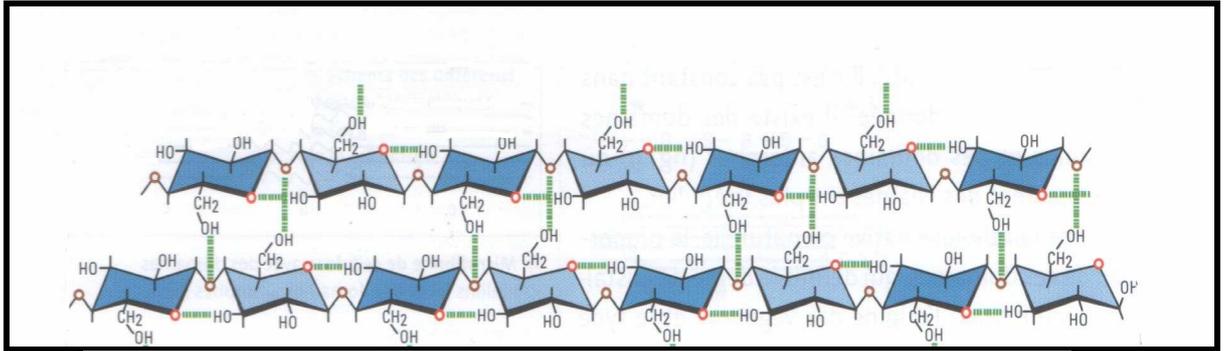


Figure n°4: Arrangement cristallin des chaînes d'une microfibrille de cellulose (Res et al., 2006)

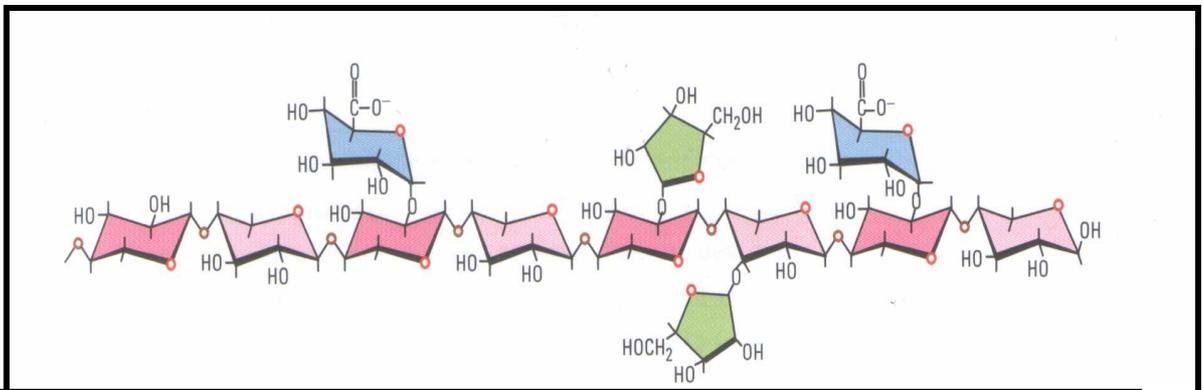


Figure n°5 : Structure de l'hémicellulose (exemple de Glucuronoarabinoxylane) (Res et al., 2006)

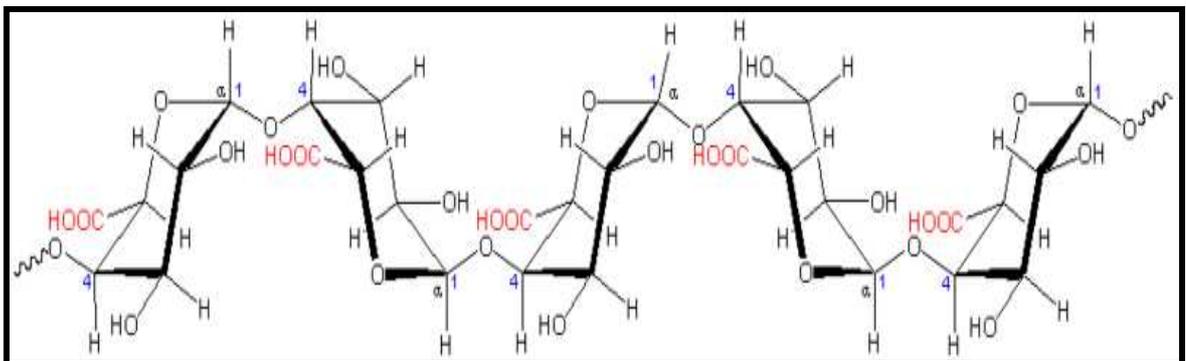


Figure n°6 : Structure de la pectine (Bestle et Jouany, 1990)

2.2- Les constituants pariétaux non polysaccharidiques

2.2.1- Les protéines de structure

Les parois primaires contiennent de 5-10% de glycoprotéines (dénommées **extensines**) riches en hydroxyproline.

Les unités constitutives caractéristiques de l'extensines sont des chaînes polypeptidiques qui, outre l'hydroxyproline, contiennent les acides aminés suivants : sérine, lysine, tyrosine, histidine et histidine. La majorité des molécules d'hydroxyproline portent des chaînes latérales formées de trois ou quatre molécules d'arabinose. (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007 ; Murray, 2008).

On distingue trois classes principales de protéines pariétales : des protéines riches en glycérine (PRG), des protéines riches en proline (PRP) et des protéines riches en hydroxyproline (GRH).

2.2.2- Les composés phénoliques

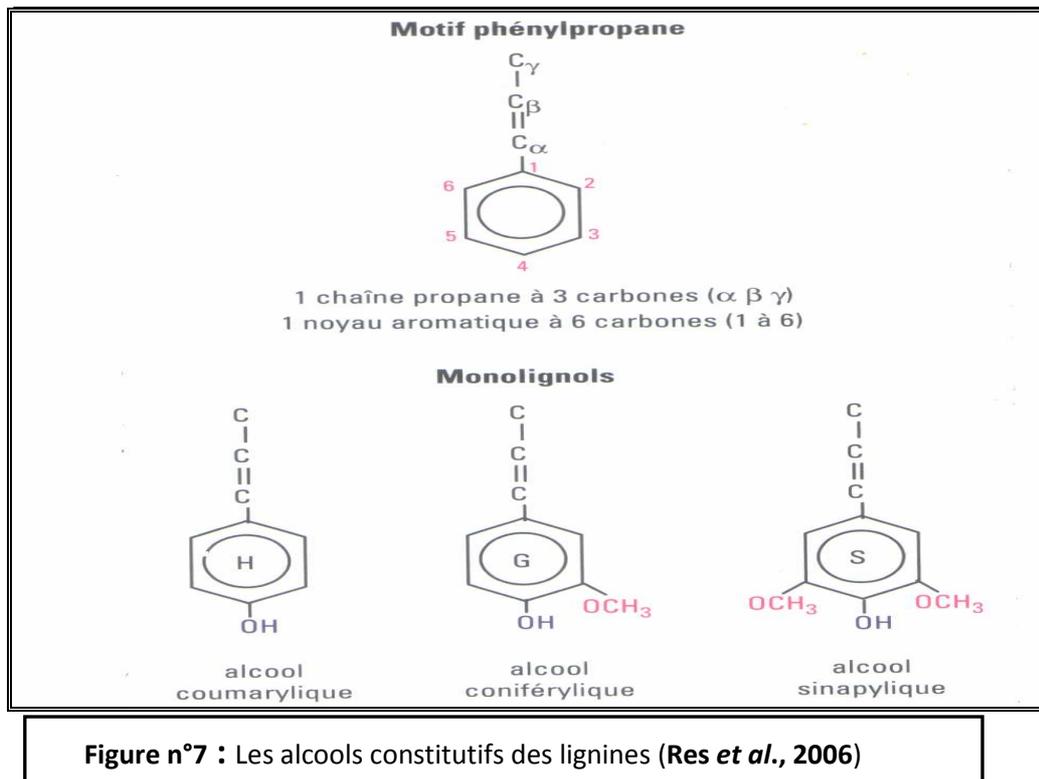
- **La lignine**

Après la cellulose, les lignines constituent le composé organique le plus abondant sur terre. Ils contribuent à former 20% de la biomasse terrestre et 30% du carbone organique de cette biomasse (Res *et al.*, 2006). Elles sont des polymères hautement condensés, formés par la déshydrogénation et la polymérisation de trois alcools à noyaux phénylpropane C₆-C₃ : les alcools trans-p-coumarylique, trans-coniférylique et trans-sinapylique (Sarmi- Manchado and Cleynier, 2006) (figure 7). Elle agit principalement comme une barrière passive en incrustant tout l'espace disponible dans les parois. Elle confère aux parois végétales des propriétés d'imperméabilité et de résistance aux attaques microbiennes et constitue le principal obstacle à la disponibilité des glucides pour les microorganismes (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007)

- **les lipides complexes**

La cutine et la subérine sont des composants structuraux importants de beaucoup de parois cellulaires des tissus protecteurs externes de la plante. La principale fonction de ces lipides est de former une matrice dans laquelle sont enrobées des cires- composés lipidique à longues chaînes hydrophobes. (Raven *et al.*, 2007 ; Murray, 2008).

La lignification, la subérification et la cutinisation sont des contraintes physiques à l'attaque microbienne en limitant l'utilisation de la paroi végétale.



2.3- Les constituants cytoplasmiques (intracellulaires)

2.3.1- Les glucides

Les glucides cytoplasmiques (composés hydrosolubles) contiennent des sucres libres, essentiellement des hexoses (glucose et fructose), des diholosides (saccharose) et des polyholosides de réserve (fructosane et amidon). Du galactose, du raffinose, du mannose, et du xylose sont également présents (Jarrige *et al.*, 1995).

2.3.2- Les constituants azotés

Dans la cellule végétale, les constituants azotés se trouvent soit sous forme des constituants azotés protéiques (75-85% de l'azote total), soit sous forme des constituants azotés non protéiques (15-25% de l'azote total), qui ne sont utilisables par les ruminants qu'une fois transformés en protéines microbiennes (Jarrige *et al.*, 1995)

3-Dégradation des sous produits agroalimentaires par la microflore ruminale

Le rumen est un biotope ouvert, dont les conditions (tableau 1) de milieu favorisent le développement d'une microflore anaérobie extrêmement importante et diversifiées.

3.1- La microflore ruminale

Les communautés microbiennes qui peuplent le biotope digestif des ruminants appartiennent aux trois domaines du vivant : *Archaea*, *Bacteria* et *Eucarya*. Des représentants du monde viral sont également présents. (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

3.1.1- Les bactéries :

La population bactérienne est de loin la plus complexe (plus de 200 espèces), la plus dense (de l'ordre de 10 milliards de bactéries par millilitre du contenu du rumen), elles représentent la moitié de la biomasse microbienne (Jarrige, 1988 ; Fonty *et al.*, 1994).

La majorité est constituée d'anaérobies stricts, mais il existe également des anaérobies facultatifs qui représentent 10^7 - 10^8 cellules/g du contenu du rumen. La taille des bactéries du rumen est généralement de 0.5 à 10 μm . Les bactéries Gram⁻ sont les prédominantes, les Gram⁺ sont ainsi présentes, et joue des rôles très importants (Kamara, 2005).

Les bactéries ruminales ont été classifiées en quatre groupes, en fonction de leur localisation dans le rumen (Fonty et Forano ,1999 ; Guillaume, 2007) :

- **Les bactéries vivant libres, associées à la phase liquide ruminale :** c'est le cas de nombreuses espèces bactériennes fermentaires qui consomment des substrats solubles, et de nombreux protozoaires qui ingèrent des particules alimentaires (Fonty et Forano ,1999).
- **Les bactéries associées avec les particules alimentaires :** à la surface des particules alimentaires se forme ainsi un-**consortium microbien** (biofilm) au sein duquel cohabitent plusieurs espèces de bactéries, de protozoaires et de champignons. (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).
- **Les bactéries associées à l'épithélium ruminal :** sont principalement des anaérobies facultatives Gram⁺, immobiles et utilisent l'oxygène qui arrive dans le rumen via la circulation sanguine (Jouany, 1994 ; Guillaume, 2007).
- **Les bactéries attachées à la surface des protozoaires :** ces bactéries présentent 1-10% de la flore totale du rumen. Le nombre des bactéries fixées sur chaque protozoaire dépend de la taille de ce dernier (Allison *et al.*, 2007).

En plus, les bactéries ont été classées selon leur aptitude à dégrader et à fermenter les substrats en :

Tableau n° 1: Caractéristiques physico-chimiques du rumen (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

Paramètres mesurés	Caractéristiques
pH	5.7-7.3
Potentiel d'oxydoréduction	-0.35V
Température	38-41°C
Osmolarité	< 400 mOsmol.Kg⁻¹
Phase gazeuse, %	CO₂ :65 ; CH₄ : 27 ; N₂ : 7 ; O₂ : 0.6 ; H₂ : 0.2 ; H₂S :
Matière sèche	0.01.
Acides gras volatils (AGV), mM	10-18%.
Acide lactique, mM	Ac, formique, < 0.02 ; Ac. Acétique, 66 ; Ac propionique, 23 ; Ac. Butyrique, 20 ; Ac mineurs (C4-C6), 2
Acide succinique, mM	< 7
Ethanol, mM	0.002 à 0.004
Ammoniaque, mM	Non détectable
Acides amines.	< 92
Minéraux (mg.m⁻¹)	< 48meqM.
Oligoéléments	Na, 1.5-3.0 ; K, 0.6-2.3 ; Ca, 0.1-0.2 ; Mg, 0.1 ; P, 0.3 ; PO₄⁻³, 1.9;HCO₃⁻³,1.3; S, CL, etc. toujours présents
	Fe, Mn, Co, Mo, Zn, Se, etc. toujours présents

• **Les bactéries cellulolytiques**

Les bactéries cellulolytiques apparaissent dans le rumen trois à quatre jours après la naissance de l'animal et leur nombre varie de 10^2 à 10^7 bactéries/ml (Fonty *et al.*, 1988 a)

Deux types de bactéries cellulolytiques sont trouvés dans le rumen :

- **Des coques** : représenté par *Ruminococcus flavefaciens* et *Ruminococcus albus*. Toutes les souches de *R. flavefaciens* et *R. albus* dégradant la cellulose, le cellobiose et le xylane (Guillaume, 2007 ; Graham and Malcolm, 1979).

- **Des bacilles** : parmi lesquelles sont majoritairement isolées *Fibrobacter succinogenes* et *Butyrivibrio fibrosolvens*

La plupart des bactéries cellulolytiques du rumen produisent des enzymes capables d'hydrolyser les hémicelluloses. Il semble que *Butyrivibrio fibrosolvens* est l'élément essentiel de la dégradation des hémicelluloses (Williams and Withers ,1981)

• **Les bactéries pectinolytiques**

La bactérie pectinolytique par excellence est *Lachnospira multiparus* qui se présente sous la forme de bacilles incurvés Gram positif, d'autres bactéries pectinolytiques comprenant : *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Streptococcus bovis* et *Succinovibrio dextrinosolvens* (Jouany, 1994)

• **Les bactéries amylolytiques**

Un certain nombre des bactéries cellulolytiques ruminales sont également amylolytiques. Les espèces non cellulolytiques – *S.bovis*, *R. amylophylus*, *P. ruminicola*, *S. amylolytica* et *S. ruminantium*-comprennent de nombreuses souches dégradant l'amidon. (Guillaume, 2007)

• **Les bactéries utilisatrices de glucides simples**

Au sein de la microflore ruminale, un nombre important d'espèces bactériennes sont capables de dégrader les glucides simples. Chez les animaux recevant de grandes quantités de glucides rapidement fermentescibles, les lactobacilles prolifèrent souvent, en compagnie de *S.bovis*, créant ainsi des conditions de milieu très acides (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

- **Les bactéries utilisatrices d'acides**

Au sein des bactéries ruminales utilisatrices d'acides, un certain nombre d'entre elle est capable d'utiliser le lactate. Le pH optimum de fermentation du lactate est, pour la plupart des bactéries lacticoles, compris entre 6 et 6.5. Seules *M. elsdenii* continue son activité detoxifiante pour des pH inférieurs à 5.5. L'acétate est probablement le produit majeur (Guillaume, 2007).

- **Les bactéries protéolytiques**

Près de la moitié (entre 30 et 50%) du total des bactéries viables isolées du rumen peuvent être protéolytiques. L'activité protéolytique de la flore du rumen, qui est au final très faible en dépit de son importance dans la nutrition, est donc due à l'activité d'un grand nombre d'espèces présentant une activité faible (Wallace and Cotta, 1988)

- **Les bactéries lipolytiques**

Un certain nombre de bactéries ruminales impliquées dans l'utilisation des lipides présents dans le rumen. *Anaerovibrio lipolytica* est la bactérie la mieux connue pour son activité lipasique (Guillaume, 2007).

- **Les bactéries uréolytiques**

Selon Wallace et Cotta (1988), deux groupes bactériens se partageaient l'activité uréolytiques. Tout d'abord, une population nombreuse d'anaérobies stricts avec une activité uréasique faible : *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, *Succinivibrio*. D'autre part, on trouverait également une population nettement plus faible d'anaérobies facultatifs et beaucoup plus spécifiquement uréolytiques : *Streptococcus*, *Staphylococcus* et *Corynebacterium* (Griswoold and Mackie, 1997).

- **Les bactéries de grande taille**

Celles-ci ne sont pas isolées par des méthodes de culture, mais sont fréquemment détectées lors d'examen au microscope du contenu ruminal. Les principaux organismes détectés sont notamment *Oscillospira guillermondi*, les ovales d'Etadie ou encore les ovales de Quin. Elles n'ont été que peu ou pas étudiées en culture pure, leur fonction et leur métabolisme sont donc mal connus (Guillaume, 2007).

Tableau n° 2: Quelques caractéristiques de bactéries rencontrées dans le rumen (Keijji and Soichi, 1981 ; Patterson, 1992)

Type de Gram et morphologie	Genre	Espèce	Forme et dimensions	Type de substrat dégradé
Cocci Gram ⁻	<i>Veillonella</i>	<i>V. parvula</i>	Cocci de 0.3-0.5 μm de diamètre ; isolé, en diplocoques ou en chaînes courtes	Utilisatrice des acides (lactate)
	<i>Megasphaera</i>	<i>M. elsdenii</i>	Cocci de 2.5-3.0 μm de diamètre, isolés, en paires ou occasionnellement en chaînes.	Utilisatrice des acides (lactate) et hydrolyse l'urée
	<i>Lampropedia</i>	<i>L. hyalina</i>	Se présente sous forme de feuillets de 0.8-1.0 μm de diamètre	nd
	<i>Oscillospira</i>	<i>O. guillermondi</i>	Bactéries larges de 5.0-9.0 μm de diamètre.	nd
Cocci Gram ⁺	<i>Ruminococcus</i>	<i>R. albus</i> <i>R. flavefaciens</i>	Cocci sphérique de dimensions : 0.8-1.5 \times 0.7-1.8 μm ; isolés, en paires ou en chaînes.	Cellulose et hémicellulose
	<i>Streptococcus</i>	<i>S. bovis</i>	Cellules sphériques ou ovoïdes ; de 0.5-2.0 μm en paires ou en chaînes.	Amidon, Pectine, Sucres
	<i>Sarcina</i>	<i>S. ventriculi</i>	Cocci sphériques de 1.8-2.4 μm en paires ou en tétrades	nd
	<i>Methanosarcina</i>	<i>M. barkeri</i>	Cocci sphériques de 4-10 μm ; isolés ou en agrégat.	CO ₂ , H ₂ , Formate (<i>Archea</i> méthanogènes)
Bacilles Gram ⁻	<i>Anaerovibrio</i>	<i>A. lipolytica</i>	Bacilles légèrement incurvés , 1.2-1.8 μm de long.	Lipides

	<i>Prevotella</i>	<i>P. ruminicola</i>	Bacilles de $0.1-1.0 \times 0.8-8.0 \mu\text{m}$; isolés ou en courtes chaînes	Hémicellulose, protéines, amidon
	<i>Butyrivibrio</i>	<i>B. fibrisolvens</i>	Bacilles incurvés , dimensions : $0.4-0.6 \times 2.5 \mu\text{m}$	Cellulose, hémicellulose, amidon
	<i>Lachnospira</i>	<i>L. multiparus</i>	Bacilles incurvés , dimensions : $0.4-0.6 \times 2.0-4.0 \mu\text{m}$	Pectine
	<i>Fibrobacter</i>	<i>F. succinogenes</i>	Bacilles ovoïdes, isolés : $0.4-0.8 \times 0.8-2.0 \mu\text{m}$ ou en chaînes courtes et même sous forme de rosettes.	Cellulose. amidon
	<i>Selenomonas</i>	<i>S. ruminantium</i> <i>S. lactilytica</i>	Bacilles incurvés , $0.9-1.1 \times 1.0-3.0 \mu\text{m}$; isolés ou en courtes chaînes	Amidon, sucres. lactate
	<i>Ruminobacter</i>	<i>R. amylophilus</i>	Bacilles ovales ou courts : $0.9-1.2 \times 1.0-3.0 \mu\text{m}$	Amidon, protéines
	<i>Vibrio</i>	<i>V. succinogenes</i>	Bacilles incurvés, en hélice ou droits : $0.5-1.0 \times 2-6 \mu\text{m}$	Acides
	<i>Treponema</i>	<i>T. bryanii</i>	Bactéries sous forme d'une hélice avec un diamètre de $3.0-6.0 \mu\text{m}$	Sucres, pectine et amidon
	<i>Clostridium</i>	<i>A. cellobioparum</i> <i>C. lochheadii</i>	Bacilles de $0.3-2.0 \times 1.2-2.5 \mu\text{m}$	Cellulose
Bacilles Gram⁺	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. ruminis</i> <i>L. vitulinus</i> <i>L. acidophilus</i>	Cellules de formes bacillaires régulières : $0.5-0.7 \mu\text{m}$ de diamètre	Amidon et sucres

	<i>Eubacterium</i>	<i>E. cellulosolvans</i> <i>E. xylanophilum</i> <i>E. uniformis</i>	Bacilles longs, en paires, en chaînes ou séparés : 0.2-2.0 × 0.3-10 μm	Cellulose, hémicellulose.
	<i>Succinovibrio</i>	<i>S. dextrinosolvans</i>	Bacilles incurvés ou en hélice , 0.4- 0.6 × 1.0-2.0 μm	Amidon, sucres
	<i>Methanobacterium</i>	<i>M. bryanii</i> <i>M. formicium</i>	Bacilles incurvés , 0.5-1.0 μm de long	CO ₂ , H ₂ , Formate (<i>Archea</i> méthanogènes)
	<i>Methanobrevibacter</i>	<i>M. ruminantium</i>	Bacilles ovales ou bacilles courts, en chaînes ou en paires, 0.6 μm de large ; 0.8-2.0 μm de long.	CO ₂ , H ₂ , Formate (<i>Archea</i> méthanogènes)

nd : non déterminé

En outre, les potentialités des bactéries permettent de les répartir en groupes fonctionnels. On distingue : les espèces hydrolytiques capables de dépolymériser les substances complexes (polyholosides, protéines, lipides, etc.), les *espèces fermentatives* utilisant les molécules simples (oses, acides aminés, acide organiques) et les *espèces hydrogénotrophes* qui tirent leur énergie de la réduction d'un accepteur d'électrons (CO_2 , SO_4^{2-}) par l'hydrogène. Ces grands groupes sont organisés en chaînes trophiques (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

- **Les Archaea (bactéries méthanogènes)**

Il s'agit de bactéries anaérobies strictes, représentant environ 4% des microorganismes ruminants (Demeyer et Fievez, 2000). Des études, basées sur la culture ou sur l'analyse moléculaire, ont montré que les méthanogènes ruminants les plus communément isolés appartiennent à la famille des *Methanobacteriaceae* (Tokua *et al.*, 1999). Il s'agit fréquemment d'espèces appartenant au genre *Methanobrevibacter*. D'autres méthanogènes appartenant à la famille des *Methanomicrobiaceae* ont été isolés chez des bovins et des ovins. Tandis que les Méthanogènes de la famille *Methanosarcinaceae* ont été trouvés chez les caprins et les ovins. Il s'agit de *Methanosarcina barkeri*. (Demeyer et Fievez, 2000).

Les *Archaea* occupent différentes localisations dans le rumen. On les trouve dans la phase liquide du contenu digestif mais beaucoup sont fixées sur les protozoaires ciliés sur les particules alimentaires, ainsi que sur l'épithélium ruminal (Tokua *et al.*, 1999).

3.1.2- Les protozoaires

Les protozoaires sont des organismes eucaryotes unicellulaires, mobiles, dont on distingue deux types : les flagellés et les ciliés. Les ciliés représentent environ la moitié de la biomasse microbienne avec une concentration varie de 10^4 à 10^6 cellules /ml. La concentration des flagellés est plus faible (10^3 à 10^4 /ml) et leur rôle est mal connu (Jouany and Ushida, 1988).

Les ciliés dont la taille est importante (50 à 300µm) (Kamara, 2005), sont divisés en deux groupes : Les holotriches, dont on distingue les genres *Isotricha* et *Dasytricha*, et les entodiniomorphes. Les ciliés sont 20 à 100 fois plus grands en taille que les bactéries mais ils sont 10^4 fois moins nombreux

Ils sont soit fixés sur les particules alimentaires soit libres. Les Holotriches utilisent essentiellement les glucides solubles, tandis que peu d'entodiniomorphes en sont capables. (Ushida and Jouany, 1985). Les ciliés ont la capacité d'ingérer l'amidon sous forme de

granules, ceci est essentiellement le fait d'*Isotricha*. Ce qui contribue à limiter la chute de pH liée à la dégradation de l'amidon (Jouany and Ushida, 1988).

Parmi les protozoaires ciliés modérément cellulotiques, on note : *Eudiplodinium maggu*, *Epidinium eaudatum*, *Ostracodinium bovis*, *Orphrysclex caudatus* et *Polyplastron multivisculatum*. *Diplodinium pentacanthum* est considéré comme faiblement cellulolytique (Fonty et Forano, 1999).

10% de l'activité protéolytique et 30 à 40% de la fonction lipolytique est assurées par les protozoaires ciliés (Ushida and Jouany, 1985).

3.1.3 Les champignons

Leur concentration est estimée à 10^3 et 10^5 zoospores /ml, soit environ 10% de la biomasse microbienne (Fonty *et al.*, 1988b).

Ce sont des zoospores flagellés qui sont soit mono flagellés (*Neocallimastix* et *Piromyces*) soit pluri flagellés (*Caecomyces*)

Comme les bactéries cellulolytiques, les champignons apparaissent dans le rumen des animaux quelques jours seulement après la naissance.

Les Champignons possèdent des activités hydrolytiques à l'égard de nombreux polymères structuraux (cellulose, hémicelluloses, pectine) (Grenet, 1997 ; Baucop, 1981).

Les champignons semblent, en outre, capable de solubiliser *in vitro* une petite partie de la lignine des lignocelluloses pariétales mais ils n'utilisent pas ce composé comme source d'énergie (Akin and Benner, 1988).

3.1.4- Les bactériophages

Une activité lytique a été mise en évidence à l'égard de *Streptococcus bovis*, *Bifidobacterium thermophilum* et des Eadies oval. Des phages filamenteux tempérés ont été mis en évidence dans diverses souches de *Butyrivibrio fibrisolvens*. (Klieve *et al.*, 1989).

3.2- Dégradation des sous produits agroalimentaires

Le processus de fermentation des polymères pariétaux fait intervenir plusieurs groupes microbiens fonctionnels, organisés en chaîne trophique pour une efficacité maximale.

3.2.1- Dégradation de la cellulose

Il est estimé que les bactéries et les champignons contribuent approximativement à 80% de l'activité de dégradation et les protozoaires à 20% (Forano *et al.*, 1996)

Aussi bien chez les champignons que chez les bactéries, l'hydrolyse de la cellulose est réalisée par l'action synergique des cellulases, classées en trois groupes :

- ✓ Les endoglucanases : enzyme hydrolyse au hasard les liaisons à l'intérieur des chaînes
- ✓ Les exoglucanases : réalisent une dissociation d'unités de cellobiose à partir de l'extrémité non réductrice de la chaîne.
- ✓ Les B-glucosidases (cellobiases) : scindant le cellobiose en deux glucose (Morrison, 1979 ; Tomme *et al.*, 1995).

Les cellulases produites par les bactéries cellulolytiques sont plus actives à pH 6.0 et 6.8, alors que le pH d'activité pour les enzymes fongiques se situe entre 5.5 et 7 (Bernalier *et al.*, 1992).

3.2.2- Dégradation de l'hémicellulose et de la pectine

De même, les hémicelluloses sont hydrolysées par trois groupes d'enzymes : les endoxylanases, les exoxylanases et les B-xylosidases (Forano *et al.*, 1996). Mais dans ce cas, des enzymes débranchantes de type estérase est nécessaires pour rompre les liaisons entre la lignine et les hémicelluloses, rendant ces derniers accessibles aux xylanases (Williams and Withers, 1981).

D'autre part, La dégradation des substances pectiques nécessite des enzymes pectinolytiques qui sont divisées en deux principaux groupes:

- ✓ Les enzymes désestérifiantes (pectine-estérases) qui hydrolyse les liaisons esters méthyliques en libérant du méthanol.
- ✓ Les enzymes dépolymérisantes, qui sont soit des hydrolases, soit des lyases (Guillaume, 2007).

3.2.3- Dégradation de l'amidon

La dégradation de l'amidon n'est pas liée seulement à l'existence du rumen, comme celle de la cellulose, car elle peut s'effectuer par des enzymes propres de l'organisme (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007). Au contraire des protozoaires, les bactéries amylolytiques sont trop petites pour ingérer les grains d'amidon. Les bactéries doivent sécréter des amylases afin

d'hydrolyser l'amidon en malto-oligomères qui peuvent être transporté à l'intérieur de la cellule. L'hydrolyse de l'amidon aboutit à la formation de dextrines, maltose et glucose (Chevalier, 2001).

3.2.4- Dégradation des protéines

Le processus débute par l'hydrolyse des protéines en peptides, se poursuit par la dégradation des peptides par les exopeptidases en acides aminés qui sont, pour certains, directement incorporés dans les protéines microbiennes, mais la plupart sont désaminés par des espèces bactériennes spécifiques avec production d'ammoniaque (Fonty *et al.*, 1994 ; Griswoold and Mackie, 1997) qui est essentielle pour la nutrition azoté des microorganismes du rumen. Presque 82% des bactéries du rumen peuvent se développer uniquement avec l'ammoniac comme source d'azote (Bergen, 1977).

3.2.5- Dégradation des lipides

Les lipides alimentaires sont d'abord hydrolyser par les microorganismes pour donner des acides gras et du glycérol. Ce dernier est ensuite métabolisé en acide propionique et en butyrate. Après hydrolyse, une partie des acides gras est absorbée sur les membranes microbiennes. Les bactéries peuvent alors soit les stocker en tant qu'acides gras libres ou les incorporer dans des structures cellulaires en tant que phospholipides. (Cuvelier *et al.*, 2005).

3.2.6- Les métabolismes hydrogénotrophes

Bien que l'hydrogène soit formé en quantité considérables, il ne s'accumule pas et n'est toujours retrouvé qu'en concentration très faibles. Il est, en effet, utilisé comme donneur d'électron au fur et à mesure de sa production par la communauté microbienne hydrogénotrophes. La méthanogénèse et l'acétogénèse sont les métabolismes dominants (Fonty and Morvan, 1996).

▪ **La méthanogénèse** : elle correspond à la réduction du CO₂ par H₂ pour former du méthane selon l'équation :



▪ **L'acétogénèse réductrice** : c'est une voie particulière de biosynthèse de l'acétate correspondant à la réduction de deux moles de CO₂ par 4 moles d' H₂ (Demeyer and Fievez, 2000 ; Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

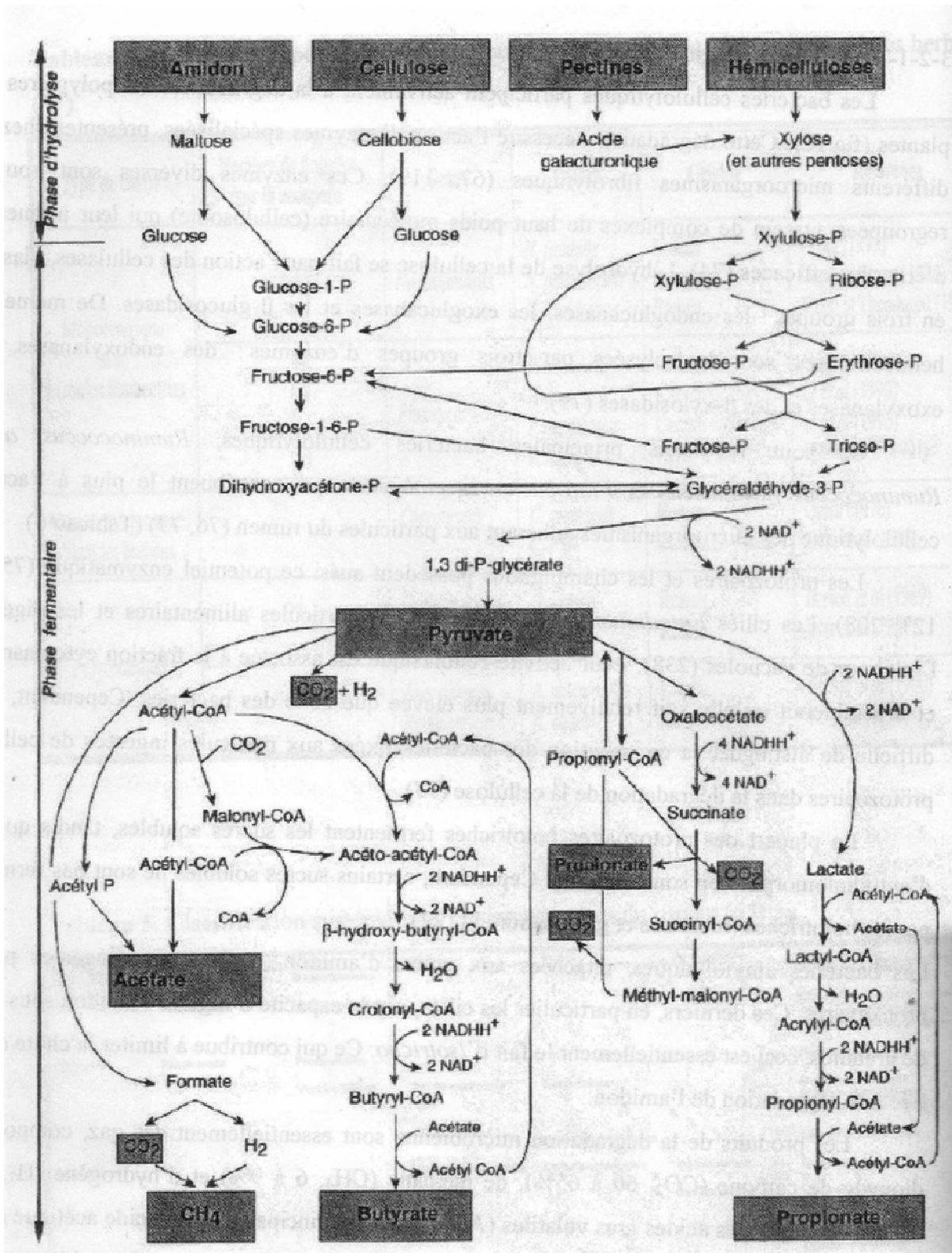


Figure n° 8 : Voies du métabolisme des glucides dans le rumen (Jouanv. 1994)

Tableau n° 3: Glycosyl hydrolases identifiées chez certaines espèces microbiennes ruminales cultivables (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007)

Espèce microbienne	Endocellulase	Exocellulase	B-glucosidase	Endoxylanase	B-xylosidase	Lichenase	Mannanase
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	×		×	×	×		
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	×			×		×	
<i>Ruminococcus albus</i>	×		×	×			
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	×			×			
<i>Neocallimastix frontalis</i>	×			×			
<i>Neocallimastix patriciarum</i>	×	×		×			
<i>Orpinomyces joyonii</i>	×	×					
<i>Piromyces rhizinflata</i>	×	×	×				
<i>Prevotella ruminocola</i>	×			×	×		×

3.3 - Bioconversion ou neutralisation de quelques substances antinutritionnelles

- **Les tanins**

C'était la première fois quand Brooker *et al.*, 1994 ont isolé une Gram négative anaérobie facultative qui pourrait se développer dans un milieu contenant 2.5% d'acides tannique. La bactérie a été nommée *Streptococcus caprinus*. Elle n'était pas une espèce majeure du rumen mais elle peut être présente à une densité de 2×10^6 par ml. En plus de *Streptococcus caprinus*, autres espèces résistantes ont été détectées au cours de différentes études :

Streptococcus gallolyticus, *Selenomonas ruminantium*, *Butyrivibrio sp*, *Lactobacillus sp* (Kamara, 2005)

- **La mimosine**

Un autre exemple significatif de bioconversion de molécules toxiques par la flore ruminale est celui de *Synergistes jonesii*, espèce bactérienne ruminale, capable de métaboliser la mimosine et son dérivé, la 3,4 dihydroxypyridine (DHP). La mimosine est une molécule entrant dans la composition chimique de certaines plantes tropicales, et qui possède une toxicité importante pour les animaux de ces régions. (Mc Sweeney *et al.*, 1993 ; Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

- **Les mycotoxines**

Dans le rumen, les protozoaires et certaines espèces bactériennes autochtones (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Selenomonas ruminantium*, *Anaerovibrio lipolytica*) sont capable, tout du moins *in vitro*, de dégrader certaines mycotoxines (ochratoxine A, deoxynivalenol, trichothecenes, zeralenone) produites par des Champignons contaminants les aliments consommés par les ruminants. Outre leur rôle potentiellement toxique pour l'animal lui-même, elles peuvent se retrouver dans le lait et les tissus animaux comestible et peuvent s'avérer très dangereuse pour la santé de l'homme (Boudra *et al.*, 2002 : Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

- **Nitrate-nitrite**

Certaines plantes comme l'avoine, l'orge et le blé accumulent le nitrate à des concentrations peuvent être fatal pour l'animal. Le nitrate ingéré va être métabolisé en nitrite, ce dernier est rapidement absorbé par le sang et provoque, par la suite, l'oxydation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine, qui réduit la capacité de transport des globules rouges. Les bactéries adaptées au nitrate sont : *Selenomonas sp*, *Anaerovibrio sp*. (Kamara, 2005).

3.4- Les interactions microbiennes dans le rumen

Ces interactions conditionnent également la nature des métabolites terminaux des fermentations dont le ruminant est dépendant dans sa nourriture.

Tableau n° 4 : Exemple d'interactions microbiennes au sein de l'écosystème ruminal
(Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

Type d'interaction	Définition	Exemple observés dans le rumen
Mutualisme	Les deux partenaires en tirent profit	Transfert interspécies d'H ₂
Synergisme	Les deux partenaires en tirent profit	Nutrition croisée : métabolisme des acides aminés, des cellodextrines
Antagonisme	Un ou les deux partenaire(s) souffre(nt)	/
Compétition	Dépendance des deux espèces pour un nutriment induisant une limitation mutuelle	Dégradation de la cellulose par <i>Ruminococcus albus</i> , <i>R. flavefacient</i> et <i>Fibrobacter succinogens</i>
Amensalisme	Suppression d'une espèce par un agent toxique produit par une autre espèce	Production des bactériocines
Prédation	Ingestion d'une espèce par une autre espèce	Ingestion des bactéries par des protozoaires
Parasitisme	Dérivation de nutriments des cellules d'une espèce au profit d'une autre espèce	/

3.4.1- Les interactions entre espèces bactériennes

• Nutrition croisée ou complémentarité nutritionnelle

Un exemple est illustré par la dépendance des bactéries cellulolytiques ruminales vis-à-vis d'espèces bactériennes protéolytiques. La satisfaction des besoins des bactéries cellulolytiques en ammoniacque qu'elles utilisent comme source préférentiel d'azote, et en acides gras à chaîne courte dépend de l'activité des espèces protéolytiques et uéolytiques; en retour les bactéries cellulolytiques fournissent aux protéolytiques les oses fermentescibles nécessaires à leur croissance. (Fonty et Forano, 1999).

• **Production d'acide propionique**

De nombreuses espèces produisent du succinate ou du lactate alors que ces deux acides ne sont, dans les conditions normales d'alimentation, présents qu'à l'état de traces voire absent dans le rumen. Dans l'écosystème ruminal, ces deux métabolites sont, en effet, utilisés comme source de carbone et d'énergie par des espèces bactériennes spécifiques qui les transforment en acide propionique en raison du rôle de ce dernier dans la néoglucogénèse (Fonty *et al.*, 1986 ; Fonty *et al.*, 1994)

• **Transfert inter espèces d'hydrogène**

Le mécanisme de transfert d'H₂ et ses conséquences est bien illustré par l'interaction entre *R. albus* et les *Archea* méthanogènes. En l'absence d'utilisateurs d'H₂, le métabolisme de bactérie cellulolytique est dévié vers la production de composés réduits (lactate, éthanol, succinate, butyrate). En présence d'utilisateurs d'H₂, le métabolisme est dévié vers la production d'acétate. Les deux partenaires profitent de cette interaction puisque *R. albus* gagne une molécule d'ATP par mole d'hexose fermentée au cours de la méthanogénèse (Wolin et Miller, 1988). Dans le rumen, un transfert interspécies d'hydrogène existe également entre cilié et *Archea* où les méthanogènes vivent fixées sur les cellules de protozoaires (Krumholz *et al.*, 1983).

• **Compétition entre espèces cellulolytiques**

Les principales espèces cellulolytiques du rumen requièrent, pour être efficace, un contact physique avec le substrat. Par ailleurs, des phénomènes de compétition pour les sites d'adhésion à la cellulose ont été décrits *in vitro* entre *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens* ou *Fibrobacter succinogenes* (Mosoni *et al.*, 1997). Ces espèces pourraient interagir entre elles, probablement via la production de bactériocines, en particulier lorsqu'elles se trouvent en conditions nutritionnelles limitantes (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

3 .4. 2- Les interactions bactéries-protozoaires (interaction de type prédateur-proie)

Les protozoaires sont capables d'ingérer des bactéries à des taux pouvant atteindre 105 cellules bactériennes par protozoaires / heure. Il semble que les protozoaires soient capables de trier sélectivement les espèces qu'ils vont ingérer ; les bactéries qui sont digérées dans les vacuoles cytoplasmiques, constituent pour ceux-ci la principale source d'azote (Krumholz *et al.*, 1983).

La prédation à l'encontre des bactéries contribue au recyclage d'azote et de carbone dans l'écosystème ruminal. Ce phénomène contribue également à la régulation des populations bactériennes (Fonty *et al.*, 1986).

3.4.3- Les interactions bactéries-champignons

Les champignons anaérobies du rumen sont fortement producteurs d'hydrogène et vont interagir avec les bactéries hydrogénotrophes. Le lactate produit par tout les espèces de champignons n'est plus retrouvé dans leurs co-culture avec une souche se *Selenomonas ruminantium* (Burk and Turabasso, 2000 ; Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

Les champignons du rumen interagissent également avec les bactéries cellulolytiques. Les cocultures de *N. frontalis* avec *R. albus* ou *R. flavefaciens* sont moins efficaces dans la dégradation de la cellulose que la monoculture fongique. (Bernalier *et al.*, 1991 ; Bernalier *et al.*, 1993).

3.4.4-Les interactions protozoaires-champignons

Des études récentes montrent que la taille des populations fongiques est affectée par les activités des protozoaires. Des protozoaires sont souvent observés sur le matériel végétal au niveau des sites de fixation des sporocystes matures des champignons, ce qui laisse supposer qu'ils peuvent se nourrir de zoospores lorsque celles-ci sont libérées. Bien qu'il n'existe pas de preuve directe de la prédation des zoospores fongiques par les protozoaires, il a été montré que le nombre de zoospores dans le rumen est augmenté chez les animaux défaunés (Fonty and Joblin, 1991).

4- Les techniques d'estimation de la valeur nutritive des aliments

L'évaluation de la valeur nutritive des aliments fournit aux nutritionnistes les informations nécessaires pour la formulation d'une ration qui tient en compte à la fois l'aspect physiologique et économique. Dans l'évaluation des aliments pour ruminants, différentes méthodes sont couramment disponibles et elles peuvent être subdivisées en deux grandes catégories : les méthodes n'utilisant pas les microorganismes (chimiques, physiques et enzymatique) et les méthodes basées sur l'utilisation des microorganismes (les méthodes microbiologiques).

4.1- Les méthodes chimiques

La méthode chimique est la méthode la plus simple pour évaluer les fourrages. L'analyse approximative divise le substrat en six fractions : la matière sèche, la matière minérale, les protéines brutes, l'extrait éthéré, les fibres brutes et l'azote libre.

Le procédé proposé par Van Soest and Wine (1967) pour l'estimation des fibres est maintenant le plus utilisé et le plus fiable. Il a été développé pour déterminer à la fois les composants cellulaires et les composants pariétaux, principalement présents dans le matériel végétal comme

- ✚ L'**NDF** (fraction fibreuse non soluble dans le détergent neutre), donne une estime assez précise de la fibre totale d'un aliment..
- ✚ L'**ADF** (fraction fibreuse non soluble dans le détergent acide) correspond au complexe composé de lignine qui se dépose sur la cellulose (lignocellulose) (Ampuero, 2008)

En soustrayant l'ADF du NDF nous estimons l'hémicellulose et par un traitement du résidu ADF à l'acide sulfurique 72% suivi d'une calcination nous pouvons donner la lignine brute (**ADL**). (Sauvant and Michalet-Doreau, 1988).

4.2- Les méthodes physiques

La spectrophotométrie à réflectance dans l'infrarouge (NIRS) est une méthode analytique physique repose sur l'étude des spectres de réflectance (c'est-à-dire l'émission de radiation par la substance étudiée, lorsqu'elle est soumise aux rayons infrarouges sous différentes longueurs d'ondes). Cette méthode, développée par Norris et *al.*, 1967 a été largement utilisée dans la prédiction de la digestibilité *in vitro* de la matière organique et de l'énergie métabolisable.

D'autres méthodes physiques se basent sur l'énergie nécessaire au broyage, elle s'appelle indice de fibrosité. Elle peut donner une meilleure prévision de la digestibilité que celle de la cellulose brute ou de l'NDF (Arhab, 2007).

4.3- Les méthodes enzymatiques

La prévision de la digestibilité des fourrages a été réalisée depuis 1963 (Donefer *et al.* 1963.), s'étaient avec un mélange d'enzymes qui attaquaient la cellulose, l'hémicellulose, les protéines et l'amidon, l'action de ce mélange est comparable à celle de la flore ruminale mais avec une intensité faible. La digestibilité des aliments est mesurée par le résidu qui reste après 24 heures d'incubation dans un milieu tamponné. Ces méthodes sont simple, peu couteuses et

elles pallient à l'inconvénient majeur des méthodes *in vitro* et *in situ* (nécessité d'utiliser des animaux munis de fistules) (Arhab, 2007)

4.4- Les méthodes microbiologiques

Parmi les méthodes microbiologiques couramment disponibles pour déterminer la valeur nutritive des aliments pour ruminants, nous considérons :

❖ **La technique de digestibilité *in vitro*** de Tilley et Terry, 1963 : Elle comprend deux étapes, représentant la digestion ruminale et intestinale. Le substrat subit, en premier lieu, une fermentation anaérobie dans une salive artificielle composée de jus de rumen et d'une solution tampon. Après, il est soumis à un traitement pepsine-acide pour digérer le substrat non dégradé et les protéines microbiennes.

❖ **La méthode *in sacco***, appelée aussi la méthode des sachets ou *in situ*, est basée sur le dépôt des échantillons dans des sachets qui sont incubés directement dans le rumen des animaux munis d'une canule ruminale. L'objectif principal est la mesure de la disparition de la matière sèche ou d'autres composants alimentaires (protéines, fibres, amidon...) (Arhab, 2007)

❖ **Les méthodes de production de gaz *in vitro***

L'association entre la fermentation ruminale et la production de gaz est depuis longtemps connue. Quand un substrat est incubé *in vitro* en présence de jus de rumen et d'une solution tampon, les glucides sont fermentés en acides gras volatiles, en gaz (essentiellement CO₂ et CH₄) et en biomasse microbienne. La production de gaz est fondamentalement le résultat de la fermentation des glucides en acétate, propionate et butyrate. Les gaz générés dans les essais de production de gaz sont originaires de la fermentation des aliments par la flore ruminale (production directe) et des gaz libérés (CO₂) par le système tampon pour neutraliser les acides gras (production indirecte).

L'histoire des techniques de mesure des gaz fermentaires débute en 1943 par **Quin** qui a incubé des flacons dans des flacons étanches et a mesuré la production du gaz manométriquement. Afin de simplifier la mesure du gaz par la manométrie, O'hara *et al.* (1974) avaient utilisé une technique décrite par El-Shazly et Hungate (1965), dans laquelle la production de gaz a été mesurée au moyen d'une seringue fixée à un flacon où le substrat a été fermenté (Williams, 2000).

En 1979, Menke *et al* ont développé un système d'évaluation des aliments (**essai de Hohenheim**) basé, sur la mesure du volume de gaz produit *in vitro*. Les fermentations ont lieu

dans des seringues en verre (100 ml de capacité) contenant l'aliment et le mélange de jus de rumen et de solution tampon de sorte que le gaz produit pousse le piston à l'extérieur et le volume de gaz produit est enregistré.

Une nouvelle méthode, qui consiste en l'utilisation d'un capteur de pression pour mesurer le gaz cumulé dans les systèmes batch (flacons en verre de 125ml de capacité), contenant également le substrat et le mélange composé du jus de rumen et la solution tampon. L'enregistrement de la pression est effectué soit manuellement, comme décrit par Theodorou *et al*, 1993, soit automatiquement par Pell and Schofield (1993), de l'université de Cornell aux Etats Unis, qui ont décrit pour la première fois l'utilisation des sondes de pression automatisées pour mesurer le gaz produit dans les flacons en verre (Williams, 2000).

Cone *et al.*, 1996 ont décrit ce que l'on appelle « un nouvel appareillage entièrement automatisé relie la production de gaz au temps » (a new fully automated time-related gas-production apparatus) développé à ID-DLO, Lelystad, en Hollande. Cet appareil emploie une combinaison d'un capteur de pression et d'une valve électrique pour chaque bouteille. Pendant la fermentation, chaque valve en solénoïde s'ouvre pour libérer le gaz accumulé quand la sonde de pression enregistre une pression de gaz précise et connue. Le nombre d'envoi et le temps de chaque envoi pour chaque flacon sont enregistrés automatiquement par un ordinateur et sont employés pour tracer des profils cumulatifs de gaz (Williams, 2000). Une des limitations de l'utilisation de cette technique pour l'évaluation des fourrages restera le manque de l'uniformité dans la méthodologie, ce qui rend la comparaison des résultats très difficile. Il serait par ainsi possible de standardiser la technique en ce qui concerne le type de milieu utilisé, le temps de la collecte de l'inoculum et le régime des animaux donneurs.



***MATERIEL
ET METHODES***

1-Matériel

1.1 - Matériel végétal

Notre étude porte sur deux types de substrats :

- Trois sous produits issus de l'industrie agroalimentaire représentés par :
 - Résidus d'oranges : sont prélevés de la station de transformation et de commercialisation des agrumes (ENAJUC de SKIKDA).
 - Résidus de pommes et résidus de tomates : sont prélevés au niveau de la fabrique de conserverie des fruits
- Des fourrages naturels fibreux : représentés par le foin, la paille d'orge, les chrysanthèmes (*Chrysanthemum coronarium*) et les cardes (*Sylibum marianum*).

Au laboratoire les substrats sont séchés et broyés en particules homogènes au moyen d'un broyeur électrique.

1.2 - Matériel animal

Les animaux utilisés pour le prélèvement du jus de rumen sont des dromadaires qui proviennent de la région du sud, ces animaux ont un régime libre non défini et sont sacrifiés à l'abattoir dans la wilaya de SETIF. Le liquide ruminal est collecté le matin immédiatement après l'abattage.

2- Analyse des caractéristiques de l'inoculum

2.1- Analyse des caractéristiques physico-chimiques

Le milieu ruminal se distingue par un ensemble de caractéristiques physico-chimiques dont l'effet peut être favorable ou non au fonctionnement du rumen et aux microorganismes qu'il héberge. Le pH, le potentiel d'oxydoréduction, la matière sèche, la matière organique et la matière minérale ont été étudiés sur le contenu ruminal des dromadaires qui ont servi de donneurs de liquide ruminal au cours des différents essais.

2.1.1- Le pH

Le pH est un paramètre habituellement mesuré dans les études nutritionnelles, car il a toujours été considéré comme central pour comprendre les processus de digestion dans le rumen par son influence sur le type et l'intensité des réactions qui s'y déroulent.

Le pH du milieu ruminal est la résultante des productions acides, des tampons salivaires et des tampons propres à la ration (Bonfont, 2008).

Le pH du liquide ruminal est relevé directement après son arrivée au laboratoire à l'aide d'un pH mètre portable à électrode en verre préalablement étalonné.

2.1.2- Le potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel d'oxydoréduction ou potentiel redox (en millivolts) représente la force des systèmes présents échangeant des électrons. On mesure une différence de potentiel (E) entre une électrode inerte qui joue un rôle de donneur ou d'accepteur par rapport au couple redox de la solution et une électrode de référence à hydrogène qui a un potentiel connu et assure la connexion électrique avec le système à mesurer (Bonfont, 2008).Le potentiel d'oxydoréduction est mesuré à l'aide des électrodes spécifiques.

2.1.3- Détermination de la matière sèche (MS)

a- Définition

Elle est déterminée par dessiccation dans une étuve maintenue à 105°C jusqu'à ce que le poids devienne constant (A.O.A.C, 1990). La différence de poids correspond à la perte d'humidité et le résidu caractérise la teneur en matière sèche de l'échantillon. Toutes les analyses sont effectuées en triple.

b- Matériel utilisé

- Etuve réglée à 105°C.
- Boîtes Pétri en verre.
- Un dessiccateur muni d'un agent déshydratant.
- Une balance et une spatule

c- Méthode

Afin de déterminer le taux de la matière sèche, une quantité (5 à 10 g) du liquide ruminal homogénéisé est pesée dans des boîtes de Pétri préalablement séchées et tarées, elles sont par la suite placées dans une étuve maintenue à 105°C pendant 24 heures jusqu'au poids constant.

Après 24 h, les boîtes sont mises dans un dessiccateur pendant au moins une demi-heure pour refroidir dans une atmosphère sèche. La matière sèche (MS) est calculée selon l'expression suivante :

$$\% \text{ MS} = \frac{P_2 - T}{\quad} \times 100$$

Où : P_1 : représente le poids de la boîte de pétri avant séchage (tare + quantité du liquide ruminal fraîche) (g)

P_2 : représente le poids de la boîte de pétri après séchage (tare + résidus) (g)

T : représente le poids de la boîte de pétri vide (tare) (g)

Le taux d'humidité est calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'humidité} = 100 - \% \text{MS}$$

2.1.4 - Détermination de la matière organique (MO) et de la matière minérale (MM)

a- Définition

Lorsque l'échantillon, préalablement séché, est soumis à une incinération à 550°C, la matière organique se consume et la matière résiduelle constitue la matière minérale (A.O.A.C, 1990). Toutes les analyses sont effectuées en triple

b- Matériel utilisé

- Four à moufle
- Creusets en porcelaine.
- Balance de précision et une spatule
- Un dessiccateur muni d'un agent déshydratant

c- Méthode

Une quantité (0.5-1.0 g) de matière sèche déjà obtenue est pesée dans un creuset en porcelaine préalablement taré, celui ci est ensuite mis dans un four à moufle à 550°C pendant 12-18 h. Nous le laissons refroidir à l'intérieur du four avant de le mettre dans le dessiccateur pendant au moins une demi-heure. Le résidu obtenu représente les cendres qui, par différence, donne la matière organique contenue dans l'échantillon. Le pourcentage des cendres est calculé par l'expression suivante :

$$\% \text{Cendres} = \frac{P_3 - T_c}{P_2 - T_c} \times 100$$

Où : P2 : représente le poids du creuset après dessiccation.

P3 : représente le poids du creuset après incinération (tare + cendre).

Tc : représente le poids du creuset vide.

La teneur en matière organique représente le complément à 100 des cendres :

$$\text{MO} = 100 - \text{cendres}$$

2.2- Analyse des caractéristiques microbiologiques de l'inoculum

La flore ruminale est analysée par un examen microscopique de trois types de frottis :

- Frottis du liquide ruminal frais (tel quel) dès son arrivée.
- Frottis du liquide ruminal filtré à travers 2 couches de mousseline.
- Frottis du liquide ruminal mélangé avec la salive artificielle,

Trois lames pour chaque frottis sont étalées, elles sont par la suite soumises à la coloration de Gram des anaérobies selon Kopeloff.

➤ *Réalisation de la coloration de Gram*

a- Les solutions

- Solution de cristal violet alcalin (solution A, constituée de 10 g de cristal violet dans 1000 ml d'eau distillée + solution B, constituée de 50 g de NaHCO₃ dans 1000 ml d'eau distillée)
- Solution d'iodo-ioduré (KI+I).
 - Solution de mélange décolorant (constituée de 300 ml d'alcool acétone + 700 ml d'éthanol 95%)
- Solution de contre colorant « **Safranine** »

b- Procédure de coloration : les étapes suivies sont :

- Faire agir la solution A du cristal violet sur la préparation et ajouter 5 gouttes de la solution B, la durée totale est de 30 secondes.
 - Couvrir le frottis avec la solution du mordant (KI+I) pendant 60 secondes.
 - Rincer à l'eau de robinet (jet réduit) pendant 2-3 secondes.
 - Eponger l'excès d'eau avec un papier buvard propre.
- Décolorer au maximum par le mélange acétone-alcool éthylique pendant 15-20 secondes.
 - Rincer à l'eau.
 - Eponger l'eau en excès.
 - Contre colorer avec la safranine pendant 20 secondes.

- Rincer à l'eau et sécher avant l'observation microscopique.

2.3-Description quantitative et qualitative de la flore ruminal utilisée

Une analyse morphologique a été faite en analysant cinq champs microscopiques au grossissement de 1000 fois, pour chaque lame. Le type de Gram (Gram+, Gram-), les différentes formes bactériennes existantes (cocci isolés, diplocoques, chainettes de cocci, bacilles isolés, chainettes de bacilles, vibrion, rosettes, bactéries larges, feuillettes, tétrades) ont été approximativement déterminées pour obtenir le pourcentage de toutes les formes présentées pour chaque type d'inoculum (liquide ruminal frais, filtré et mélangé avec la salive artificielle).

Le pourcentage de chaque forme est défini comme le nombre de bactéries ayant une forme particulière par rapport au nombre total de bactéries présentes par champ.

3 –Analyse des caractéristiques des différents substrats

3.1- Analyse des caractéristiques physico-chimiques

L'analyse physico-chimique est la façon la plus simple pour évaluer les aliments des ruminants. Dans notre étude elle est basée sur l'étude de la composition chimique de chaque substrat et la détermination de leur capacité tampon seul ou en mélanges.

3.1.1- Composition chimique des substrats étudiés

a- Détermination de la matière sèche, de la matière organique et de la matière minérale(MM)

Elles sont réalisées selon les normes décrites par l'A.O.A.C, 1990 (page 32 ,33)

b- Détermination de la matière azotée totale

L'azote total contenu dans les substrats et celui lié à la fraction pariétale est dosé en suivant la méthode de Kjeldahl, 1992 qui comporte deux étapes : la minéralisation et la distillation.

c- Détermination des composés de la paroi végétale

Le fractionnement des constituants de la paroi végétale est réalisé selon le procédé décrit par Goering et Van-soest, 1970. Cette méthode permet la détermination des trois fractions de fibres insolubles :

La fraction NDF (fraction insoluble dans un détergent neutre): correspond à la teneur en parois totales des substrats (cellulose, hémicellulose et lignine).

La fraction ADF (fraction insoluble dans un détergent acide): cette fraction contient la lignine et la cellulose.

La fraction ADL (fraction insoluble dans l'acide sulfurique 72%): il s'agit de la lignine qui est le résidu de l'attaque par l'acide sulfurique à 72% du résidu ADF.

3.1.2- Détermination de la capacité tampon des différents substrats

a- Définition

La capacité tampon intrinsèque (CT) et le pH initial (pHi) sont deux méthodes originales qui visent à estimer l'acidogénéité intrinsèque des aliments avant toute fermentation (Giger-Reverdin *et al.*, 2002).

Chimiquement, la capacité tampon d'une solution est définie comme le nombre de moles d'acide fort ou de base forte que l'on doit ajouter à 1 litre de solution contenant une quantité connue de substance pour qu'elle subisse une variation d'une unité de pH. Elle s'exprime ainsi :

$$\text{Capacité tampon} = \frac{d C_B}{d \text{pH}}$$

Où : dC_B exprime la quantité de base ou d'acide nécessaire pour produire une variation de pH exprimée dpH .

La capacité tampon intrinsèque a été définie comme la capacité d'un aliment à maintenir le pH de son milieu aqueux ou à résister à un changement du pH après l'addition d'un acide ou d'une base (Moharrery, 2007).

b- Matériel utilisé

- Burettes
- Béchers de 100 ml
- Agitateur électrique et barreaux magnétiques.

c- Solutions utilisées

* Solution d'acide acétique **0.1N** : la solution a été préparée à partir de l'acide acétique pur C₂H₄OH (densité : 1.05, MM : 60.05 g/mol, pureté : 99-100%).

* Solution d'ammoniaque **0.1N** : la solution a été préparée à partir de l'ammoniaque NH₃OH (densité: 0.91, MM: 35.05 g/mol, pureté: 25%)

d- Méthode

La détermination de la capacité tampon est réalisée en suivant la méthode décrite par Giger-Reverdin et al., 2002.

•Préparation de l'échantillon

La solution employée pour la détermination de la capacité tampon est préparée en mélangeant 1g de MS de chaque substrat dans 20 ml d'eau bidistillée. Le pH initial de la solution est celui obtenu après 2 heures d'agitation.

•La titration

Sous une agitation continue, on augmente d'abord le pH initial à **7** en ajoutant la solution d'ammoniaque **0.1N**, pour le ramener par la suite à 4 en ajoutant progressivement l'acide acétique **0.1N**, puis on établit la courbe de chute du pH.

•Calcul de la capacité tampon

La cinétique du pH en relation avec les quantités croissantes d'équivalent H⁺ a été modélisée par l'un des trois modèles (M₁, M₂ ou M₃) proposé par Giger-Reverdin *et al.*, 2002,

Le premier modèle est une somme d'une fonction linéaire et exponentielle

$$\text{pH} = a - b \text{ eqH}^+ + c e^{-d \text{ eqH}^+}$$

Le deuxième modèle est linéaire. C'est une simplification du modèle entier et, en fait, correspond à son asymptote.

$$\text{pH} = a - b \text{ eqH}^+$$

Le troisième modèle est seulement un modèle exponentiel sans cette asymptote.

$$\text{pH} = a + c e^{-d \text{ eqH}^+}$$

Où : eqH^+ représente la quantité d'acide acétique ayant une normalité 1(1N) ajoutée.

a, b, c, d sont des paramètres positifs estimés à partir de la courbe.

La capacité tampon est égale à l'inverse de la valeur de la fonction dérivée qui caractérise le changement de pH après addition d'acide acétique (Giger-Reverdin *et al.*, 2002)

$$\text{CT} = 1/ (b + c d)$$

Pour le premier modèle

$$\text{CT} = 1/ b$$

Pour le deuxième modèle

$$\text{CT} = 1/ cd$$

Pour le troisième modèle

Dans notre étude, le premier modèle a été utilisé. Pour chaque substrat, la mesure est effectuée en double.

3. 2- Etude de la fermentescibilité *in vitro* des différents substrats

3.2.1-Mesure de la production de gaz *in vitro*

La technique de mesure de la production de gaz *in vitro* a été réalisée en suivant les étapes suivantes :

1^{ère} étape : préparation de la verrerie et du matériel.

2^{ème} étape : préparation de la salive artificielle

3^{ème} étape : Préparation de l'inoculum

4^{ème} étape : Inoculation et incubation

3.2.1.1- Préparation de la verrerie et du matériel

- 12 flacons en verre stérilisables de 200 ml contenant des barreaux magnétiques
- Système de transfert : consiste en deux tuyaux attachés aux deux seringues ; l'un sert à transvaser le mélange du liquide ruminal et la salive artificielle, et l'autre à transférer le CO_2
- La colonne de réduction (*Heated Copper Catalyst*) : comporte deux bouteilles de gaz ; l'une à hydrogène et l'autre à CO_2 , et un cylindre contenant le cuivre. Le CO_2 est préalablement purifié par piégeage d'éventuelles traces d'oxygène par passage dans un four de copeaux de cuivre chauffé à 300C° . L'oxygène résiduel réagit alors avec le cuivre pour former du **CuO**.

Le système sert globalement à fournir une source de CO₂ pur pour assurer l'anaérobiose au cours des différentes étapes du procédé.

- Appareil de mesure de gaz automatique à 12 canaux munis de transducteurs de pression (Cone *et al.*, 1996). L'appareil est connecté à un ordinateur.

3.2.1.2- Préparation de la salive artificielle

La salive artificielle est une solution minérale qui joue le rôle d'une part d'un tampon et d'autre part, elle constitue un apport de sels minéraux et d'oligoéléments aux microorganismes du rumen. Elle est préparée selon les procédures décrites par Menke et Steingass (1988)

• Composition

La salive artificielle se compose d'un mélange de différentes solutions (tableau 5):

Tableau n°5 : Les solutions utilisées dans la préparation de la salive artificielle
(Menke et Steingass, 1988)

Solution	Composition	quantité
Solution des éléments majeurs	Na ₂ HPO ₄	5.7 g
	KH ₂ PO ₄	6.2 g
	MgSO ₄ ×7H ₂ O	0.6 g
	Eau distillée	1000 ml
Solution des éléments traces	CaCl ₂ ×2H ₂ O	13.2 g
	MnCl ₂ ×4H ₂ O	10.0 g
	CoCl ₂ ×6H ₂ O	1 g
	FeCl ₂ ×6H ₂ O	0.8 g
	Eau distillée	100 ml
Solution tampon	NaHCO ₃	35 g
	(NH ₄) HCO ₃	4 g
	Eau distillée	1000 ml
Solution de Resazurine	C ₁₂ H ₆ NO ₄	100 mg
	Eau distillée	100 ml
Solution réductrice	Na ₂ S×7H ₂ O	285 mg
	NaOH (1N)	2 ml
	Eau distillée	47.5 ml

• **Reconstitution de la salive artificielle**

Les quatre solutions déjà préparées et conservées sont mélangées dans l'ordre suivant :

Tableau n° 6 : Les quantités requises pour la préparation de la salive artificielle

solution	Pour 1 litre de la salive artificielle
Eau distillée	474.0 ml
Solution d'éléments traces	0.12 ml
Solution tampon	237.0 ml
Solution d'éléments majeurs	237.0 ml
Solution de résazurine	1.22 ml
Solution réductrice	50 ml

La solution ainsi obtenue est stérilisée à 120°C pendant 15 min. Elle est ensuite placée dans un bain-marie à 39C°, et maintenue sous un flux continu de CO₂ par barbotage.

Dès l'arrivée du liquide ruminal, nous préparons la solution réductrice que l'on ajoute progressivement aux autres solutions -toujours sous flux de CO₂ -jusqu'à la réduction du milieu indiquée par le virage de couleur de l'indicateur du potentiel d'oxydoréduction (resazurine) du bleu au rose avant de devenir incolore.

3.2.1.3- Préparation de l'inoculum

- La collecte du liquide ruminal

Le jus de rumen est prélevé directement du rumen de dromadaire après son abattage puis transféré dans des thermos préalablement lavés et aseptisés. Les échantillons ainsi prélevés sont traités au laboratoire dans les premières heures qui suivent la collecte.

- Filtration du liquide ruminal

Le liquide ruminal est filtré à travers 2 couches de gaze chirurgicale stérile. Le filtrat est récupéré directement par l'intermédiaire d'un entonnoir- sous flux de CO₂ - dans la fiole contenant la salive artificielle déjà réduite.

Le mélange ainsi obtenu est préparé selon les procédures décrites par Menke et Steingass (1988), elle consiste à mélanger un volume liquide ruminal filtré avec deux volumes de salive artificielle.

Dans nos essais, nous avons utilisé 1L de la salive artificielle pour 500 ml du liquide ruminal.

Le pH de la salive artificielle est mesuré directement avant et après l'ajout du liquide ruminal filtré à l'aide d'un pH mètre.

3.2.1.4- Inoculation et incubation

- de chaque substrat, **0.50 g** de matière sèche sont broyés, pesés puis introduits dans les flacons en verre préalablement stérilisés.

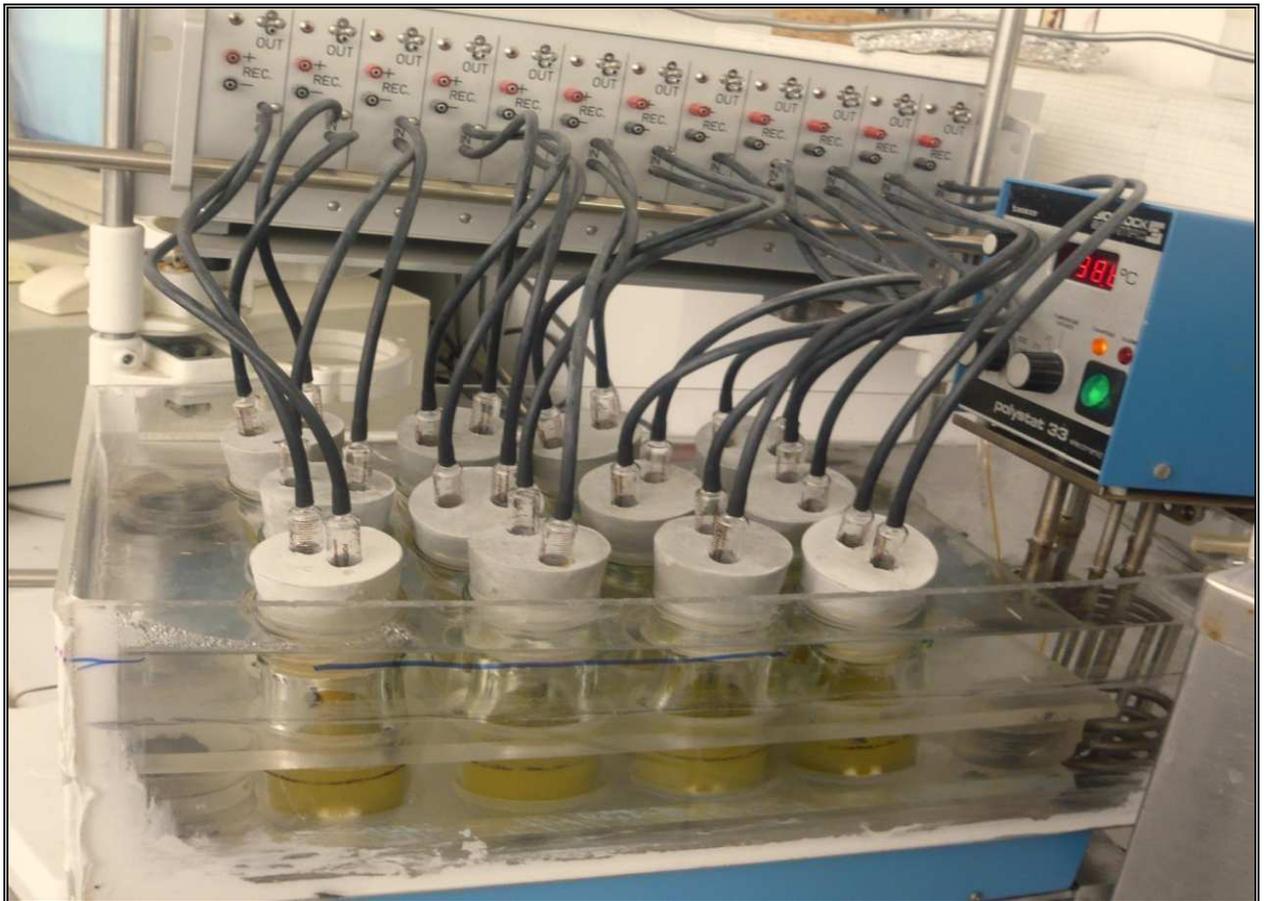
- Avant d'entamer l'inoculation, nous allumons l'appareil de mesure de gaz et l'ordinateur pour qu'ils soient prêts à détecter les premières quantités du gaz évacuées lors le début de la fermentation.

- Les 12 flacons en verre, déjà saturés en CO₂, sont inoculés par 75ml d'inoculum (liquide ruminal filtré + salive artificielle)

- A chaque fois que nous inoculons un flacon, nous le fermons hermétiquement avec le bouchon qui le lie directement à l'appareil de mesure de gaz puis nous le plaçons dans un incubateur agité préchauffé à 39C°.

- Une fois l'inoculation des 12 flacons est achevée, nous allumons la plaque agitatrice et nous laissons le procédé pendant 144 heures.

- Après 144h de fermentation, le contenu de chaque flacon est vérifié pour son pH final.



3.2.2- Détermination des paramètres cinétiques de la production de gaz *in vitro*

Le suivi de la cinétique de fermentation est effectué par la mesure volumétrique de la production de gaz indiquée automatiquement par l'appareil qui permet de mesurer instantanément la quantité de gaz produite dans chaque flacon en donnant à chaque fois un signal lumineux (quand cette dernière sera égale à 270 μ litre). Le nombre de signaux enregistrés par l'appareil est transféré vers l'ordinateur pour les traiter à l'aide d'un programme approprié.

Les paramètres de la cinétique de production de gaz ont été estimés grâce au model logistique décrit par Cone *et al.*, 1996.

$$\text{Gaz (t)} = \frac{b_1}{1 + \frac{t_{1/2}^{c_1}}{t^{c_1}}} \quad \dots \dots (1)$$

Où : **Gaz (t)** : volume cumulé de gaz au moment t (ml/0.5g de MS).

b₁ : la production potentielle de gaz pour un temps d'incubation infini (ml/0.5g de MS)

c₁ : la constante de courbure (sans unités)

t_{1/2} : le temps (h) au bout duquel la demi- production (50 % de **b₁**) est obtenue

t : temps d'incubation (h)

La dérivée de la fonction (1) donne les paramètres suivants : **r_m** et **t_m**

$$r_m = \frac{(c_1) \times t^{(c_1-1)}}{t_{1/2}^{c_1} + t^{c_1}}$$

Où : **r_m**: la vitesse maximale de production de gaz (h⁻¹), le temps (**t_m**) au bout duquel cette vitesse maximale est calculé à partir de l'équation suivante :

$$t_m = t_{1/2} \times (c_1 - 1)^{1/c_1}$$

3.2.3- Estimation du pourcentage de dégradabilité apparente :

a- Définition :

La dégradabilité apparente correspond à la quantité de substrat insoluble et non dégradé retenue dans des sachets en nylon, de taille de pores égale à 54 micromètre, après 144 h de fermentation *in vitro*.

***b-* Méthode :**

Après une période d'incubation de 144 h, nous filtrons le contenu du chaque flacon fermentatif dans un sachet sec, aseptique et préalablement taré, après séchage à 65°C pendant 72h, le résidu sec obtenu sert pour déterminer le pourcentage de dégradabilité apparente selon la formule suivante :

$$\% \text{ dégradabilité apparente} = \frac{P_1 - P_0}{P_d} \times 100$$

Où : **P₀** : représente le poids du sachet vide (tare)

P₁ : représente le poids du sachet après séchage.

P_d : représente la prise d'essai initiale (0.5g)

4- Analyse statistique :

L'analyse des résultats des différents essais est réalisée à l'aide de logiciel SAS (Statistical Analysis System), 1979 sur la base du test " t " de Student.

***RESULTATS
ET DISCUSSION***

1-Analyse des caractéristiques de l'inoculum

1.1- Analyse des caractéristiques physico-chimiques :

Le pH, le pouvoir oxydoreducteur, la matière sèche (MS), la matière organique (MO) et la matière minérale (MM) ont été étudiés sur le contenu ruminal de plusieurs dromadaires après leur abattage.

1.1.1- Le pH du liquide ruminal :

D'une manière générale, les valeurs du pH de liquide ruminal de différents essais sont réparties entre 5.34 et 7.60 avec une valeur moyenne de 6.57 et un coefficient de variation de 5.83% (tableau 7). Cette valeur moyenne est considérée favorable pour l'activité des microorganismes du rumen, En admettant que le pH optimal du rumen se situe dans une fourchette comprise entre 5.7 et 7.3 (Demarquilly *et al.*, 2002 ; Jouany, 1994). Les valeurs du pH qui sortent de la zone de normalité (5.34 et 7.60) sont la conséquence d'un déséquilibre alimentaire qui peut se justifier dans notre cas par l'utilisation d'animaux avec un régime alimentaire libre. Ces résultats concordent avec ceux enregistrés par Arhab, 2007 qui a obtenu des valeurs de pH de jus de rumen des dromadaires comprises entre 6.24 et 7.67

1.1.2- Le pH de la salive artificielle :

Les valeurs du pH de la salive artificielle reconstituée selon Menke et Steingass, 1988 se situent entre 6.63 et 6.93 avec une valeur moyenne de 6.85 et un coefficient de variation assez faible de 1.13% (tableau 7). La valeur moyenne est ainsi optimale pour une activité microbienne maximale. Notre résultat est similaire aux résultats rapportés par Guetitcha, 2001 qui a enregistré une valeur de pH de la salive artificielle égale à 6.88. Le même auteur a signalé qu'une solution tampon reconstituée selon Menke et Steingass, 1988 exerce des propriétés tampons élevée comparativement à celle préparée selon Burroughs, 1990 qui n'empêche pas l'acidification du milieu due à la production des acides gras volatils.

1.1.3- Le pH du mélange :

Après l'ajout du liquide ruminal à la salive artificielle, nous constatons une légère baisse du pH moyen de la salive artificielle. Les valeurs se situent entre 6.59 et 7.05 avec une valeur moyenne de 6.80 et une variation de 1.77%. Cette situation pourrait s'expliquer par la conjugaison du pouvoir tampon de la salive artificielle et du jus de rumen de dromadaire qui contribuent ensemble, au fur et à mesure, à la neutralisation de l'acidité du milieu et par

Tableau n°7: pH du liquide ruminal, de la salive artificielle et du mélange

Date de l'essai	pH du liquide ruminal tel quel (LR)	pH de la salive artificielle (SA)	pH du mélange (SA+LR filtré)
05/01/2009	6,70	6,78	6,60
19/01/2009	5,90	7,04	7,05
02/02/2009	6,25	6,85	6,87
09/02/2009	6,52	6,82	6,84
23/02/2009	7,35	6,83	6,88
16/03/2009	7,23	6,83	6,87
23/03/2009	6,58	6,82	6,78
06/04/2009	6,49	6,81	6,81
20/04/2009	6,41	6,92	6,76
27/04/2009	6,63	6,88	6,71
04/05/2009	6,98	6,84	6,76
11/05/2009	6,48	6,84	6,64
18/05/2009	7,18	6,87	6,81
25/05/2009	6,20	6,63	6,80
01/06/2009	7,01	6,92	7,02
08/06/2009	6,41	6,93	6,71
15/06/2009	5,34	6,86	6,70
19/10/2009	7,60	6,90	6,88
25/01/2010	5,42	6,83	6,59
01/02/2010	6,74	6,82	6,77
Moyenne ± Ecart-type	6.57 ± 0.38	6.85 ± 0.08	6.80 ± 0.12
Coefficient de variation (CV%)	5.83	1.13	1.77
Minimum	5.34	6.63	6.59
Maximum	7.60	6.93	7.05

conséquence maintient le pH du milieu au dessus du seuil critique d'inhibition de l'activité microbienne ($\text{pH} \geq 6$) et notamment l'activité cellulolytique (**Hoover, 1996**). Nos résultats se rapprochent de ceux signalés par Ghetitcha, 2001 qui a enregistré une valeur de pH du mélange égale à 6.90.

1.1.4- Le potentiel d'oxydoréduction:

En ce qui concerne le potentiel oxydoreducteur, la valeur de -370 mV est enregistrée. D'une manière générale, les valeurs négatives traduisent le caractère d'un milieu appauvri en O_2 . Etant donné que ce paramètre est rarement mesuré, notre résultat reste proche de celui cité dans la littérature : -350 mV (Demarquilly *et al.*, 2002). Cependant, la valeur que nous avons mesurée reste relativement inférieure (donc plus compatible avec l'activité en anaérobiose) à celle signalée par Bonnefont, 2008 qui a rapporté une zone de -150 à -250 mV.

1.1.5-La matière sèche, la matière minérale et la matière organique :

Le contenu en matière sèche du liquide ruminal de différents essais (tableau 8) varie dans un intervalle allant de 7.38 à 17.74% avec une moyenne de 10.24% du contenu ruminal et un coefficient de variation de 26.81%. Ceci révèle un contenu ruminal assez liquide. Nos résultats concordent avec ceux signalés par Medjekal, 2003 ayant enregistré des valeurs de MS variant de 8.5 à 17.4% du contenu ruminal, et à ceux de Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007, allant de 10 à 18%.

En ce qui concerne la matière organique et la matière minérale, le contenu ruminal est riche en matière organique et pauvre en matière minérale avec des moyennes de 85.80 et 14.20% de la matière sèche respectivement. Les valeurs de la matière organique vont de 79.14 à 89.21% alors que celles de la matière minérale varient de 10.79 à 20.87% avec des coefficients de variations de 3.51 et 21.19% respectivement. Les variations des données montrées dans le tableau (8) dépendent en premier lieu de l'état digestif de l'animal et de la nature de sa ration alimentaire.

Tableau n°8: Matière sèche, matière organique et minérale du liquide ruminal de différents essais

Date de l'essai	%MS	%MO	%MM
23/02/2009	7.85	81.53	18.47
16/03/2009	7.76	79.14	20.86
23/03/2009	8.21	85.12	14.88
06/04/2009	9.54	88.22	11.78
20/04/2009	10.58	88.85	11.15
27/04/2009	7.68	86.27	13.73
04/05/2009	8.93	86.52	13.48
11/05/2009	9.05	85.50	14.50
18/05/2009	13.08	84.44	15.56
25/05/2009	9.72	86.38	13.62
01/06/2009	7.38	89.21	10.79
08/06/2009	9.53	88.39	11.61
19/10/2009	13.11	ne	ne
25/01/2010	17.74	ne	ne
01/02/2010	12.06	ne	ne
08/02/2010	11.65	ne	ne
Moyenne ± Ecart-type	10.24 ± 2.75	85.80 ± 3.01	14.20 ± 3.01
Coefficient de variation (CV%)	26.81	3.51	21.19
Minimum	7.38	79.14	10.79
Maximum	17.74	89.21	20.87

ne : non effectué

1.2- Analyse des caractéristiques microbiologiques :

L'analyse quantitative de la microflore totale chez le dromadaire après la coloration de Gram et l'observation microscopique révèle en premier lieu une dominance absolue des bactéries Gram négatifs par rapport aux bactéries Gram positifs.

Dans le cas du liquide ruminal fraîchement collecté (tableau 9), le niveau de la population bactérienne Gram- est de l'ordre de 78.20% de la totalité des bactéries. Par ailleurs, la population des bactéries Gram+ représente 21.80% de la totalité des bactéries.

Après filtration, le taux de la population bactérienne Gram- a significativement augmenté (80.97%, $p < 0.05$), par contre, le taux de la population des Gram+ a significativement baissé (19.03%). Il est à signaler que le taux de présence des bactéries Gram- semble significativement plus important ($p < 0.05$) après le mélange du liquide ruminal filtré avec la salive artificielle, soit une moyenne de 83.03%, alors que la population des bactéries Gram+ a significativement diminué (16.97%, $p < 0.05$). Les résultats ainsi obtenus montrent que la filtration enrichit l'inoculum en bactéries Gram-, en contre partie, elle l'appauvrit en bactéries Gram+.

Tableau n°9 : Répartition des bactéries Gram- et Gram+ pour 100 bactéries dénombrées

	Bactéries Gram⁻	Bactéries Gram⁺
Liquide ruminal tel quel	78.20 ^c ± 1.04	21.80 ^a ± 1.04
Liquide ruminal filtré	80.97 ^b ± 2.02	19.03 ^b ± 2.02
Mélange "liquide ruminal filtré + salive artificielle"	83.03 ^a ± 2.25	16.97 ^c ± 2.25

Les lettres en exposant signifient que les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes (**P<0.05**)

L'effet défavorisant de la filtration sur le taux des bactéries Gram+ demeure indésirable au regard de l'importance des bactéries Gram+ majoritairement représentées par des groupes cellulolytiques et hemicellulolytiques (tableau 2, page 16-17). En admettant que la majorité des bactéries Gram+ soit attachée aux fibres alimentaires (Guillaume, 2007), la quantité des bactéries Gram+ disparues après filtration est probablement éliminée avec les grosses particules alimentaires auxquelles elles s'associent.

L'attachement des bactéries Gram+, notamment les bactéries cellulolytiques, aux particules alimentaires se fait par l'intermédiaire du glycocalyx (enveloppe de nature polysaccharidique, polypeptidique ou les deux) (Jouany, 1994).

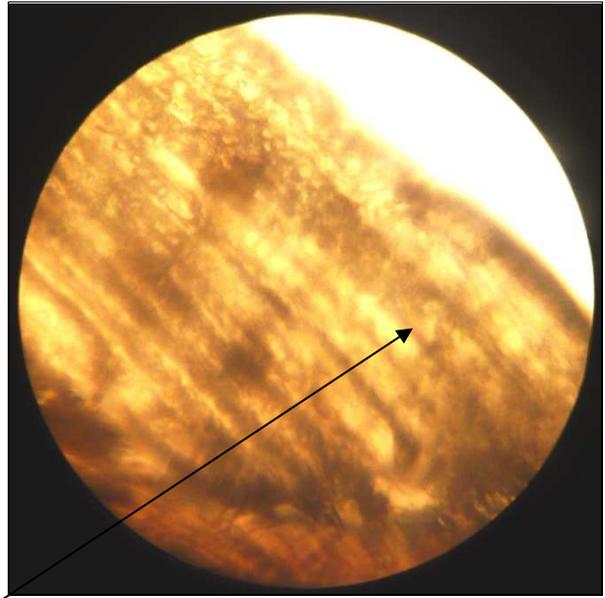
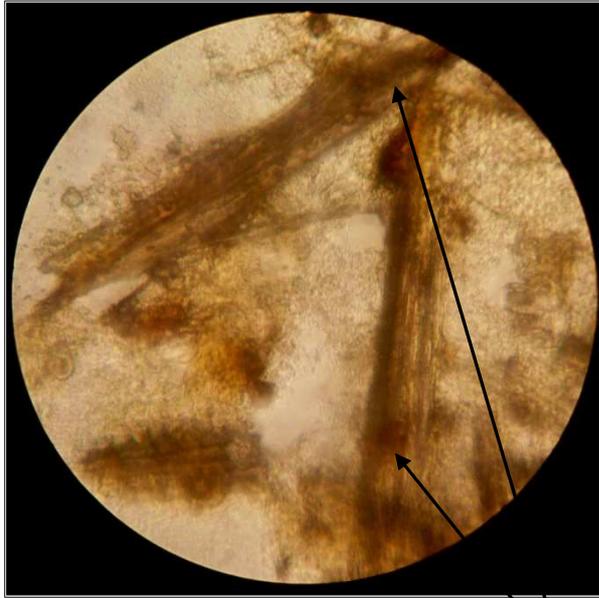
L'observation microscopique du frottis de liquide ruminal tel quel à l'état frais (figure 10) montre des grosses particules alimentaires occupant plus de 75% du champ microscopique. En revanche, le frottis du liquide ruminal filtré (figure 11) montre des particules alimentaires dispersées sur le champ avec des tailles assez réduites comparativement à celles présentes dans le liquide ruminal avant filtration.

En effet, la filtration à travers les deux couches de mousseline a réellement éliminé une partie des grosses particules alimentaires dont la taille est supérieure à celle des pores du filtre et par conséquent débarrasser les bactéries qui s'en sont fixées.

Le problème de l'élimination d'une certaine quantité des bactéries Gram+ par la filtration peut être résolu par l'utilisation d'un filtre avec une porosité un peu plus large afin de laisser passer un peu de débris alimentaire et par conséquent récupérer le maximum de bactéries Gram+.

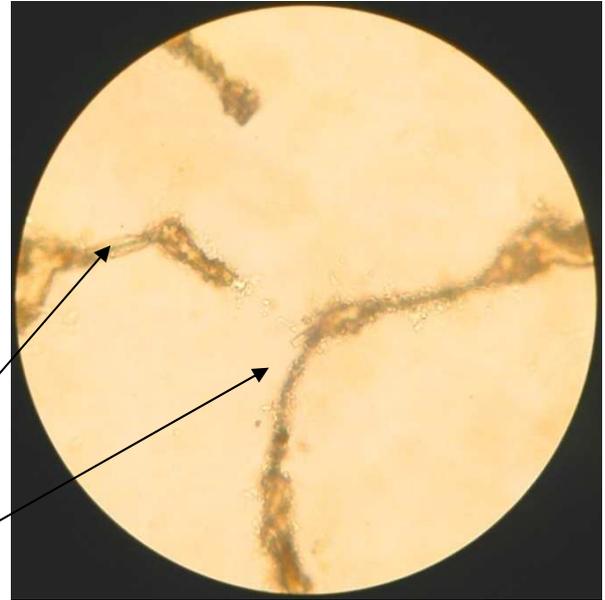
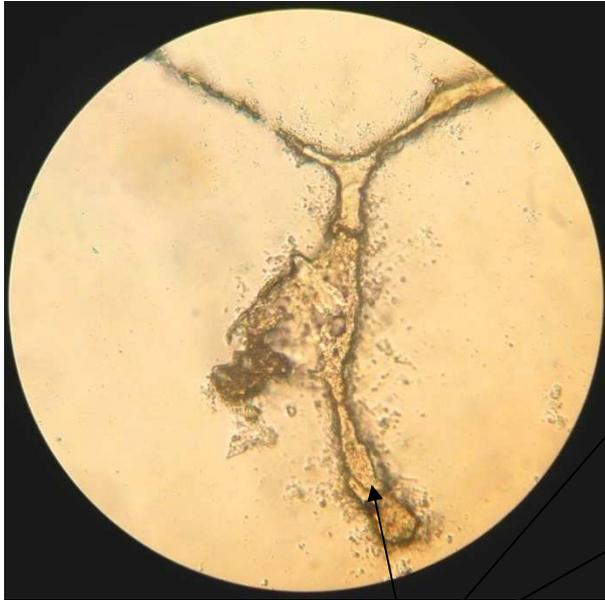
Le tableau 10 montre que l'ensemble des bactéries rencontrées dans le liquide ruminal du dromadaire se présentent sous trois formes principales : cocci, bacilles et vibrions, avec des modes de regroupement, des tailles et des taux de présence différents selon le type de Gram.

L'effet favorisant de la filtration sur la population bactérienne Gram- est clairement apparent sur les cocci isolés (tableau 10), leur taux a significativement ($p < 0.05$) augmenté à



Fibres alimentaires grosses

Figure N°10 : Deux champs différents d'un frottis du liquide ruminal frais (avant filtration) sous microscope optique (40×10)



Fibres alimentaires petites

Figure N°11 : Deux champs différents d'un frottis du liquide ruminal filtré sous microscope optique (40×10)

Tableau n°10 : Répartition des différentes formes bactériennes Gram- et Gram+ dans les trois types de frottis

Type de frottis	Bactéries Gram-									
	cocci isolés (%)	diplocoques (%)	vibrions (%)	bacilles isolés (%)	cocci en chainettes (%)	bactéries larges (%)	bacilles en chainettes (%)	rosettes (%)	feuilletés (%)	spirales (%)
liquide ruminal tel quel	56.46 ^c ± 1.67	5.97 ^a ± 0.85	4.17 ^a ± 0.66	3.70 ^a ± 1.19	3.03 ^a ± 0.85	1.33 ^a ± 0.39	1.47 ^a ± 0.43	1.43 ^a ± 0.85	1.27 ^a ± 0.21	0.47 ^a ± 0.33
liquide ruminal filtré	59.92 ^b ± 1.35	4.68 ^a ± 0.53	4.10 ^a ± 0.53	3.43 ^a ± 0.61	2.90 ^a ± 0.65	1.20 ^a ± 0.49	1.27 ^a ± 0.37	1.25 ^a ± 0.46	1.17 ^a ± 0.43	0.43 ^a ± 0.34
mélange «LRF + SA»	62.43 ^a ± 1.08	5.53 ^a ± 0.37	3.53 ^a ± 0.39	3.37 ^a ± 0.29	2.97 ^a ± 0.51	1.20 ^a ± 0.55	1.4 ^a ± 0.42	1.33 ^a ± 0.45	1.0 ^a ± 0.31	0.27 ^a ± 0.24
	Bactéries Gram+									
	cocci isolés (%)	diplocoques (%)	vibrions (%)	bacilles isolés (%)	cocci en chainettes (%)	bactéries larges (%)	bacilles en chainettes (%)	tétrades (%)	spirales (%)	
liquide ruminal tel quel	6.63 ^a ± 0.95	7.23 ^a ± 0.66	1.30 ^a ± 0.43	2.70 ^a ± 1.14	1.83 ^a ± 0.92	1.0 ^a ± 0.28	0.67 ^a ± 0.21	0.57 ^a ± 0.46	0.27 ^a ± 0.30	
liquide ruminal filtré	4.87 ^b ± 0.85	7.0 ^a ± 0.97	0.93 ^a ± 0.27	2.30 ^a ± 0.52	1.73 ^a ± 0.58	0.70 ^a ± 0.59	0.70 ^a ± 0.43	0.57 ^a ± 0.34	0.23 ^a ± 0.27	
mélange «LRF + SA»	5.07 ^a ± 1.22	6.16 ^a ± 0.61	0.70 ^b ± 0.33	2.03 ^b ± 0.34	1.33 ^a ± 0.48	0.67 ^a ± 0.10	0.47 ^a ± 0.27	0.37 ^a ± 0.20	0.17 ^a ± 0.20	

Les lettres en exposant signifient que les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes (**P<0.05**)

NB : Pour le même frottis et pour 100 bactéries dénombrées, la somme des pourcentages des différentes formes Gram- et Gram+ est égal à 100%.

56.46% dans le liquide ruminal frais, à 59.92% après filtration puis à 62.43% dans le mélange de liquide ruminal filtré + salive artificielle

Étant donné que les cocci isolés Gram- sont essentiellement représentés par des bactéries de petite taille (probablement *Veillonella parvula* avec 0.3-0.5µm) (tableau 2, page 16-17), l'affranchissement du filtre se fait aisément, ce qui engendre un enrichissement en bactéries Gram- qui trouvent tous les facteurs nécessaires à leur croissance dans la salive artificielle.

La prédominance des bactéries Gram- en particulier les micrococci Gram-, par rapport aux bactéries Gram+, a été déjà signalée dans la bibliographie (Kamara, 2005), ainsi par El-Shazly *et al.*, 1961 par une observation microscopique du liquide ruminal frais de mouton. L'auteur a montré que l'incubation *in vitro* du liquide ruminal avec la cellulose pure pendant 24h provoque une prolifération des micrococci et des bacilles Gram-, à partir de cette observation, il a conclu que ces deux types de bactéries jouent un rôle important dans la digestion de la cellulose et qu'elles font partie de la flore cellulolytiques du rumen.

Par ailleurs, nous ne notons aucune différence significative au seuil de $p < 0.05$ pour les autres formes Gram-, Elles se présentent avec des taux pratiquement similaires dans les trois types de frottis (tableau 10). Les diplocoques, les vibrions, les cocci en chainettes et les bacilles isolés Gram- se retrouvent ainsi en position dominante mais assez inférieure comparativement à celle des cocci isolés Gram-, leur taux de présence varie entre 5.97% dans le liquide ruminal frais et 5.53% dans le mélange sus cité pour les diplocoques, 4.17 et 3.53% pour les vibrions, 3.03 et 2.97% pour les cocci en chainettes et enfin 3.70 et 3.37 % pour les bacilles isolés. Les bactéries larges, les rosettes, les bacilles en chainettes, les spirales et les feuilletés sont considérés comme des formes rares se présentant avec des taux très faibles.

Les résultats ainsi obtenus révèlent une stabilité dans le taux des différentes formes Gram- dans les trois frottis et qui sont, selon Keiji and Soichi, 1981 et Patterson, 1992, représentées majoritairement par des groupes fonctionnels importants tels que : les bactéries utilisatrices d'acides (*Megasphaera elsdenii*, *Veillonella parvula*), les bactéries protéolytiques (*Prevotella ruminicola*), les bactéries cellulolytiques avec un taux inférieur (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes*), les bactéries lipolytiques (*Ruminobacter amylophilus*, *Anaerovibrio lipolytica*) (tableau 2, page 16-17).

Par ordre d'importance quantitative, nous pouvons ainsi présenter les différentes formes bactériennes Gram- présentes dans le liquide ruminal tel quel :

Cocci isolés (56.46%) > diplocoques (5.97 %) > vibrions (4.17 %) > bacilles isolés (3.70 %) > cocci en chainettes (3.03 %) > bacilles en chainettes (1.47%) > rosettes (1.43 %) > bactéries larges (1.33 %) > feuillettes (1.27%) > spirales (0.47%).

D'une part, la majorité de la population des bactéries Gram+ dans le liquide ruminal frais (tableau 10) est représentée par des cocci isolés, des diplocoques et des bacilles isolés avec des moyennes de 6.63, 7.23 et 2.70%. Les autres formes apparaissent avec des taux assez faibles de l'ordre de 1.30, 1.83 et 1.0% et ce pour les vibrions, les cocci en chainettes et les bactéries larges. D'autre part, des chainettes en bacilles, des tétrades et des spirales apparaissent avec des taux plus bas : 0.67, 0.57 et 0.27%, respectivement.

Malgré la nette diminution du taux de la majorité des formes bactériennes Gram+ après filtration, la différence reste non significative ($p < 0.05$).

Les bactéries Gram+ sont représentées, selon Keiji and Soichi ,1981 et Patterson, 1992, essentiellement par des bactéries cellulolytiques (*Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Eubacterium cellulosolvens*, *Eubacterium cellulosolvens*, *Eubacterium uniformis*), en plus, des bactéries amylolytiques (*Streptococcus bovis*), des bactéries utilisatrices de glucides simples (*Lactobacillus ruminis*, *Lactobacillus vitulinis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Succinivibrio dextrinosolvens*) et des bactéries méthanogènes (*Methanobacterium bryanii*, *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanosarcina barkeri*) (tableau 2, page 16-17).

Finalement, l'observation microscopique de différents frottis nous a permis de noter que les formes coccoides (isolés, diplocoques et en chainette) sont les plus rencontrées et autant que les formes bacillaires (isolés ou en chainettes), de plus, les formes isolés sont les prédominantes comparativement à celles regroupées en deux ou en chainettes.

1- Analyse des caractéristiques des différents substrats

2.1- Analyse des caractéristiques physico-chimiques

2.1.1-Composition chimique des substrats étudiés:

Les résultats de l'analyse fourragère de différents substrats étudiés figurent dans le tableau 11.

Les substrats sont sensiblement riches en matière sèche. Ils varient par contre, par leurs autres constituants chimiques.

Les teneurs en matière sèche des substrats sont élevées, elles dépassent 90% pour la paille d'orge (90.6%) et les chrysanthèmes (90.55%). Les résidus de tomates, de pommes, d'oranges ainsi que les cardes contiennent, à un point près, le même poids sec, soit respectivement : 88.77, 89.14, 89.04 et 88.11%.

Les résultats obtenus pour les résidus de tomates et les résidus d'oranges sont proches de ceux rapportés par Mirzaei-Aghsaghali et Maheri-Sis., 2008 ; Bambidis and Robinson, 2006 qui enregistrent 91.3 et 88.0% pour les résidus de tomates et les résidus d'oranges respectivement. Par contre, le résultat obtenu pour les résidus de pommes est inférieur à celui enregistré par Pirmohammadi *et al.*, 2006 qui rapportent une valeur de 74.9%. Concernant la paille d'orge, plusieurs auteurs ont publié des résultats proches des nôtres. Ainsi Daccord et Jans, 1990 ; Chenost, 1991 rapportent un poids sec de 88.2 et 89.3% respectivement.

Les faibles taux en humidité des résidus agroalimentaires sont probablement dus aux différents traitements industriels. Pour les chrysanthèmes, les cardes et la paille d'orge, les taux en matière sèche sont en relation avec leur origine et leur stade de maturité au moment de la récolte.

Les substrats étudiés présentent tous des taux élevés en matière organique. La valeur la plus élevée est notée pour les résidus de tomates (98.33% de MS) et les résidus de pommes (98.07% de MS). La valeur la plus faible est observée chez les cardes (86.98% de MS). Concernant les chrysanthèmes et la paille d'orge, les contenus en matière organique sont de 94.41 et 93.9% respectivement.

Besharati *et al.*, 2008 enregistrent des teneurs en matière organique supérieures aux nôtres, soit : 97.8 et 89.8% de MS respectivement pour les résidus de pommes et les résidus

de tomate. La teneur en matière organique des résidus d'orange (97.35%) est supérieure à celle rapportée par Tripodo *et al.*, 2004 qui notent 88.0% de MS.

Le contenu en matière minérale est faible pour tous les substrats (tableau 11). Les cardes ont la valeur la plus élevée (13.02% de MS) par rapport aux chrysanthèmes (5.59%) et la paille d'orge (6.1%). Les résidus de tomates renferment une teneur élevée en matière minérale (11.77%) par rapport aux résidus de pommes (1.93%) et d'oranges (2.65%). Ces résultats diffèrent de ceux rapportés par Valizadeh et Sobhanirad., 2009 qui rapportent des valeurs en matière minérale de 9% et 6% de MS pour respectivement les résidus de tomates et de pommes. Selon Ventura *et al.* , 2009, le taux faible en matière minérale des résidus est probablement dû à la solubilisation des minéraux durant les différents traitements industriels.

A l'exception des résidus de tomates qui ont une teneur en protéines de 12.06% de MS, tous les autres substrats apparaissent assez pauvres. Leur contenu varie de 2.27 à 5.75% de MS. Les résidus de pomme (2.27%) et les chrysanthèmes (2.44%) enregistrent les valeurs les plus faibles, tandis que les cardes, la paille d'orge et les résidus d'orange ont des valeurs en matière azotée sensiblement similaires, soit : 4.33%, 4.1% et 5.75% de MS respectivement. Le résultat obtenu pour les résidus d'oranges est inférieur à celui rapporté par Tripodo *et al.* , 2004; Bambidis et Robinson, 2006 qui enregistrent un contenu en protéine brut respectivement de 8.6% et 8.5% de MS.

Les résidus de pommes présentent un contenu en protéines assez inférieur à celui noté par Besharati *et al.*, 2008 qui signalent un taux estimés à 5.25% de MS. Par contre, Aghajanzadeh-Golshani *et al.*, 2010 ; Andrieu *et al.*, 1988 rapportent, pour les résidus de tomates, des taux en protéines relativement supérieurs aux nôtres, soit : 22.17 et 18.9% de MS respectivement

Les résidus de tomates ont la valeur la plus élevée en matière grasse (1.66% de MS). Les autres substrats ont un contenu en MG très faible variant de 0.61% pour les résidus d'orange à 0.97% pour les résidus de pomme. Les cardes, les chrysanthèmes et la paille d'orge ont 0.62, 0.63 et 0.90% de MG par rapport à leur matière sèche. Les valeurs enregistrées pour les trois résidus agroalimentaires sont assez inférieures à celles rapportées par la bibliographie (Andrieu *et al.*, 1988 ; Megias Rivas *et al.*, 1991 ; Martinez *et al.*, 2008). Les différences dans les valeurs obtenues et rapportées par la bibliographie probablement dû aux différents procédés d'extraction de la matière grasse et à la nature des solvants utilisés.

Tableau n°11: Composition chimique des substrats en % de MS (moyenne \pm écart- type)

Substrat	MS (%)	MM (%MS)	MO (%MS)	PB (%MS)	MG (%MS)	NDF (%MS)	ADF (%MS)	ADL (%MS)
R. tomates	88.77	11.77 \pm 0.41	98.33 \pm 0.41	12.06 \pm 0.05	1.66 \pm 0.01	33.09 \pm 0.35	30.01 \pm 0.24	9.82 \pm 0.23
R. oranges	89.04	2.65 \pm 0.04	97.35 \pm 0.04	5.75 \pm 0.16	0.61 \pm 0.01	15.67 \pm 0.09	11.72 \pm 0.13	0.00 \pm 0.0
R. pommes	89.14	1.93 \pm 0.14	98.07 \pm 0.14	2.27 \pm 0.05	0.97 \pm 0.04	13.68 \pm 0.49	9.46 \pm 0.17	1.55 \pm 0.01
cardes	88.11	13.02 \pm 0.02	86.98 \pm 0.02	4.33 \pm 0.32	0.62 \pm 0.0	68.79 \pm 0.78	52.38 \pm 0.02	8.56 \pm 0.08
chrysanthèmes	90.55	5.59 \pm 0.15	94.41 \pm 0.15	2.44 \pm 0.15	0.63 \pm 0.01	78.98 \pm 0.33	58.12 \pm 0.18	10.19 \pm 0.49
paille d'orge	90.6 \pm 0.6	6.1 \pm 0.9	93.9 \pm 0.9	4.1 \pm 0.8	0.9 \pm 0.1	63.8 \pm 3.9	47.6 \pm 1.6	5.6 \pm 0.4

Légende : MS : matière sèche, MM : matière minérale, MO : matière organique, PB : protéine brut (Azote Kjeldahl x 6,28.), MG : matière grasse, NDF : neutral detergent fibre, ADF : acid detergent fibre, ADL : acid detergent lignine.

D'une manière générale, nous constatons que les trois résidus agroalimentaires présentent une composition pariétale assez faible comparativement aux autres substrats (chrysanthèmes, cardes et paille d'orge).

Pour la fraction **NDF** qui représente la paroi totale (cellulose + hémicellulose + lignine), elle varie entre 13.68 et 78.98% de MS. La teneur la plus élevée est notée pour les chrysanthèmes et la teneur la plus faible pour les résidus de pommes.

La teneur en NDF est assez élevée dans les résidus de tomates (33.09% de MS) par rapport aux résidus d'orange (15.67%) et résidus de pommes (13.68%). La teneur élevée de NDF chez les cardes (68.7%), la paille d'orge (63.80) ainsi que les chrysanthèmes (78.98) pourrait s'expliquer par les différents stades de récolte des plantes et les conditions environnementales auxquelles elles se sont adaptées. D'une manière générale, plus la plante est mature plus la lignification est grande. Les plantes récoltées tardivement, après la saison de la moisson, présentent une paroi cellulaire plus large (plus d'NDF et d'ADF).

En fait, des faibles pourcentages en NDF sont proscrits, et un intervalle de 26 à 28% d'NDF est recommandé, en dessous de ce seuil, une série d'événements successifs pouvant conduire à l'acidose. Cependant, Mbaye and Sall ,1999 fixent une limite de 32% en 'NDF au-delà de laquelle le deuxième effet des fibres apparaît, il s'agit de la limitation de l'ingestion et de la digestibilité du régime.

Les teneurs de la fraction ADF, qui représente la lignocellulose, est aussi élevée dans le cas des cardes (52.38% de MS), chrysanthèmes (58.12%) et la paille d'orge (47.6%) par rapport aux résidus agroalimentaires. L'ordre décroissant de la teneur des résidus agroalimentaires en ADF est : résidus de tomates (30.01%) > résidus d'oranges (11.72%) > résidus de pommes (9.46%).

Concernant les résidus de tomates, Aghajanzadeh-Golshani *et al.*, 2010 donnent des valeurs de l'NDF et de l'ADF supérieurs aux nôtres, de l'ordre de 49.20% et 32.60% respectivement. Mirzaei - Aghsaghali and Maheri- Sis, 2008 signalent des valeurs de 39.20% (NDF) et 30.20% de MS (ADF) pour les résidus de pommes, ainsi que 21 et 16 % pour les résidus d'oranges. Concernant la paille d'orge, Chehma, 1998 enregistre une valeur de l'NDF plus élevée que la nôtre, soit : 75.16%, tandis que Pedraza, 1998 donne la valeur de 86.9%.

Pour les chrysanthèmes, Cabiddu *et al.*, 2006 enregistrent un taux en NDF (59.9 % de MS) et en ADF(41.5% de MS) supérieurs aux nôtres.

La cellulose (ADF-ADL), qui est utilisée par les microorganismes du rumen comme source principale des acides gras volatils, sa teneur est comprise entre 4.91 et 47.93% de MS. Les plus fortes teneurs sont notées pour les chrysanthèmes (47.93% de MS), les cardes (43.41) et la paille d'orge (42.0%), tandis que les faibles teneurs sont observées chez les résidus agroalimentaires avec 20.19, 11.72 et 7.91% de MS pour respectivement les résidus de tomates, les résidus d'oranges et les résidus de pommes. Les teneurs des résidus d'oranges et de tomates en cellulose corroborent celles signalées par Andrieu *et al.*, 1988 ; Valizadeh et Sobhanirad , 2009 qui enregistrent respectivement : 13.7 et 24.1% de MS.

Les teneurs en hémicelluloses (NDF-ADF) pour les différents substrats varient entre 3.08 et 20.86% de MS. Les chrysanthèmes (20.86%), les cardes (16.41%) et la paille d'orge (16.20%) sont toujours les plus riches comparativement aux résidus agroalimentaire qui présentent des teneurs assez faibles, soit ; 3.08% pour les résidus de tomates, 3.95% pour les résidus d'oranges et 4.22% pour les résidus de pommes.

La lignine (fraction ADL) est un composé phénolique synthétisé par la plante pendant les périodes les plus avancées de sa croissance. Dans notre cas, les concentrations de la lignine varient de 1.55 à 10.59% de MS avec une absence totale chez les résidus d'oranges. Les plus fortes teneurs sont enregistrées pour les chrysanthèmes (10.19% de MS), résidus de tomates (9.82%), et les cardes (8.56%). En revanche, la paille d'orge (5.6%) et les résidus de pomme (1.55%) contiennent les taux les plus faibles. La faible teneur en lignine rend les substrats plus appréciables du point de vue nutritionnel. Mirzaei-Aghsaghali et Maheri-Sis ,2008 rapportent des taux en lignine supérieurs aux nôtres, soit : 6.4, 2.1 et 18.7% de MS pour respectivement les résidus de pommes, les résidus d'oranges et les résidus de tomates.

D'après leur composition chimique, il s'avère que la paille d'orge, les cardes et les chrysanthèmes sont riches en composés pariétaux, pauvres en matière azotées et contiennent des concentrations modérées en lignine. Ces constatations nous permettent de les classer parmi les fourrages fibreux pouvant utilisées par les éleveurs en association d'un supplément protéique.

D'autre part, les résidus de pommes et les résidus d'oranges, par leurs parois cellulaires très peu ou non lignifiées, peuvent être considérés comme les plus digestibles par rapport aux résidus de tomates qui sont probablement moins digestibles, du fait de leur teneur élevée en fibres, en particulier la lignine.

2.1.2-La capacité tampon des substrats seuls et de leurs mélanges:

Les valeurs de pH initial de tous les substrats tels quels ou en mélanges, la quantité d'ammoniaque 0.1N ajoutée pour augmenter leur pH du pHi à pH =7, la quantité d'acide acétique 0.1N ajoutée pour abaisser le pH de 7 à 4 ainsi que la capacité tampon sont mentionnées dans le tableau 12.

2.1.2.1- Le pH initial :

D'une manière générale, les variations des valeurs du pHi des différents substrats seuls ou en mélanges sont importantes et significatives ($p < 0.05$)

Dans le cas des substrats seuls, les valeurs du pHi varient d'un pHi alcalin (8.17 pour les cardes) à un pHi proche de la neutralité (6.15 pour les chrysanthèmes et 6.21 pour la farine de maïs).

Les résidus agroalimentaires présentent des pHi acides qui varient entre 4.09 et 4.39 pour les résidus d'oranges et les résidus de pommes respectivement. Cependant, Pour les résidus de tomates, le pHi enregistré (4.12) est inférieur à celui rapporté par Moharrery, 2007 qui note un pHi de 4.73

La valeur de pHi enregistrée pour la paille d'orge (5.45) reste inférieure à celle rapportée par Moharrery, 2007. L'auteur a enregistré : 6.62, 5.94 et 5.82 pour respectivement la paille d'orge, la paille de riz et la paille de blé, de plus, les valeurs de pH initial enregistrées dans notre étude pour la farine de maïs (6.21) et pour les chrysanthèmes (6.15) sont proches de ceux de la luzerne (6.27) et du foin de trèfle (6.38). Le même auteur note des pHi alcalins proches de celui des cardes, soit : 8.13 pour le bicarbonate de sodium et 7.89 pour l'urée.

Le pHi enregistré pour les résidus d'oranges est inférieur à celui reporté par Giger-Reverdin *et al.*, 2002 qui signale, pour les pulpes de citron, un pHi de 5.77.

Les différences constatées dans les résultats obtenus et rapportées sont dues à la méthode suivie dans la préparation de la solution des substrats à partir de laquelle le pHi est mesuré.

Le classement décroissant des substrats sur la base de leur pHi est comme suit :

Cardes (**8.17**) > farine de maïs (**6.21**) > chrysanthèmes (**6.15**) > foin (**5.90**) > paille d'orge (**5.45**) > résidus de pomme (**4.39**) > résidus de tomates (**4.12**) > résidus d'oranges (**4.09**)

Tableau n° 12: pH initiaux, quantités d'acide acétique (0.1N), quantités d'ammoniaque (0.1N) ajoutées (ml) et capacité tampon (en milliéquivalents d'acide acétique par gramme de MS) des différents substrats étudiés tels quels ou en mélanges

Substrat seul ou en mélanges	pH initial (pHi)	ml d'ammoniaque 0.1N ajouté pour augmenter le pH de sa valeur initiale à pH =7	ml d'acide acétique 0.1N ajouté pour abaisser le pH du 7 à 4	Capacité tampon (meq/ g de MS)
Foin	5.90 ^e ± 0.0	0.90 ^{de} ± 0.0	16.25 ^e ± 0.35	0.29 ^f ± 0.006
Paille d'orge	5.45 ^g ± 0.01	0.94 ^{de} ± 0.0	11.05 ^h ± 0.07	0.43 ^{cd} ± 0.03
Cardes	8.17 ^a ± 0.007	0.0 ^e ± 0.0	45.75 ^a ± 0.35	0.62 ^b ± 0.07
chrysanthèmes	6.15 ^d ± 0.0	0.40 ^e ± 0.0	10.20 ^h ± 0.28	0.19 ^{ghi} ± 0.01
R. oranges	4.09 ^o ± 0.01	4.73 ^b ± 0.11	14.70 ^f ± 0.30	0.29 ^f ± 0.001
R. tomates	4.12 ^o ± 0.007	10.12 ^a ± 0.04	37.75 ^b ± 1.0	0.72 ^a ± 0.03
R. pommes	4.39 ^m ± 0.01	3.12 ^{bcd} ± 0.18	7.1 ^j ± 0.14	0.18 ^{ghi} ± 0.02
Farine de maïs	6.21 ^c ± 0.0	0.53 ^e ± 0.04	5.50 ^k ± 0.0	0.12 ⁱ ± 0.0
50% R. pommes + 50% paille d'orge	4.78 ^j ± 0.03	1.33 ^{cde} ± 0.04	8.60 ⁱ ± 0.14	0.18 ^{ghi} ± 0.006
50% R. pommes + 50% foin	5.67 ^f ± 0.07	0.97 ^{de} ± 0.02	10.35 ^h ± 0.21	0.21 ^{gh} ± 0.02
50% R. pommes + 50%chrysanthèmes	4.8 ⁱ ± 0.04	1.05 ^{de} ± 0.07	8.35 ⁱ ± 0.21	0.15 ^{hi} ± 0.005
50% R. pommes + 50% cardes	6.56 ^b ± 0.08	0.31 ^e ± 0.02	16.50 ^e ± 0.71	0.27 ^f ± 0.003
50%R. tomates + 50% paille d'orge	4.31 ⁿ ± 0.01	3.57 ^{bc} ± 0.04	21.50 ^d ± 0.71	0.39 ^{de} ± 0.02
50%+ R. tomates + 50% foin	4.56 ^l ± 0.007	5.03 ^b ± 0.04	24.45 ^c ± 0.07	0.47 ^c ± 0.001
50% R. tomates+ 50%chrysanthèmes	4.39 ^m ± 0.0	4.71 ^b ± 0.01	22.30 ^d ± 0.0	0.41 ^{de} ± 0.005
50% R. tomates + 50% cardes	5.29 ^h ± 0.01	2.2 ^{cde} ± 0.14	21.0 ^d ± 0.71	0.35 ^e ± 0.01
50% R. oranges+ 50% paille d'orge	4.63 ^k ± 0.0	1.80 ^{cde} ± 0.07	10.75 ^h ± 0.64	0.20 ^{gh} ± 0.008
50% R. oranges+ 50% foin	4.75 ^j ± 0.0	2.53 ^{cde} ± 0.04	13.25 ^g ± 0.35	0.25 ^{fg} ± 0.01
50% R. oranges+ 50%chrysanthèmes	4.66 ^k ± 0.01	1.98 ^{cde} ± 0.04	11.0 ^h ± 0.0	0.21 ^{gh} ± 0.005
50% R. oranges+ 50% cardes	5.66 ^e ± 0.01	0.95 ^{de} ± 0.07	16.30 ^e ± 0.14	0.21 ^{gh} ± 0.01

Les lettres en exposant signifient que les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes (**P<0.05**).

Les mélanges de la paille d'orge, des cardes, des chrysanthèmes et du foin avec les résidus agroalimentaires ont significativement augmentés les pHi de ces derniers ($p < 0.05$). L'augmentation la plus élevée est notée dans le cas du mélange des trois résidus avec les cardes, l'augmentation du pHi des résidus seuls est de : 49.43, 28.39 et 38.4% pour le mélange des cardes respectivement avec les résidus de pommes, de tomates et d'oranges.

L'augmentation de pHi des trois résidus dans le cas de leurs mélanges avec le foin est ainsi significative ($p < 0.05$), mais demeure plus faible que celle enregistrée dans le cas des mélanges des résidus avec les cardes, soit : 29.15, 11.73 et 10.67% respectivement pour le mélanges des résidus de pommes, d'oranges et de tomates avec le foin. Les mélanges des résidus agroalimentaires avec la paille d'orge et avec les chrysanthèmes enregistrent des variations dans les valeurs du pHi des résidus ainsi faibles. On note une augmentation du pHi des résidus de pommes avec 8.8% après leur mélange avec la paille d'orges et de 9.33% dans le cas de leur mélange avec les chrysanthèmes.

Selon Giger-Reverdin *et al.*, 2002, les variations dans les valeurs de pH initial ne sont pas reliées ni avec la composition chimique des substrats, ni avec leurs paramètres physiques (capacité de rétention d'eau, la pression osmotique intrinsèque) des substrats.

Le classement décroissant de pHi des résidus d'oranges avec les cardes, les chrysanthèmes, le foin et la paille d'orge est le suivant :

50% résidus d'oranges + 50% cardes (**5.66**) > 50% Résidus d'oranges +50% foin (**4.75**) > 50% Résidus d'oranges +50% chrysanthèmes (**4.66**) > 50% Résidus d'oranges + 50% paille d'orge (**4.63**).

Le même ordre est enregistré pour les mélanges des résidus de pommes et les résidus de tomates avec les quatre fourrages.

Aucune corrélation n'a été enregistrée entre le pH initial et les paramètres **b**, **c** et **d** à partir desquels la capacité tampon a été calculée (tableau 13). Tandis que le paramètre **a** présente une corrélation positive et moyenne avec le pHi ($r = 0.53$, $p < 0.01$).

2.1.2.2- Quantité d'ammoniaque ajoutée :

L'ammoniaque (0,1N) est ajoutée au substrat (1 gramme de MS) suspendu dans 20 ml d'eau bidistillée, ceci afin de porter son pH de pHi à pH 7,0.

Le tableau 12 montre que la quantité d'ammoniaque (0.1N) la plus élevée est ajoutée pour élever le pH des résidus de tomates de leur pH initial (4.12) à pH = 7, tandis qu'aucune quantité n'a été ajoutée pour les cardes (0.0 ml). Il est à noter que plus la valeur du pHi est élevée, plus la quantité d'ammoniaque ajoutée pour élever le pH de sa valeur initial à pH 7 est faible, à l'exception des résidus de tomates qui, malgré leur pHi acide (4.12), exigent la quantité d'ammoniaque la plus élevée. Cette constatation est appuyée par l'étude statistique (tableau 13) qui a montré que la quantité d'ammoniaque (0.1N) ajoutée est négativement et moyennement corrélée avec le pHi ($r = -0.67$, $p < 0.001$).

Le classement décroissant des substrats tels quels en suivant le volume (ml) d'ammoniaque ajoutée pour augmenter le pHi à 7 est comme suit :

Résidus de tomates (**10.12**) > résidus d'oranges (**4.73**) > résidus de pommes (**3.12**) > paille d'orge (**0.94**) > foin (**0.90**) > farine de maïs (**0.53**) > chrysanthèmes (**0.40**) > cardes (**0.0**).

Les mélanges des trois résidus avec les cardes, les chrysanthèmes, la paille d'orge et le foin ont significativement ($p < 0.05$) abaissé la quantité d'ammoniaque (0.1N) ajoutée aux trois résidus. La quantité d'ammoniaque enregistrée pour les résidus seuls a été diminuée avec 90.6, 78.88, et 79.91% dans le cas des mélanges des cardes avec les résidus de pommes, de tomates et d'oranges respectivement. Des taux d'abaissement plus faibles ont été enregistrés pour les mélanges des trois résidus avec les autres fourrages, soit : 57.37, 65.73, 61.94 ; 68.91, 51.73, 46.51 ; 66.34, 54.79 et 74.63% pour le mélange des résidus de pommes, de tomates et d'oranges avec la paille d'orge, le foin et les chrysanthèmes respectivement.

Le classement décroissant des résidus de pommes en mélanges avec les autres fourrages en suivant la quantité d'ammoniaque ajoutée (ml) est comme suit :

50% résidus de pommes + 50% paille d'orge (**1.33**) > 50% résidus de pommes + 50% chrysanthèmes (**1.05**) > 50% résidus de pommes + 50% foin (**0.97**) > 50% résidus de pommes + 50% cardes (**0.31**).

Tableau n°13: Coefficient de corrélation entre les différents paramètres (pHi, capacité tampon, quantité d'ammoniaque, quantité d'acide acétique ajoutée et les paramètres a, b, c et d)

	pHi	NH₃	Ac-Ac	a	b	c	d
NH₃	-0,67						

Ac-Ac	0,25	0,42					
	N.S	**					
a	0,53	-0,21	0,64				
	**	N.S	***				
b	-0,006	-0,45	-0,80	-0,54			
	N.S	***	***	**			
c	0,21	-0,10	0,04	-0,15	0,06		
	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S		
d	0,003	-0,48	-0,80	-0,48	0,97	-0,04	
	N.S	***	***	***	***	N.S	
CT	0,03	0,59	0,90	0,43	-0,87	0,02	-0,09
	N.S	***	***	**	***	N.S	***

CT : capacité tampon

Ac -Ac : Quantité d'acide acétique (0.1N) ajoutée.

NH₃ : Quantité d'ammoniaque (0.1N) ajoutée

N.S : non significative

** : p<0.01

*** : p<0.001

même classification est enregistrée pour les mélanges des résidus de pommes et les résidus de tomates avec les quatre substrats.

D'après l'étude statistique (tableau 13), il apparaît que la quantité d'ammoniacque (0.1N) ajoutée n'a aucun effet sur les paramètres **a** et **c**, à partir desquels la capacité tampon est calculée, en revanche, elle influe moyennement sur les paramètres **b** ($r = -0.45$, $p < 0.001$) et **d** ($r = -0.48$, $p < 0.001$)

2.1.2.3- Quantité d'acide acétique ajoutée :

L'acide acétique (0,1 N) est ajouté au substrat (1 gramme de MS) suspendu dans 20 ml d'eau bidistillée afin de porter son pH de 7,0 à 4,0. Ceci dans le but d'estimer la capacité tampon du substrat.

En premier lieu, on constate qu'il y a une différence significative ($p < 0.05$) entre les quantités d'acide acétique (0.1N) ajoutées pour les substrats seuls et en mélanges.

Les quantités d'acide acétique ajoutées pour abaisser le pH des différents substrats seuls de 7 à 4 varient de 7.1ml (résidus de pommes) jusqu'à 45.75 ml (cardes). Alors que les quantités ajoutées pour abaisser le pH des mélanges vont de 8.35 à 24.45 ml (tableau 12)

Le classement décroissant des substrats tels quel en suivant la quantité (ml) d'acide acétique (0.1N) ajoutée (ml) pour abaisser le pH de 7,0 à 4,0 est le suivant :

Cardes (**45.75**) > résidus de tomates (**37.75**) > foin (**16.25**) > résidus d'oranges (**14.70**) > paille d'orge (**11.05**) > résidus de pommes (**7.1**) > farine de maïs (**5.50**).

Les mélanges des résidus de pommes avec les différents fourrages demandent une quantité d'acide acétique significativement plus élevée ($p < 0.05$) que celle demandée par les résidus de pommes seuls (7.1 ml), soit des taux d'augmentation : 21.26, 17.60 et 45.77% respectivement pour les mélange des résidus de pommes avec la paille d'orge (8.60 ml), les chrysanthèmes (8.35 ml) et le foin (10.35 ml). Le taux d'augmentation le plus élevé est nettement enregistré dans le cas du mélange des résidus de pommes avec les cardes où la quantité d'acide acétique ajoutée dépasse le double (16.50 ml). Par contre, les mélanges des résidus d'oranges avec le foin (13.25 ml), les chrysanthèmes (11.0 ml) et la paille d'orge (10.75 ml) ont significativement baissé ($p < 0.05$) la quantité d'acide acétique ajoutée pour le résidu seul (14.70 ml), soit des taux d'abaissement : 9.86, 25.17 et 26.87% respectivement.

Dans le cas des résidus de tomates, la quantité d'acide acétique la plus élevée est notée pour leur mélange avec le foin (24.45 ml), tandis que la plus faible est enregistrée dans le cas de leur mélange avec les cardes (21.0 ml).

Le classement décroissant des résidus de tomates en mélange avec les quatre fourrages en suivant la quantité d'acide acétique ajoutée (ml) est comme suit :

50% résidus de tomates +50% foin (24.45) > 50% résidus de tomates + 50% chrysanthèmes (22.30) > 50% résidus de tomates +50% paille d'orge (21.50) > 50% résidus de pommes +50% cardes (21.0).

Aucune corrélation n'a été détectée entre la quantité d'acide acétique ajoutée et le pHi ($r = 0.24$) (tableau 13), par contre, les quantités d'acide acétique et les quantités d'ammoniaque ajoutées sont moyennement et positivement corrélées les unes aux autres ($r = 0.42$, $p < 0.01$).

2.1.2.4- La capacité tampon des substrats seuls et en mélanges :

En suivant le premier modèle d'estimation de la capacité tampon, les valeurs de la capacité tampon se répartissent entre 0.72 milliéquivalent /g de MS (résidus de tomates) et 0.12 milliéquivalent /g de MS (farine de maïs) (tableau 12).

Pour les résidus agroalimentaires, d'une part, nous observons que la valeur de la capacité tampon la plus élevée est notée pour les résidus de tomates (0.72) tandis que la valeur la plus faible est enregistrée pour les résidus de pommes (0.18), cette dernière reste très proche à celle signalée pour les chrysanthèmes (0.19). D'autre part, les résidus d'oranges possèdent une capacité tampon moyenne (0.29) par rapport aux résidus de tomates et de pommes, elle est identique à celle enregistrée pour le foin (0.29). Les cardes (0.62) et la paille d'orge (0.43) présentent une capacité tampon ainsi élevée mais reste significativement inférieure à celle des résidus de tomates ($p < 0.05$). La classification décroissante des substrats seuls sur la base de leur capacité tampon est la suivante :

Résidus de tomates (**0.72**) > cardes (**0.62**) > paille d'orge (**0.43**) > résidus d'oranges = foin (**0.29**) > chrysanthèmes (**0.19**) > résidus de pommes (**0.18**) > farine de maïs (**0.12**).

Sauvant *et al.*, 1999 rapportent que les principaux facteurs chimiques de variation de la capacité tampon sont la teneur en minéraux notamment le calcium (effet positif), et la teneur

en amidon (effet négatif). En plus, Pagan, 2007 note que les substrats ayant une teneur élevée en protéines (>35%) possèdent une capacité tampon élevée par rapport à ceux pauvres en protéines. Le même auteur signale l'importance de la détermination de la capacité tampon des aliments consistant en la prévention de l'animal contre l'acidose ruminale.

Les études effectuées sur la capacité tampon des substrats étudiés sont rares, sinon inexistantes, ce qui nous mène à comparer nos résultats à d'autres substrats de composition chimique voisine ou différente. La valeur de la capacité tampon de la paille d'orge (0.43) est proche de celle enregistrée par Giger-Reverdin *et al.*, 2002 qui notent 0.42 pour le sorgho et 0.46 pour l'orge, mais elle est supérieure à celle notée par Moharery., 2007 qui rapporte 1.10 et 1.78 respectivement pour la paille de riz et la paille de blé. De plus, les valeurs obtenues pour les résidus de tomates (0.72) et des cardes (0.62) sont proches de celles rapportées, par Giger-Reverdin *et al.*, 2002, pour respectivement les pulpes de betterave (0.77) et l'avoine (0.61).

Quand aux mélanges des résidus de tomates avec la paille d'orge, le foin, les cardes et les chrysanthèmes (50 : 50), nous notons une diminution significative ($p < 0.05$) dans les valeurs de la capacité tampon des mélanges comparativement à celle enregistrée pour les résidus seuls.

L'addition de la paille d'orge et des chrysanthèmes aux résidus de tomates (50 : 50) a diminué la capacité de ces derniers à résister contre l'acidité du milieu avec des taux pratiquement similaires de l'ordre de 45.83 et 43.05% respectivement. En revanche, l'ajout des cardes est le plus effective du fait qu'il a réduit la capacité tampon des résidus de tomates de moitié, de plus, ce mélange se caractérise par une capacité tampon statistiquement voisine de celle du foin (0.29). Du point de vue nutritionnel, le mélange des résidus de tomates avec le foin reste le meilleur choix car il présente une capacité tampon la plus élevée (0.47) par rapport aux autres mélanges.

La classification décroissante des mélanges des résidus de tomates avec les différents fourrages sur la base de leur capacité tampon est la suivante :

50% résidus de tomates +50% foin (**0.47**) > 50% résidus de tomates + 50% chrysanthèmes (**0.41**) > 50% résidus de tomates +50% paille d'orge (**0.39**) > 50% résidus de tomates + 50% cardes (**0.35**).

Dans le cas des mélanges des résidus de pommes avec la paille d'orge, le foin et les chrysanthèmes, aucune influence significative n'a été relevée pour la capacité tampon des résidus de pommes seuls. Les trois mélanges possèdent des capacité tampon identiques et proches de celle des résidus de pommes tels quels (0.18), soient 0.18, 0.21 et 0.15 pour le mélange des résidus de pommes respectivement avec la paille d'orge, le foin et les chrysanthèmes. Par ailleurs, l'ajout des cardes aux résidus de pommes a significativement ($p < 0.05$) augmenté le pouvoir tampon de ces dernier avec 50%. En effet, ce mélange reste le meilleur car il améliore la capacité tampon des résidus de pommes seuls.

La classification décroissante des mélanges des résidus de pommes avec les différents fourrages sur la base de leur capacité tampon est la suivante :

50% résidus de pommes + 50% cardes (**0.27**) > 50% résidus de pommes + 50% foin (**0.21**) > 50% résidus de tomates + 50% paille d'orge (**0.18**) > 50% résidus de tomates + 50% chrysanthèmes (**0.15**).

L'addition des cardes, des chrysanthèmes ainsi que la paille d'orge aux résidus d'oranges (50 : 50) a abaissé de manière significative ($p < 0.05$) la capacité tampon de ces derniers (0.29). Les taux d'abaissement sont : 27.58 et 31.3% respectivement. Cependant, l'ajout du foin aux résidus d'oranges n'a aucun effet significatif sur la capacité tampon du résidu seul, soit : 0.20 milliéquivalent /g de MS. Il apparait ce dernier mélange est une bonne combinaison du fait qu'il a maintient une capacité tampon maximale.

La classification décroissante des mélanges des résidus d'oranges avec les différents fourrages sur la base de leur capacité tampon est la suivante :

50% résidus d'oranges + 50% foin (**0.25**) > 50% résidus d'oranges + 50% chrysanthèmes = 50% résidus d'oranges + 50% cardes (**0.21**) > 50% résidus de tomates + 50% paille d'orge (**0.20**).

La matrice de corrélation (tableau 13) révèle que les quantités d'ammoniaque ajoutées pour augmenter le pH de sa valeur initiale à $\text{pH} = 7$ sont positivement et moyennement corrélées avec la capacité tampon calculée en suivant le premier modèle décrit par Giger-Reverdin *et al.*, 2002 ($r = 0.59$, $p < 0.001$). Cependant, une corrélation positive et très élevée ($r = 0.90$,

$p < 0.001$) est enregistrée entre la capacité tampon et les quantités d'acide acétique ajoutées. En revanche, aucune corrélation n'a été relevée entre le pH_i et la capacité tampon ($r = 0.03$).

De plus, le pouvoir tampon est, d'une part, négativement et fortement liée avec le paramètre **b** ($r = -0.87$, $p < 0.001$), d'autre part, elle est négativement et très faiblement corrélée avec le **d** ($r = -0.09$, $p < 0.001$).

2.2- La fermentescibilité *in vitro* des substrats seuls et de leurs mélanges :

2.2.1- Les paramètres cinétiques de la production de gaz *in vitro* :

2.2.1.1- Substrats non mélangés

Les paramètres cinétiques de la fermentation *in vitro* des différents résidus agro-alimentaires seuls ou en mélanges sont présentés dans le tableau 14. Ces paramètres incluent: **c₁**, la constante de courbure (sans unités) ; **b₁**, la production potentielle de gaz pour un temps d'incubation infini (en ml/0.5g de MS) ; **t_{1/2}**, le temps (en h) au bout duquel la demi-production (50 % de **b₁**) est obtenue ; **r_m** (en h⁻¹) la vitesse maximale de production de gaz ; **t_m** (en h), le temps au bout duquel la vitesse maximale est obtenue, enfin les productions de gaz (en ml/0.5g de MS), après 5 h (**b₅**) , 24 h (**b₂₄**), 48h (**b₄₈**) et 96 h (**b₉₆**) d'incubation.

La constante de courbure **c₁** reflète l'aspect plus ou moins sigmoïde de la courbe. Un **c₁** élevé (aspect sigmoïde prononcé) indique un ralentissement dans la production de gaz qui peut être dû soit à une concentration faible en microorganismes (spécifiques du substrat en question), soit à une concentration faible en enzymes qui attaquent les substrats concernés (enzymes inductibles) et vice-versa pour un **c₁** bas.

Aucune différence significative n'a été enregistrée entre les différents paramètres cinétiques des résidus agroalimentaires seuls (**c₁**, **b₁**, **t_{1/2}**, **r_m**, **t_m**, **b₅**, **b₂₄**, **b₄₈** et **b₉₆**), mais ces derniers (à l'exception de **c₁**, **t_m** et **t_{1/2}**) sont significativement supérieurs ($p < 0.05$) à ceux des autres fourrages (foin, chrysanthèmes, paille d'orge et cardes).

Après 144 h d'incubation *in vitro*, les productions potentielles de gaz (**b₁**) résultant des trois résidus seuls sont : 142.0, 117.2 et 132.5 ml/ 0.5g de MS pour respectivement les résidus d'oranges, de tomates et de pommes contre 61.1, 48.85, 42.11 et 53.6 ml/0.5g de MS, pour le foin, les cardes, les chrysanthèmes et la paille d'orge respectivement.

Le tableau 14 indique, également, qu'il n'existe aucune différence significative entre les paramètres cinétiques des différents fourrages. Bien que les chrysanthèmes atteignent leur vitesse maximale au bout d'un temps très réduit, soit : 7.1 h, ils sont les moins

fermentescibles par rapport aux autres substrats (figure 12). Ils produisent une quantité de gaz très faible (42.1 ml) en libérant les 50% de gaz total au bout de 20.3 h à une vitesse maximal très lente (0.04 h^{-1}).

La même tendance est constatée pour les résidus de tomates, ils produisent une quantité de gaz faible à une vitesse maximale lente, soit : 117.2 ml à 0.10 h^{-1} par rapport aux résidus de pommes (132.5 ml à 0.17 h^{-1}) et aux résidus d'oranges (142.0 ml à 0.14 h^{-1}) (figure 12).

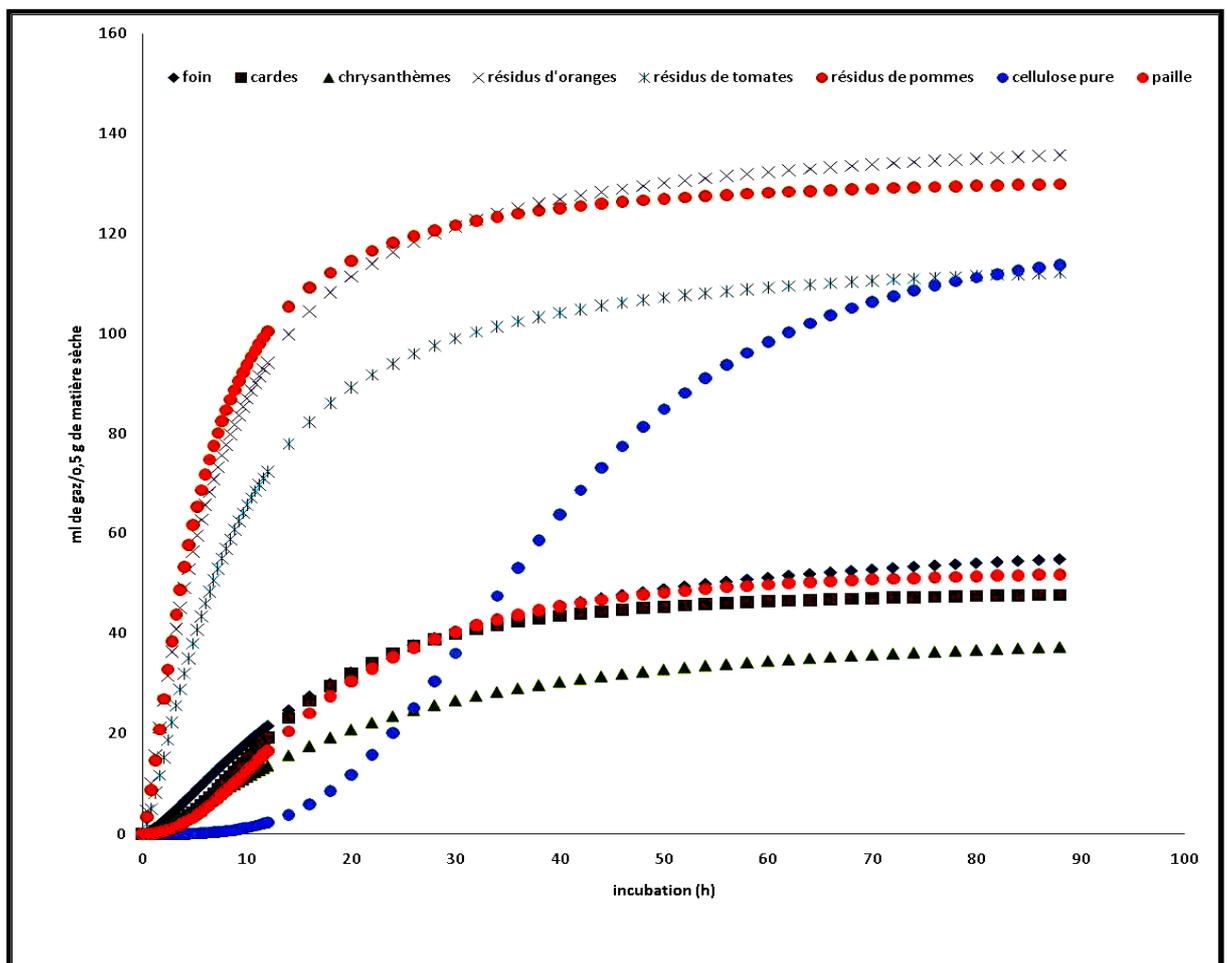


Figure n°12: Courbes des cinétiques de production de gaz par les substrats seuls.

Tableau n° 14 : Paramètres cinétiques de la dégradation *in vitro* des résidus agroalimentaires et de leurs mélanges avec des aliments fibreux.

Résidu agro-alimentaire seul ou en mélange	c ₁	b ₁	t _½	t _m	r _m	b ₅	b ₂₄	b ₄₈	b ₉₆
Foin	1.4 ^{bc}	61.1 ^{def}	18.44 ^{bc}	15.4 ^b	0.04 ^c	12.1 ^{cd}	36.35 ^{gh}	47.1 ^{de}	53.5 ^{defg}
Cardes	2.1 ^b	48.85 ^{ef}	14.7 ^{bed}	14.15 ^b	0.07 ^{bc}	5.12 ^{cd}	35.8 ^{gh}	44.5 ^{de}	47.5 ^{fg}
Chrysanthemes	1.4 ^{bc}	42.11 ^f	20.3 ^b	7.12 ^b	0.04 ^c	7.3 ^{cd}	23.53 ^h	31.5 ^e	36.46 ^g
Paille d'orge	2.1 ^b	53.6 ^{def}	17.6 ^{bed}	18.5 ^b	0.06 ^c	5.06 ^{cd}	35.0 ^{gh}	47.61 ^{de}	52.04 ^{efg}
R. oranges	1.2 ^{bc}	142.0 ^{ab}	6.8 ^{cd}	2.32 ^b	0.14 ^{ab}	59.7 ^a	115.0 ^a	127.7 ^a	134.6 ^a
R. tomates	1.33 ^{bc}	117.2 ^{abc}	8.34 ^{bed}	3.8 ^b	0.1 ^{bc}	40.5 ^{ab}	93.0 ^{abc}	105.04 ^{ab}	111.3 ^{abc}
R. pommes	1.4 ^{bc}	132.5 ^{abc}	5.3 ^d	2.35 ^b	0.17 ^a	64.3 ^a	115.5 ^a	124.46 ^a	128.8 ^a
50%R. Pommes + 50%foin	0.86 ^c	147.0 ^{ab}	15.5 ^{bed}	5.01 ^b	0.05 ^c	43.1 ^{ab}	86.5 ^{bcde}	104.1 ^{ab}	117.6 ^{ab}
50% R. Pommes + 50%chrysanthemes	1.3 ^{bc}	70.6 ^{def}	8.12 ^{bed}	3.2 ^b	0.1 ^{bc}	25.74 ^{bed}	56.24 ^{fg}	63.6 ^{cd}	67.3 ^{defg}
50% R. pommes +50% cardes	1.16 ^{bc}	92.7 ^{ede}	13.46 ^{bed}	2.32 ^b	0.06 ^c	23.35 ^{cd}	61.7 ^{ef}	75.04 ^{bed}	83.4 ^{bcde}
50% R. pommes +50% paille d'orge	0.74 ^c	163.1 ^a	10.5 ^{bed}	nd	nd	60.4 ^a	106.03 ^{ab}	123.0 ^a	136.1 ^a
R. tomates + foin	1.46 ^{bc}	83.4 ^{cdef}	8.8 ^{bed}	4.0 ^b	0.1 ^{bc}	26.8 ^{bc}	65.02 ^{def}	73.9 ^{bed}	78.6 ^{cdef}
50% R. tomates+ 50 %chrysanthemes	1.1 ^{bc}	100.3 ^{bed}	13.5 ^{bed}	2.85 ^b	0.07 ^{bc}	25.8 ^{bed}	65.75 ^{def}	79.8 ^{bc}	88.85 ^{bed}
50% R. tomates + 50% cardes	2.1 ^b	85.5 ^{cdef}	13.2 ^{bed}	13.3 ^b	0.08 ^{bc}	10.35 ^{cd}	66.03 ^{def}	79.4 ^{bc}	83.7 ^{bcde}
50% R. oranges+ 50% foin	1.13 ^{bc}	118.1 ^{abc}	7.63 ^{bed}	1.4 ^b	0.1 ^{bc}	45.05 ^{ab}	92.8 ^{abc}	105.1 ^{ab}	115.0 ^{abc}
50% R. oranges+ 50% chrysanthemes	1.1 ^{bc}	127.1 ^{abc}	10.2 ^{bed}	5.76 ^b	0.07 ^{bc}	40.85 ^{ab}	90.2 ^{abcd}	105.7 ^{ab}	122.4 ^{abc}

La classification des substrats sur la base des résultats de la production de gaz (**b1**) après 144 heures d'incubation est la suivante :

Résidus d'oranges (**142.0 ml**) > résidus de pommes (**132.5 ml**) > résidus de tomates (**117.2 ml**) > foin (**61.1 ml**) > paille d'orge (**53.6ml**) > cardes (**48.85ml**) > Chrysanthème (**42.11ml**).

Compte tenu de ces résultats, il semble que les résidus de pommes, d'oranges et avec un degré moins, les résidus de tomates sont plus fermentescibles que les autres fourrages. Ceci est du probablement à leur composition chimique différente : les résidus étant pauvres en constituants pariétaux et riches en sucres facilement fermentescibles, alors que les fourrages sont plutôt de nature fibreuse riches en NDF et ADF. Ces derniers, selon Slater *et al.*, 2000 ; Wang et Eastridge, 2001, sont connus pour affecter négativement la digestibilité et notamment la production de gaz *in vitro*. De plus, Nshalai *et al.*, 1994 enregistrent une forte corrélation entre la production de gaz et la composition chimique des résidus agro-alimentaires, en revanche, une faible corrélation est établie par le même auteur, entre la vitesse de production de gaz et la composition chimique des résidus agro-alimentaires.

La quantité de gaz issue de la fermentation de la cellulose pure (121.0 ml par 0.5g de MS) est statistiquement proche de celles produites par les résidus agroalimentaires. Alors que la vitesse maximale (0.05 h^{-1}) et la demi-production, qui ne sont atteintes qu'au bout de 49.3h et 38.7 h respectivement, sont significativement inférieures à celles des résidus seuls.

Il est clair que la cellulose ne commence à se dégrader qu'après 15 heures d'incubation, il apparaît que la fermentation de la cellulose est tributaire d'une phase de latence. Cette dernière est probablement due au temps nécessaire aux bactéries cellulolytiques pour adhérer aux chaînes de polymère et/ou au temps nécessaire par celles-ci pour l'élaboration des cellulases spécifiques pour digérer la cellulose. En effet, Weimer, 1990 a montré que la colonisation complète de la cellulose s'effectue après 8 heures de fermentation, D'après Menke, 1979, ce retard dans la fermentation aboutit à de grande fluctuation dans la quantité de gaz produite après 24h.

La production de gaz résultant de la fermentation des sous produits de tomates est inférieure à celle rapportée par Besharati *et al* ; 2008 ; Aghajanzadeh *et al.*, 2010 qui, après

une fermentation pendant 48 heures de 1g et de 200 mg des résidus de tomates en présence de microflore d'ovin, et en utilisant un modèle cinétique différents (modèle exponentiel de McDonald, 1981), enregistrent 197 ml et 48 ml de gaz respectivement à des vitesses estimées à 0.09 h^{-1} et 0.11 h^{-1} . Kafilzadeh *et al.*, 2008 ; Besharati *et al.* ; 2008 notent 305.1ml et 77.56 ml de gaz après la fermentation *in vitro* de 1 g et 150 mg des résidus de pommes en présence de microflore de bovins (en utilisant toujours le modèle exponentiel) pendant 48 h à des vitesses différentes, soit 0.306 h^{-1} et 0.02 h^{-1} respectivement. De plus, le volume de gaz produit par le foin est supérieur à celui enregistrée par Nasser *et al.*, 2009 ; Ghetitcha, 2001 qui notent respectivement 49.58 ml /1g et 46.24 ml/200 mg de MS du foin pendant 96h. Des valeurs inférieures aux nôtres sont observées par Medjekal, 2003 ; Nsahlal and Umunna, 1996 pour la fermentation *in vitro* de la paille d'orge, soit 46.52 ml /0.5g en 96 h et 60.61 ml/200mg en 72h d'incubation.

En l'absence de travaux comparatifs sur les chrysanthèmes et les cardes, nos résultats sont comparés aux autres fourrages : *Aristida pungens* (famille des graminées) et *Genista saharae* (famille des légumineuses) qui sont deux plantes fourragères étudiées, par Andrighetto *et al.*, 1992. Elles produisent après une fermentation *in vitro*, des quantités de gaz similaires à celles enregistrées pour les cardes et les chrysanthèmes, soit : 48.98 ml/1g de MS après 72 h et 32.27 ml/1g de MS après 72 h d'incubation respectivement.

Les productions de gaz sont importantes dans les premières 24 h (**b₂₄**) de fermentation pour les trois résidus, elles atteignent 81, 80 et 87% de la totalité de gaz produite après 144h pour les résidus d'oranges, de tomates et de pommes respectivement. Cependant, pour les fourrages, la quantité de gaz la plus importante n'a été produite qu'après 48h de fermentation, soit : 77, 91, 75 et 88,8% de **b₁** pour respectivement le foin, les cardes, les chrysanthèmes et la paille d'orge.

Les volumes de gaz obtenus après 48h de fermentation des résidus de tomates et de pommes sont proches de ceux rapportés par Besharati *et al.* ; 2008 qui enregistrent respectivement 86.6% pour le premier résidu et 87.42% pour le second de la totalité du gaz produit à la fin de la fermentation. Le même auteur signale que les taux élevés de gaz produits dans les premières heures de fermentation sont dus soit à une forte disponibilité de l'azote pour les microorganismes, soit à une forte teneur en pectine et en sucres non structuraux. Par contre, une faible quantité de gaz produite est attribuée à un taux élevé en NDF qui entrave l'attachement des bactéries aux substrats.

Il est à noter que, hormis la cellulose qui arrive à son maximum de production au bout de 96h (94,6%), tous les résidus agro-alimentaires atteignent leur sommet de production après 48h de fermentation, puis le taux de production de gaz commence à se diminuer.

2.2.1.2- Substrats mélangés

Le mélange des résidus de pommes avec le foin (50 :50), d'une part, a abaissé de 70.6 % ($p < 0.05$) la vitesse maximale de production de gaz r_m du résidu seul (soit : 0.05 h^{-1}), et d'autre part, il présente des paramètres cinétique (c_1 : 0.86, $t_{1/2}$: 15.5 h, t_m : 5.01 h et r_m : 0.05 h^{-1}) statistiquement proches de ceux du foin (c_1 : 1.4, $t_{1/2}$: 18.44 h, t_m : 15.4 h et r_m : 0.04 h^{-1}) (tableau 14, figure 13). Cependant, la quantité de gaz produite par ce mélange après 144 h d'incubation (147.0ml/0.5g de MS) est significativement supérieures à celle enregistrée pour l'aliment standard (b_1 : 61.1 ml). La production potentielle de gaz des résidus de pommes a été augmentée avec un taux de 11.69% après leur mélange avec le foin. La même tendance est constatée pour le mélange des résidus de pommes avec la paille d'orge dont le taux d'augmentation du b_1 de résidu seul est plus élevé, soit : 23.01% , ce qui pourrait comporter des risques pour les ruminants destinataires de ces deux mélanges

Les mélanges du même résidu avec les chrysanthèmes et les cardes ont significativement ($p < 0.05$) réduit la production potentielle de gaz (b_1) et la vitesse maximale (r_m) du résidu tel quel avec des taux de : 46.72% pour b_1 et 41.18% pour r_m , pour le premier mélange et de 30.04 et 64.71% pour le second. De plus, la majorité des caractéristiques cinétiques de deux mélanges (c_1 : 1.3, 1.16 ; b_1 : 70.6, 92.7 ml ; $t_{1/2}$: 8.12, 13.46 h ; t_m : 3.2, 2.32 h ; r_m : 0.10, 0.6

h^{-1} ; b_5 : 25.74, 23.35 ml ; b_{48} : 56.24, 61.7 ml et b_{96} : 67.3, 83.4 ml respectivement pour le premier mélange et le deuxième), bien que supérieurs, sont statistiquement comparables à celles du foin (tableau 14, figure 13).

Vue la ressemblance enregistrée entre les paramètres $t_{1/2}$, t_m et r_m de différents mélanges et ceux de l'aliment de référence, nous avons classé les quatre mélanges sur la base du paramètre b_1 et le degré de rapprochement de ce dernier à celui du foin. Le classement est de l'ordre suivant :

50% résidus de pomme + 50% chrysanthèmes (**70.6 ml/0.5g de MS**) 50% résidus de pomme + 50% cardes (**92.7 ml**) > 50% résidus de pomme + 50% foin (**147.0 ml**) > 50% résidus de pomme +50% paille d'orge (**163.1 ml**).

Le profil fermentaire des mélanges des résidus de tomates avec le foin et avec les cardes est pratiquement similaire et proche de celui du substrat de référence. A l'exception du paramètre **b₂₄** des deux mélanges et le **b₄₈** du deuxième mélange. Tous les autres paramètres sont statistiquement comparables à ceux du foin, soit : **c₁** : 1.46, 2.1 ; **b₁** : 83.4, 85.5 ml ; **t_{1/2}** : 8.8, 13.2 h ; **t_m** : 4.0, 13.3h ; **r_m** : 0.10, 0.08 h⁻¹ ; **b₅** : 26.8, 10.35 ml ; **b₄₈** : 73.9 ml et **b₉₆** : 78.6, 83.7 ml respectivement pour le premier mélange et le deuxième.

La quantité de gaz issue de la dégradation des résidus de tomates seuls (**b₁**) a significativement diminué de 28.83 et 27.05% après leur mélange avec le foin (**b₁** : 83.4 ml /0.5g de MS) et les cardes (**b₁** : 85.5 ml) respectivement. Alors qu'aucun effet significatif n'a été enregistré sur la vitesse maximale de production **r_m** du résidu avant et après mélange, soit 0.10 h⁻¹ pour le premier mélange (résidus de tomates + foin) et 0.08 h⁻¹ pour le second (résidus de tomates + cardes).

Le mélange des résidus de tomates avec les chrysanthèmes a réduit faiblement la quantité de gaz produite par le résidu seul avec un taux 14.41%, soit : 100.3 ml/0.5 g de MS à une vitesse maximale de 0.07 h⁻¹. Bien que les paramètres cinétiques (**c₁** : 1.1, **t_{1/2}** : 13.5h, **t_m** : 2.85 h, **r_m** : 0.07 h⁻¹ et **b₅** : 25.8 ml) sont statistiquement comparables à ceux du foin, les paramètres **b₂₄** (65.75 ml), **b₄₈** (79.8 ml) et **b₉₆** (88.85 ml) ainsi que le **b₁** (100.3 ml) sont significativement supérieurs ($p < 0.05$) à ceux de l'aliment de référence. L'utilisation de ce mélange devra rester limitée par rapport aux mélanges des résidus de tomates avec les cardes et le foin.

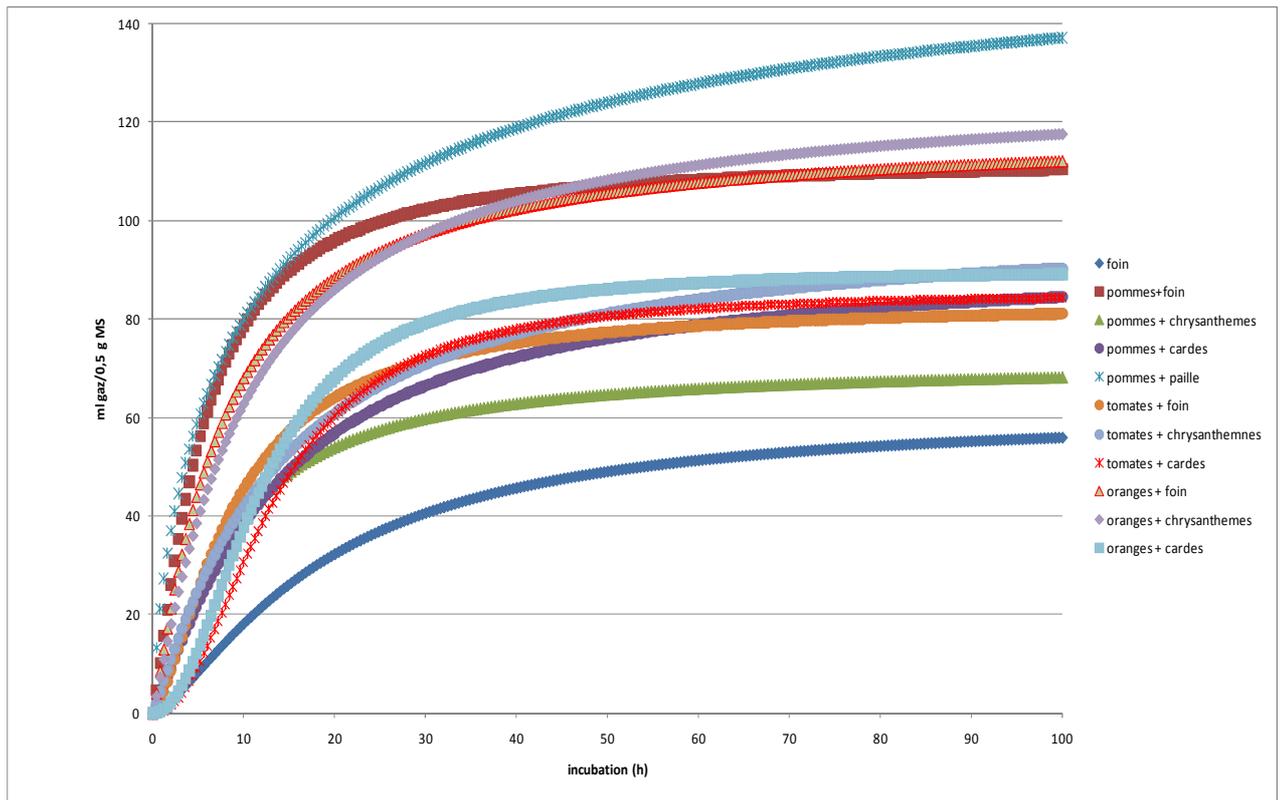


Figure n°13 : Courbe des cinétiques de production de gaz des mélanges de résidus agroalimentaires et d'aliments fibreux.

Le classement des mélanges des résidus de tomates avec le foin, les chrysanthèmes et les cardes sur la base du paramètre b_1 et le degré de rapprochement de ce dernier à celui du foin est comme suit :

50% résidus de tomates +50% foin (**83.4 ml**) > 50% résidus de pomme + 50% cardes (**85.5 ml**) > 50% résidus de pommes +50% chrysanthèmes (**100.3 ml**).

Le tableau 14 révèle que l'ajout du foin et des chrysanthèmes aux résidus d'oranges (50 : 50) n'a aucun effet significatif sur le profil fermentaire du résidu seul. Tous les paramètres cinétiques des deux mélanges sont proches de ceux du résidu mais significativement supérieurs ($p < 0.05$), à l'exception de c_1 , $t_{1/2}$, t_m , r_m , à ceux du foin.

Le mélange des résidus d'oranges avec les cardes présente un profil fermentaire proche de celui de l'aliment de référence. Les paramètres c_1 : 2.1, b_1 : 90.14ml, $t_{1/2}$: 11.7 h, t_m : 12.0h, r_m : 0.09 h⁻¹ ainsi que le b_5 (13.4 ml), sont statistiquement proches de ceux du foin, tandis que les productions au bout de 24 (73.5 ml), 48 (85.5 ml) et 96 (89.0 ml) heures de fermentation sont en différentes.

La classification des mélanges des résidus d'oranges avec les trois aliments fibreux sur la base du paramètre b_1 et le degré de rapprochement de ce dernier à celui du foin est la suivante :

50% résidus d'oranges + 50% cardes (**90.14ml**) > 50% résidus d'oranges +50% foin (**118.1ml**) 50% résidus de pommes + 50% chrysanthèmes (**127.1ml**).

Sur la base des résultats de la fermentescibilité *in vitro*, il ressort que le mélange des résidus de pommes avec les chrysanthèmes, le mélange des résidus de tomates avec le foin et le mélange des résidus d'oranges avec les cardes présentent, par ordre décroissant, les caractéristiques cinétiques les plus proches de celles du foin, pris comme substrat de référence. Par conséquent, ils sont les plus susceptibles, par rapport aux autres mélanges, d'être utilisés comme des aliments alternatifs au substrat standard pour l'alimentation des ruminants.

2.2.2- Le pourcentage de dégradabilité apparente :

La dégradabilité apparente *in vitro* de la matière sèche des substrats seuls ou en mélanges est montrée dans le tableau 15. Les valeurs de la dégradabilité apparente sont significativement distinctes ($p < 0.05$) entre les substrats.

La dégradabilité apparente des substrats seuls varie entre 49.59% et 96.24%. La valeur la plus élevée est notée pour les résidus d'oranges, tandis que la valeur la plus faible est enregistrée pour les chrysanthèmes.

Pour les résidus agroalimentaires, la dégradabilité apparente de la MS est plus intense pour les résidus d'oranges (96.24) et les résidus de pommes (96.20%) comparativement aux résidus de tomates (86.18%).

La dégradabilité *in vitro* du foin (77.44%) et de la paille d'orge (67.35) par la microflore ruminale est significativement ($p < 0.05$) élevée par rapport à celle enregistrée pour les cardes (54.59%) et les chrysanthèmes (49.59%) qui demeurent les moins dégradables par rapport aux autres fourrages. Cet écart est probablement dû aux contenus élevés en NDF et en lignine observés pour les chrysanthèmes, les cardes ainsi que la paille d'orge et le foin, en plus de leur faible teneur en matière azotée. En effet, la faible teneur des composés pariétaux et

surtout l'absence totale de la lignine chez les résidus d'oranges permet de faciliter leur attaque par les microorganismes du rumen et se traduit par une dégradabilité plus importante.

Le résultat obtenu avec les résidus d'oranges est bien supérieur à celui rapporté par Rihani et Guessons, 1985 qui notent, chez les ovins, une dégradabilité apparente de 81.8%. Ainsi, notre résultat est supérieur à celui signalé par Arhab 2007 et Ghetitcha, 2001 qui, en étudiant la dégradabilité *in vitro* des sous produits d'oranges par la microflore de dromadaire après 72h d'incubation, notent des valeurs de 82.20 et 79.71% respectivement.

Les résultats obtenus pour les résidus de tomates et de pommes sont largement supérieurs à ceux enregistrés par Vazlizadeh and Sobhanirad., 2009. Les auteurs, en étudiant la dégradabilité des résidus de tomates et de pommes *in situ*, notent chez la vache une dégradabilité de la MS après 48h de 54% pour les résidus de tomates et 48% pour les résidus de pommes.

Plusieurs auteurs rapportent des taux de dégradabilité apparente de la paille d'orge variant de 53 à 60.7% (Chermiti *et al.*, 1991 ; Chenost, 1991), alors qu' un taux de 48% est rapporté par Viet and Kien, 2001 pour la paille de riz. Chaudhry and Miller., 1995 rapportent un taux de dégradabilité de la paille de blé, estimé à 55.5%. Amrani, 2006 ; Valente et al., 2003 rapportent des taux de dégradabilité apparente, estimés à 51.01 et 54.0% respectivement pour les cardes et les chrysanthèmes.

D'après Mc Dowel., 1988, le minimum de dégradabilité apparente requis pour couvrir les besoins de l'animal est de 42 à 45%, au- dessous de cet intervalle, l'animal commence à perdre du poids.

Le classement décroissant des substrats seuls sur la base de leurs dégradabilité apparente est comme suit :

Résidus d'orange (**96.24%**) > résidus de pommes (**96.20%**) > résidus de tomates (**86.18%**) > foin (**77.44%**) > paille d'orge (**67.35%**) > cardes (**54.59%**) > chrysanthèmes (**49.59%**).

Tableau n°15: Pourcentage de dégradabilité apparente des différents substrats et de leur mélange avec la paille d'orge, le foin, les cardes et les chrysanthèmes

	% de dégradabilité apparente	Coefficient de variation (CV%)	Minimum	Maximum
R. tomates	86.18 ^b ± 3.42	3.97	80.6	90.46
R. oranges	96.24 ^a ± 3.81	3.96	87.96	98.52
R. pommes	96.20 ^a ± 2.20	2.28	93.66	99.36
Foin	77.44 ^{cd} ± 2.62	3.38	74.62	79.8
Paille d'orge	67.35 ^{ef} ± 1.56	2.31	65.43	69.72
chrysanthèmes	49.59 ^g ± 1.88	3.80	48.50	52.04
Cardes	54.59 ^g ± 3.48	6.37	50.0	60.8
50% R. pommes+ 50% foin	86.83 ^b ± 0.37	0.43	85.56	87.34
50% R. pommes+ 50% chrysanthèmes	62.99 ^f ± 0.88	1.39	62.32	63.98
50% R. pommes+ 50% cardes	72.07 ^{de} ± 1.48	2.05	71.02	73.76
50% R. tomates+ 50% foin	67.91 ^{ef} ± 2.34	3.44	62.32	66.98
50% R. tomates+ 50% chrysanthèmes	74.39 ^{cde} ± 1.22	1.62	74.5	76.78
50% R. tomates+ 50% cardes	69.09 ^{def} ± 0.70	1.01	68.56	69.88
50% R. oranges+ 50% foin	75.96 ^{cde} ± 1.88	2.19	83.90	86.4
50% R. oranges+ 50% chrysanthèmes	81.34 ^{bc} ± 1.41	1.73	79.92	82.74
50% R. oranges+ 50% cardes	71.98 ^{de} ± 0.63	0.88	71.3	72.55

Les lettres en exposant signifient que les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes (**P<0.05**)

Dans le cas des mélanges, la dégradabilité apparente est significativement différente pour chaque mélange ($p < 0.05$) (tableau 15).

En ce qui concerne le mélange des résidus agroalimentaires avec les cardes, nous constatons que leur mélange (50 : 50) avec les résidus d'oranges et les résidus de pommes se caractérisent par des taux de dégradabilité (71.98 et 72.07% respectivement) approximativement identiques, et statistiquement comparables à celui enregistré pour le foin seule (77.44%). Le mélange des résidus d'oranges et des résidus de pommes avec les cardes a significativement ($p < 0.05$) augmenté la dégradation de ces derniers avec presque 31.85 et 32.02% respectivement. La dégradabilité apparente du mélange des résidus de tomates avec les cardes (69.09%) est statistiquement proche de celle de la paille d'orge seule (67.35%), cependant, le taux de dégradabilité apparente des cardes a été amélioré que de 26.56%.

Le classement décroissant des mélanges des cardes avec les trois résidus sur la base de la dégradabilité apparente est comme suit :

50% Résidus de pommes + 50% cardes (**72.07%**) > 50% résidus d'oranges + 50% cardes (**71.98%**) > 50% résidus de tomates + 50% cardes (**69.09%**)

Le tableau 15 indique, également, que les mélanges des résidus d'oranges et les résidus de tomates avec les chrysanthèmes ont augmenté la dégradabilité de ces derniers avec des moyennes estimées à 64.02 et 50.01% respectivement, tandis que leur mélange avec les résidus de pommes ne l'augmente que de 27.02%. De plus, le pourcentage de dégradabilité du mélange des résidus d'oranges avec les chrysanthèmes (81.34%) est proche de celui enregistré pour les résidus de tomates seuls, tandis que celui enregistré dans le cas de mélange du même fourrage avec les résidus de tomates (74.39%) est similaire à celui du foin.

Le classement décroissant des mélanges des chrysanthèmes avec les trois résidus sur la base de la dégradabilité apparente est le suivant :

50% Résidus d'oranges + 50% chrysanthèmes (**81.34%**) > 50% résidus de tomates + 50% chrysanthèmes (**74.39%**) > 50% résidus de pommes + 50% chrysanthèmes (**62.99%**)

Le pourcentage de dégradabilité du mélange des résidus d'oranges avec le foin (75.96%) est statistiquement comparable à celui du foin seul (77.44%), tandis que la dégradabilité de ce dernier a été significativement augmenté avec 12.12% quand il est ajouté (50 :50) aux résidus de pomme. La dégradabilité *in vitro* de la matière sèche du mélange des résidus de tomates

avec le foin (67.91%) est comparable à celle d'un aliment naturel (paille d'orge), la dégradabilité du foin, dans ce cas, a été significativement abaissée avec 12.31%.

Le classement décroissant des mélanges du foin avec les trois résidus sur la base de la dégradabilité apparente est le suivant :

50% Résidus de pommes + 50% foin (**86.83%**) > 50% résidus d'oranges + 50% foin (**74.39%**) > 50% résidus de tomates + 50% foin (**67.91%**).

A partir de ces résultats, il apparaît que les mélanges ayant des pourcentages de dégradabilité apparente les plus élevés sont les mieux dégradables par la microflore ruminale. Inversement pour les mélanges se caractérisant par des pourcentages de dégradabilité faibles.

2.2.3-Variation du pH de l'inoculum après fermentation des différents substrats :

Après 144 h d'incubation, les valeurs moyennes de pH de différents substrats seuls ou en mélanges sont comprises entre 6.48 (résidus d'oranges + chrysanthèmes) et 6.96 (résidus de tomates + cardes) (tableau16).

Après fermentation, on constate que les résidus de pommes et les résidus d'oranges seuls ont significativement ($p < 0.05$) abaissé le pH initial moyen de l'inoculum avant fermentation (6.80) avec des taux d'abaissement estimés à 2.94 et 3.53% soit un pH : 6.56 et 6.60 pour respectivement les résidus d'oranges et les résidus de pommes.

Bien qu'une diminution dans les valeurs de pH final des autres substrats seuls par rapport à la valeur de pH initiale ait été enregistrée, nous ne notons aucune différence significative. Après fermentation, ils se présentent avec des moyennes de pH proches de celle de l'inoculum avant fermentation (6.80), soit : 6.77, 6.75, 6.74 et 6.71 pour respectivement, les cardes, les chrysanthèmes, la paille d'orge, le foin, et les résidus de tomates.

Le classement décroissant des substrats seuls sur la base de leur pH après fermentation est le suivant :

Résidus d'oranges (**6.56**) > résidus de pommes (**6.60**) > résidus de tomates (**6.71**) > foin (**6.71**) > paille d'orge (**6.74**) > chrysanthèmes (**6.75**) > cardes (**6.77**).

Tableau n° 16: Variation du pH au cours de la fermentation

Substrat	pH initial de l'inoculum	pH final
R. tomates	6.80 ± 0.12^{bc}	6.71 ± 0.08 ^{bcd}
R. oranges		6.56 ± 0.13 ^{cde}
R. pommes		6.60 ± 0.09 ^{cde}
paille d'orge		6.74 ± 0.09 ^{bcd}
foin		6.71 ± 0.14 ^{bcd}
chrysanthèmes		6.75 ± 0.13 ^{bcd}
cardes		6.77 ± 0.08 ^{bcd}
50% R. orange +50% foin		6.63 ± 0.03 ^{cde}
50% R. orange + 50%cardes		6.86 ± 0.04 ^b
50% R. orange + 50%chrysanthèmes		6.48 ± 0.02 ^e
50% R. tomates + 50% foin		6.78 ± 0.02 ^{bcd}
50% R. tomates + 50% cardes		6.96 ± 0.09 ^a
50% R. tomates + 50%chrysanthèmes		6.57 ± 0.02 ^{cde}
50% R. pommes + 50% foin		6.78 ± 0.03 ^{bcd}
50% R. pommes +50% cardes		6.70 ± 0.06 ^{bcd}
50%R. pommes + 50% chrysanthèmes	6.73 ± 0.04 ^{bcd}	

Les lettres en exposant signifient que les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes (**P<0.05**)

La même tendance est également enregistrée dans le cas de mélanges des résidus de pommes avec le foin, les cardes et les chrysanthèmes, les valeurs de pH final enregistrées sont voisines à 6.80, soit : 6.78, 6.73 et 6.70 pour respectivement le mélange des résidus de pommes avec le foin, les chrysanthèmes et les cardes.

Dans le cas de mélanges des résidus de tomates avec le foin (50 :50), aucune différence significative dans la valeur du pH final, par rapport au pH initial, n'a été observée. Le mélange donne un pH final relativement identique à 6.80, estimé à 6.78. En revanche, le mélange du même résidu avec les chrysanthèmes a significativement ($p < 0.05$) diminué le pH initial de l'inoculum avec 3.38%, soit un pH de 6.57. Une situation opposée est observée pour le mélange des résidus de tomates avec les cardes, nous notons une augmentation significative ($p < 0.05$) du pH initial avant fermentation avec un taux de 2.33%, soit un pH: 6.96

Ly *et al.* , 1997 explique cette augmentation du pH après fermentation, soit par la libération de CO₂ à partir du système tampon, engendré par la production et l'accumulation des acides gras volatils, soit par une augmentation de la concentration d'ammonium résultant de la dissolution du bicarbonate d'ammonium de la salive artificielle et/ou de l'activité protéasique de la microflore ruminale.

Le tableau 16 montre que le mélange des résidus d'orange avec les chrysanthèmes (6.48) est le mélange le plus acidifiant du milieu ruminal par rapport aux autres mélanges, soit un taux d'abaissement de 4.70% du pH initial. Un taux d'abaissement inférieur a été enregistré ($p < 0.05$) pour le mélanges du même avec le foin (2.5%), soit un pH de 6.63. La meilleure situation pour les résidus d'oranges est enregistrée dans le cas de leur mélange avec les cardes, nous n'enregistrons aucune différence importante dans la valeur du pH avant et après fermentation. Le pH demeure très proche à 6.80, soit : 6.86.

D'après Fonty *et al.*, 1994 ; Orskov et Ryle, 1990, la présence des substrats fermentescibles dans la ration des ruminants entraîne des fermentations intenses et une production excessive d'acides gras volatils dont l'effet direct peut entraîner une acidose. Par ailleurs, Kayouli *et al.*, 1991 ; Jouany *et al.*, 1994 ont montré que le dromadaire se distingue, par rapport aux autres ruminants, par son pouvoir tampon élevé à l'égard des conditions acides.

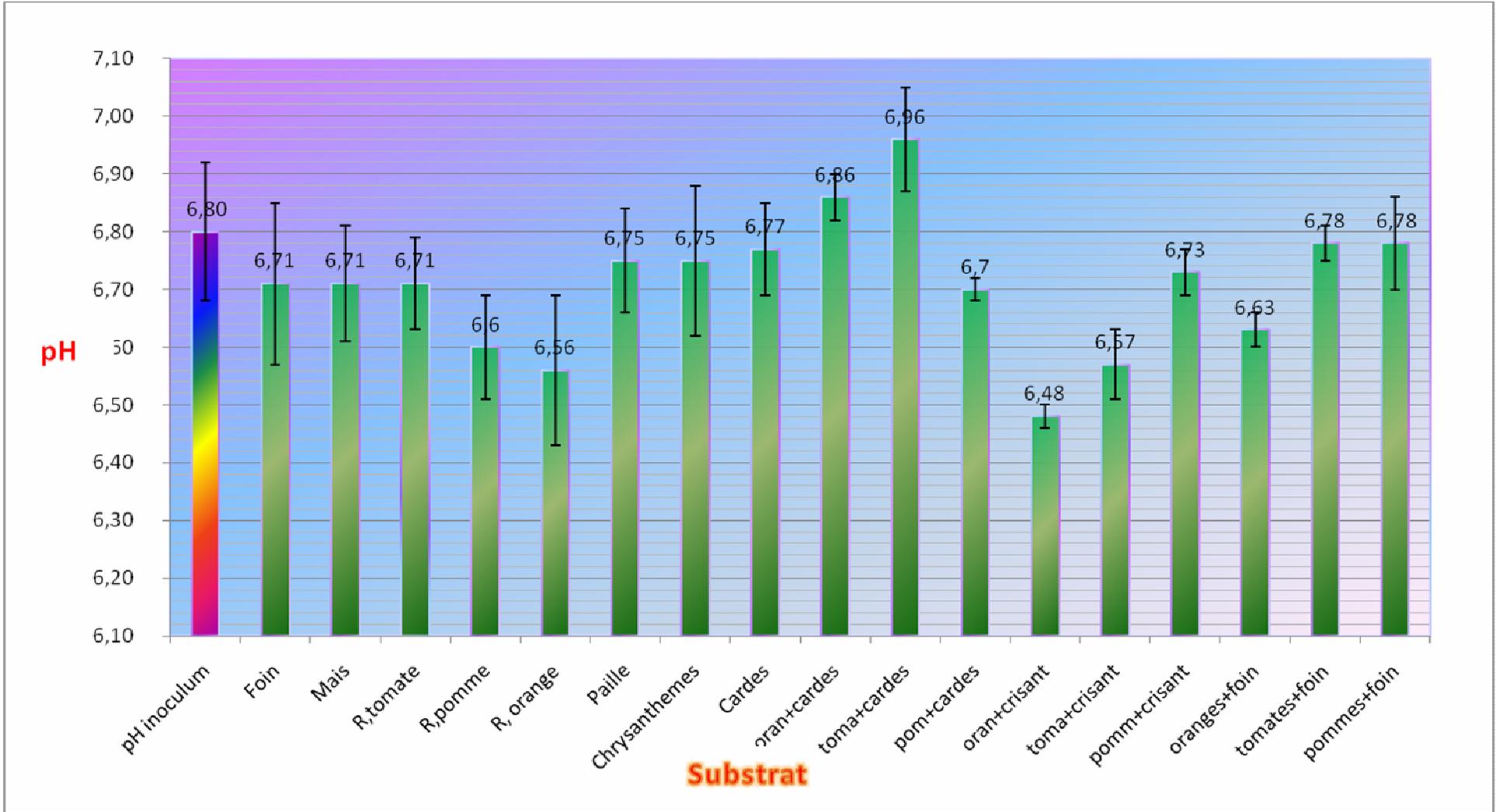


Figure n° 14 : Valeurs du pH des différents substrats seuls ou mélangés après 144 h d'incubation, comparés au pH initial de l'inoculum

Le classement décroissant des mélanges des résidus avec les fourrages sur la base de leur pH après fermentation est le suivant :

Résidus d'oranges + chrysanthèmes (**6.48**) > résidus de tomates + chrysanthèmes (**6.57**) > résidus d'oranges + foin (**6.63**) > résidus de pommes + cardes (**6.70**) > résidus de pommes + chrysanthèmes (**6.73**) > résidus de pomme % + foin (**6.78**) > résidus de tomates + foin (**6.78**) > résidus d'oranges + cardes (**6.86**) > résidus de tomates + cardes (**6.96**).

Dans l'un ou l'autre cas, les valeurs des pH enregistrées demeurent au dessus d'une valeur de 6.4 en fin de fermentation, ce qui représente une valeur optimale à une activité microbienne maximale.

CONCLUSION
GENERALE

Les sous produits agroalimentaires sont de qualité nutritionnelle appréciable mais variable. Ils sont particulièrement riches en énergie digestible et offrent des possibilités d'utilisation chez plusieurs catégories de ruminants.

L'observation microscopique a permis de mettre en évidence la composition bactérienne de nos inocula. Elle a montré une dominance absolue des bactéries Gram négatifs par rapport aux bactéries Gram positifs, La filtration a enrichi les inocula en bactéries Gram- en les appauvrissant en bactéries Gram+. Les différentes formes bactériennes se présentent avec des taux pratiquement similaires avant et après filtration.

L'analyse chimique des quatre fourrages révèle que leur contenu en parois totale est élevé avec une teneur modérée en lignine. Inversement, un taux faible en parois totale est enregistré pour les trois résidus agroalimentaires. De plus, tous les substrats s'avèrent pauvres en matières azotée, de ce fait, un supplément azoté est indispensable à l'alimentation des ruminants à base de nos substrats.

La valeur de la capacité tampon la plus élevée est enregistrée pour les résidus de tomates tandis que la plus faible est notée pour les résidus de pommes. Les fourrages naturels étudiés ont une capacité tampon intermédiaire. Les mélanges des résidus de tomates et les résidus d'oranges avec le foin (50 : 50), ainsi que le mélange des résidus de pommes avec les cardes demeurent les meilleures combinaisons du fait qu'ils présentent des capacités tampon les plus élevées comparativement aux autres mélanges.

Après 144h de fermentation, outre les quantités de gaz élevées enregistrées pour les résidus agroalimentaires, ils présentent des pourcentages de dégradabilité apparente élevés. En effet, il s'avère que les résidus agroalimentaires sont activement métabolisés par la microflore ruminale de dromadaire par rapport aux fourrages naturels fibreux. Cette situation est due probablement à leur composition chimique.

Dans le cas des mélanges, la quantité de gaz produite, ainsi que le pourcentage de dégradabilité apparente sont affectées différemment selon le type de mélange effectué. De plus, les valeurs de pH enregistrées après fermentation demeurent au dessus de 6.4, ce qui représente une valeur optimale pour une activité microbienne maximale.

Sur la base des résultats de la fermentescibilité *in vitro*, de la capacité tampon et de la dégradabilité apparente, le classement décroissant de tous les mélanges sur la base de leur potentialité comme aliments alternatif est comme suit :

50 % Résidus de tomates +50% foin > 50% résidus de tomates + 50% cardes > 50% résidus de pommes + 50% cardes > 50% résidus de pommes + 50% chrysanthèmes > 50% résidus d'oranges +50% cardes.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- 1- Ademe. 2000.** Les coproduits d'origine végétale des industries agroalimentaires. Ademe Edition, 76 p.
- 2- Aghajanzadeh- Golshani A., Maheri-Sis N., Mirzaei A. and Baradara-Hasanzadeh A. 2010.** Comparaison of Nutritional Value of tomato pomace and brewer's grain for ruminant using *in vitro* gas production technique. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, pp.1-9.
- 3- Allison H., Leek D.A., Swenson S. and Reece S. 2007.** Rumen Microbiology and Fermentation. *Animal Nutrition Handbook*, 3: 54-63.
- 4- Akin D.E. and Benner R. 1988.** Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 1117-1125.
- 5- Ampuero S. 2008.** Détermination de la teneur en fibres des aliments pour animaux à ALP. ALP Posieux, pp. 1-5.
- 6- Amrani O. 2006.** Valeur nutritive du charbon marie (*Silybum marianum*). Mémoire de magister en Sciences Agronomiques. Option, Agrotechnie, pp. 45-52.
- 7- Andrieu J., Demarquilly C. et Sauvant D. 1988.** Tables des valeurs nutritives des aliments. In : Alimentation des bovins, ovins et caprins. (Eds), INRA, Paris, pp. 353-443.
- 8- Andrighetto I., Gruber L., Cozzi G., Uray G., Giidetti G. and Buchgreaber K. 1992.** Prediction of digestible organic matter in dry matter *in vivo* from the chemical composition, *in vitro* and *in situ* measurement on native mountain forages. *Animal Feed Science and Technologie*, 39: 323-333.
- 9- A.O.A.C, 1990.** Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, AOAC, Arlington, VA.
- 10- 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 d'Etat. ISN. Université de Constantine, Algérie, pp. 29-35.

- 11- Bampidis V.A. and Robinson P.H. 2006.** Citrus by-products as ruminant feed : A Review. *Animal Feed Science and Technology*, 128 :175-217.
- 12- Bauchop T. 1981.** The anaerobic fungi in rumen fiber digestion. *Agri. Environ*, 6 : 339-348.
- 13- Baumgärtel T., Kluth H., Epperlein K. and Rodehutsord M. 2007.** A note on digestibility and energy value for sheep of different grape pomace. *Small Ruminant Research*, 67 : 302-306.
- 14- Ben Salem H., Makkar H.P.S. and Nefzaoui A. 2001.** Towards better utilisation of non-conventional feed sources by sheep and goats in some African and Asian countries. Laboratoire des Productions Animales et Fourragères, INRA- Tunisie, pp. 177-187.
- 15- Bergen G.W. 1977.** Factors affecting growth yields of micro-organisms in the rumen. *Trop. Anim. Prod*, pp. 4-1.
- 16- Bernalier A., Fonty G. and Gouet P. 1991.** Cellulose degradation by two rumen anaerobic fungi monoculture with rumen bacteria. *Animal Feed Science and Technology*, 32 :131-136.
- 17- Bernalier A., Fonty G., Bonnemoy F. and Gouet P. 1993.** Inhibition of cellulolytic activity of *Neocalimastix fromalis* by *Ruminococcus flavefaciens*. *J. Gen. Microbiol*, 1389 : 873-880.
- 18- Bernalier A., Fonty G., Bonnemoy F. and Gouet P. 1992.** Degradation and fermentation of cellulose by rumen anaerobic fungi in axenic cultures or in association with cellulolytic bacteria. *Curr. Microbiol*, 25 :143-148.
- 19- Besharati M., Taghizadeh A., Janmohammadi H. and Moghadam G.A. 2008.** Evaluation of some by-product using *in situ* and *in vitro* gas production techniques. *American Journal of Animal and Veterinary Science*, 3 (1) : 7-12.
- 20- Bestle J M. et Jouany J P. 1990.** La biomasse pariétale des fourrages et sa valorisation par les herbivores. INRA. *Pro. Anim*, 3 (1): 39-50.

- 21- Bonnefont C. 2008.** Le potentiel Redox et le milieu ruminal. Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse, pp : 4-24.
- 22- Boudra H., Morgavi D.P., Galtier P. and Michalet-Dreau B. 2002.** Presence de moisissures toxigènes et des mycotoxines dans les fourrages conservés. Signification et prévention. In : Proceeding des 9^{es} rencontres autour des recherches sur les ruminants (3R), Paris, 9:17-23.
- 23- Brooker J.D., O' Donovan L.A., Skene I., Clarke K., Blackall L. and Muslera P. 1994.** *Streptococcus caprinus* sp. A tannin resistant ruminal bacterium from feral goats. *Lett. Appl. Microbiol.*, 18: 313-318.
- 24- Bryant M.P., Burkey L.A. 1953.** Number and some predominate groups of bacteria in the rumens of cows fed different diets. *J. Dairy. Sci.*, 36: 218-224.
- 25- Burk A.D. and Turabasso P.A. 2000.** Antibiosis between ruminal bacteria and ruminal fungi. *Applied Environmental Microbiology*, 66 (7): 2921-2927.
- 26- Cabiddu A., Addis M., Pinna G., Decandia M., Sitzia M., Pierreda A. Pirisi G. and Molle G. 2006.** Effect of corn and beet pulp concentrates on sheep milk and cheese fatty acid composition when fed mediterranean fresh forages with particular reference to conjugated linoleic acid cis-9, trans-11. *Animal Feed Science and Technology*, 131: 292-311.
- 27- Chaudhry A.S. and Miller E.L. 1994.** *In vitro* digestibility of barley and wheat straws treated with hydrogen peroxide, sodium hydroxide and sodium peroxyde under various conditions. *Animal Feed Science and Technology*, 50: 1-15.
- 28- Chehma A. 1988.** Contribution à l'étude quantitative de la valeur alimentaire des sous produits du palmier dattier chez le mouton et le dromadaire en zone aride. Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques. Institut National Agronomique, pp. 32-38.
- 29- Chenost M. 1991.** Utilisation digestive des pailles. *Options Méditerranéennes*. Série séminaires, 16: 67-72.

- 30- Chermiti A., Nefzaoui A., Teller E. et Vanbelle M. 1991.** Variation de l'ingestion volontaire des lignocelluloses chez les ruminants (cas des pailles de céréales). *Options Méditerranéennes. Série séminaires*, 16 : 61-65.
- 31- Chevalier F.H. 2001.** La digestion ruminale des amidons : cinétique et application. Thèse Med. Vet, Telouse, pp. 65-82.
- 32- Cone J.W., Van Gelder A.H., Visscher G.J.W and Outshoorn L. 1996.** Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. *Animal Feed Science and Technologie*, 61: 113-128.
- 33- Cotte F. 2000.** Etude de la valeur alimentaire des pulpes de tomates. Thèse Med.Vet., Lyon I, pp.40-56 ; 64-67.
- 34- Cuvelier C., Cabaraux J-F., Dufrasne L. et Hornick J-L. 2005.** Production, digestion et absorption des acides gras chez le ruminant. *Ann. Méd. Vet*, 149: 49-59.
- 35- Daccord R. et Jeans F.1977.** Utilisation de la paille dans l'alimentation des bovins. *Revue Suisse Agric*, 33 (1) : 33-37.
- 36- Demarquilly C., Fevrier C. et Lessire M. 2002.** Valorisation par les animaux des coproduits des IAA. In : *Gestion des problèmes environnementaux dans les industries agroalimentaires*. Moletta R. (Eds.), Technique& Documentation, Paris, pp.379-404.
- 37- Demeyer D. et Fievez V. 2000.** Ruminants et environnement : la méthanogènes. INRA.EDP science, *Annales de Zootechnie*, 49 : 95-112.
- 38- Donefer E., Niemann P.J., Crampton E.W. and Liloyd L.E. 1963.** Dry matter disappearance by enzymzs and aqueous solution to predict the nutritive value of fourages. *Journal of Dairy Science*, 46 : 965-970.
- 39- El Shazly .K., Johnson R.R., Dehority B.A. and Moxon A.L. 1961.** Biochemical and microscopic comparaison *in vivo* and *in vitro* fermentation. *J. Anim. Sci*, 20 : 839-843.

- 40- Fonty G., Jouany J.P., Forano E. et Gouet Ph. 1986.** Interaction entre espèces microbiennes dans le rumen. *Reprod. Nutr. Dev.*, 26 : 147-159.
- 41- Fonty G., Forano E., Gaudet G., Komisarczuk S. et Gouet Ph. 1988a.** Données nouvelles sur les bactéries cellulolytiques *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 28 : 19-32.
- 42- Fonty G., Grenet E., Fevre M., Breton A. et Gouet Ph. 1988 b.** Ecologie et fonctions des champignons anaérobies du rumen. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 1 : 1-18.
- 43- Fonty G. and Joblin K.N. 1991.** Rumen anaerobic fungi : their rôle and interaction with other rumen microorganisms in relation to fiber digestion. In : Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. San Diego : Academic Press, pp.665-79.
- 44- Fonty G., Jouany J.P., Forano E. et Gouet Ph. 1994.** L'écosystème microbien du reticulo- rumen. In : Nutrition des Ruminants Domestiques, Ingestion et digestion. Jarrige R., Ruckesusch Y., Demarquilly C., Farce M-H. et Journet M. (Eds), Paris, France, pp.299-348.
- 45- Fonty G. et Morvan B. 1996.** Ruminal methanogenesis and its alternative. *Annales de Zootechnie*, 45 : 313-8.
- 46- Fonty G. et Forano E. 1999.** Ecologie de la dégradation et de la fermentation des polysaccharides constitutifs des parois végétales dans le rumen. *Cahier Agriculture*, 8 (1): 21-35.
- 47- Fonty G. et Chaucheyras-Durand F. 2007.** Les écosystèmes digestifs. (Eds), Technique & Documentation, Paris, pp. 79-94 ; 158-187 ; 204-217 ; 252-265.
- 48- Forano E., Broussolle V. et Duraud D. 1996.** Degradation of plant cell wall polysaccharides by rumen bacteria and fungi. *Annales de Zootechnie*, 45 : 55-66.
- 49- Fournier F. 2003.** Nouvel outil pour évaluer avec plus de précision la valeur nutritive des fourrages. Conseil Québécois des plantes fourragères, Info-Fourrages, N° : 1.

- 50- Giger-Reverdin S., Duvaux- Ponter., Sauvant D., Martin O., Nunes I. and Muller R. 2002.** Intrinsic buffering capacity of feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 96: 83-102.
- 51- Graham L .P. and Malcolm J.L. 1979.** Characteristics of enzymes produced by *Ruminococcus flavefaciens* which degrade plant cell walls. *Journal of General Microbiology*, 110: 21-27.
- 52- Grasser L.A., Fadel J.G., Garnet I. and De Peters E.j. 1995.** Quantity and economic importance of nine selected by-products used in California dairy rations. *Journal of Dairy Science*, 78: 962-971.
- 53- Grenet E. 1997.** Aspects microscopiques de la dégradation microbienne des tissus végétaux dans le rumen. *INRA Prod. Anim*, 10(3) : 241-249.
- 54- Griswoold K. E. and Mackie R.I. 1997.** Dégradation of protein and utilization of the hydrolic products by a predominant ruminal bacterium, *Prevotella ruminicola*. *Journal of Dairy Science*, 80: 167-175.
- 55- Guetitcha H. 2001.** Etude de la fermentescibilité *in vitro* de sous produits industriels par la microflore ruminale de caprins. Mémoire de magister. ISN. Université de Constantine. pp. 41-46.
- 56- Guillaume H.B. 2007.** Flore du Rumen : Origine, Composition, Evolution, Conséquence Physiopathologiques. Thèse Med. Vet, Alfort, pp. 21-47.
- 57- Hoover W.H. 1996.** Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal of Dairy Science*, 69 : 2755-2766.
- 58- Inrat. 1997.** Stage d'initiation aux méthodes chimiques et biologiques de détermination de la valeur nutritive des aliments pour animaux. INRAT, Laboratoire de Nutrition Animal, Tunis. pp.80.
- 59- Jarrige R. 1988.** Ingestion et digestion des aliments. In : Alimentation des bovins, ovins et caprins. (Eds), INRA, Paris, pp. 29-56.

60- Jarrige R., Grenet E., Demarquilly C. et Bestle J.M. 1995. Les constituants de l'appareil végétal des plantes fourragères. In Nutrition des ruminants domestiques- Ingestion et Digestion. (Eds), INRA, Paris, pp.25-81.

61- Jouany J.P. 1994. Les fermentations dans le rumen et leur optimisation. *INRA Prod Anim*, 7(3): 207-225.

62- Jouany J.P. and Ushida K. 1988. The role of protozoa in feed digestion. *Asian-Australian. J. Anim. Sci*, 12 :113-128.

63- Jouany J.P., Daridllat C., Kayouli C. 1995. Microbial cell wall digestion in camelides. Elevage et alimentation du dromadaire. *Option méditerranéennes* : 33-42.

64- Kafilzadeh F., Taasoli G. and Maleki A. 2008. Kinetics of Digestion and Fermentation of Apple Pomace from Juice and Puree Making. *Research Journal of Biological Sciences*, 3 (10): 1143-1146.

65- Kamara D.N. 2005. Rumen microbial ecosystem. *Current Science*, 89 (1): 124-131.

66- Kayouli C., Jouany J.P., Ben Amour J. 1991. Comparaison of microbial activity in the forestomachs of dromadary and the sheep measured *in vitro* and *in sacco* on mediterranean roughtages. *Animal Feed Science and Technology*, 133: 237-245.

67- Keiji O and Soichi I. 1981. Atlas of microbiology. Japan Scientific Societies. Press. Tokyo, pp. 56-85.

68- Klieve A.V., Hudman J.F.and Bauchop T. 1989. Inductible bacteriophages from ruminal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol*, 55: 1630-1634.

69- Krumholz L.R., Forsberg C.W. and Veira D.M. 1983. Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa. *Can. J. Microbiol*, 20: 676-80

70- Ly J. 1997. A study of washing losses and *in vitro* gas production characteristics of nine leaves from tropical trees and shrubs for ruminants. *Liv. Res. For Rur. Dev.* Vol. 9, N° 3.

71- Madrid J., Dolores Megias M. and Hernandez F. 2002. *In vitro* détermination of dry matter and cell wall dégradation, and production of fermentation end-product of various by-products. *Anim .Res*, 51: 189-199.

72- Martinez J., Jordan H., Chongo B., Hernández N., Pedraza R.M., Fontes D., Lezcano Y., Cubilas N. and Sarduy L. 2008. Some nutritive Characteristics of fresh grapefruit (*Citrus paradisi* cv. Marsh) peel kept in stowage. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 42(1):51-59.

73- Mbaye N.D. and Sall C.H. 1999. Prediction of nutritive value of some crop residues and agroindustrial by product from their chemical composition. Laboratoire National de l'élevage et e Recherches Veterinaires. Institut Senegalais de Rcherche Agricoles (ISRA).Dakar- Hann, Sénégal, pp. 5-14.

74- Mc Dowell R.E. 1988. Importance of crop residues for feeding livestock in small holder farming system. *Anim. Physio.and Anim. Nutr*, 77: 35-43.

75- Mc Sweeney C.S., Allison M.J. and Mackie R.I. 1993. Amino acid utilisation by the ruminal bacterium *Synergistes jonesii* strain 78-1. *Arch. Microbiol*, 159: 131-135.

76- Medjekal S, 2003. Etude de la fermentescibilité *in vitro* de sous produits de l'agronomie saharienne par la microflore ruminal de caprin. Mémoire de magister. ISN. Université de Constantine, pp. 38-42.

77- Megias Dolores M., Fuenanta H., Madrid J. and Martinez A. 2002. Fedding value, *in vitro* digestibility and *in vitro* gas production of different by-product for ruminant nutrition. *J. Sci .Food Agricu*, 82: 567-572.

78- Megias Rivas M.D., Gallego Barrna J.A., Martinez Teruel A. and Gomez Castro A.G. 1991. Silage of by- products of orange. Evolution and modification of quality of fermentation. *Options méditerranéennes. Série séminaires*, 16: 145-147.

79- Menke K.H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D., Shneider 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. *Journal of Agricultural Science Casab*, 97: 217-222.

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

81- Menke K.H. and Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28: 7-55.

82- Meyer S., Reeb C. and Bosdeveix R. 2005. Botanique (biologie et physiologie végétale). (Eds), Maloine, Paris, pp.6-10.

83- Mirzaei- Aghsaghali A. and Maheri- Sis N. 2008. Nutritive value of some agroindustrial by-product for ruminants- A Review. *World Journal of Zoology*, 3 (2) : 40-46.

84- Moharrery A. 2007. The Détermination of Buffering Capacity of Some Ruminants Feedstuffs and their Cumulative Effects on TMR Ration. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2(4): 72-78.

85- Morrison I.M. 1979. Carbohydrate Metabolism in The Ruminant. Carbohydrate chemistry and rumen digestion. *Proc. Nutr. Soc*, 38 : 269-274

86- Murray N. 2008. Biologie végétale. Structure, Fonctionnement, Ecologie et Biotechnologie. (Eds), Pearson, Paris, pp. 36-40.

87- Nasser M.E.A., El- Waziry A.M. and Saliam S.M.A. 2009. *In vitro* production measurement and estimated energy value and microbial protein to investigate associative effects of untreated or biological treated linen straw and berseem hay. Animal Production Departement, Faculty of Agriculture, Alexandria University, El-Shatby, Alexandria (Egypt). pp. 261-275.

- 88- Nourris K.H., Barnes R.F., Moore J.E. and Shenk J.S. 1967.** Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Animal Science*, 43 : 889-897.
- 89- Nshalai I.V., Siaw D.E.K.A. and Osuji P.O. 1994.** The relationship between gas production and chemical composition of 23 browses of the genus *Sesbania*. *J. Sic Food and Agri*, 65 :13-20.
- 90- Nsahlal L.V. and Umunna N.N. 1996.** Comparaison between reconstitued sheep faeces and rumen fluid inocula and between *in vitro* and in sacco digestibility methods as predictors of intake and *in vivo* digestibility. *J. Agric. Sci. Camb*, 126 : 235-248
- 91- Orskov E.R. and Ryle M. 1990.** Utilization of the energy of absorbed nutriments. *Animal Research and Development*, 54 : 12-41.
- 92- Pagan J.D. 2007.** Forage buffering capacity factor in gastric ulcers. *Feedstuffs Reprint*, 79 (54) : pp. 1.
- 93- Patterson J.A. 1992.** Rumen microbiologie. In : Lederberg J. *Encyclopedia of microbiology*. (Eds), Academic Press, Vol 3M-R, pp.458-470.
- 94- Pedraza Olivera R.M. 1988.** Use of *in vitro* gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fractions on the nutritive value of forages. *Small Ruminant Research*, 31 : 324-348.
- 95- Pell A.N. and Shofield P. 1993.** Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, 76 : 1063-1073.
- 96- Piquer O., Rodenas L., Casado C., Blas E. and Pascual J.J. 2009.** Whole citrus fruits as an alternative to wheat grain o citrus pulp in sheep diet : Effect on th evolution of ruminal parameters. *Small Ruminant Research*, 83 : 14-21.
- 97- Pirmohammadi R., Rouzbehan Y., Rezayazdi K. and Zahedifar M. 2006.** Chemical composition, digestibilité and *in situ* degradability of dried and ensiled apple pomace and maize silage. *Small Ruminant Research*, 66 :150-155.

- 98- Proot J. 2002.** Les technologies propres appliquées aux industries agroalimentaires. Aris.T, Bourgone, pp.12
- 99- Raven P.H., Evert R.F.and Eichhorn S.E. 2007.** Biologie végétale. (Eds), De Boeck, Paris, pp. 53-58.
- 100- Res D. Vian B. et Bajon C. 2006.** Le monde des fibres. (Eds), Belin, Paris, pp. 17-26, 27-36, 323-334.
- 101- Rihani N. 1991.** Valeur alimentaire des sous-produits des agrumes en alimentation animale. *Options méditerranéennes*. Série séminaires, 16:113-117.
- 102- Rihani N., Guessons M.E.F. 1985.** Utilisation de quelque sous produits agroindustriels pour l'engraissement des ovins. *Journal. Biot*, 54 : 26-34.
- 103- Sarmi- Manchado P. et Cleynier V. 2006.** Les polyphenols en agroalimentaire. (Eds), Technique & Documentation, Paris, pp. 3-11.
- 104- Sauvant D. et Michalet-Doreau B. 1988.** Les aliments concentrés. In : Alimentation des bovins, ovins et caprins. Jarrige R. (Eds), INRA, (Paris), pp.337-349.
- 105- Sauvant D, Meschy D.R. et Mertens D. 1999.** Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. *INRA. Prod Anim*, 12 : 49-60.
- 106- Slater A.L., Eastridge M.L., Firkins J.L., Bidinger L.J. 2000.** Effect of starch source and level of forage Neutral Detergent Fiber on Performance of dairy cows. *J.Dairy. Sci*, 83 : 313-321.
- 107- Statistical Analysis System, 1979,** version 6. Cary NC. USA.
- 108- Tilley J.M.A and Terry R.A. 1963.** A two stage technique for in vitro digestion of forage crops. *Journal British Grassland Society*, 18 : 104-111.
- 109- Tokua M., Chagan T., Ushida K. and Kojima I. 1999.** Phylogenetic study of methanogens associated with rumen ciliates. *Curr. Microb*, 39 : 123-128.

- 110- Tomme P., Warren R.A.J. AND Gilkes N.R. 1995.** Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi. *Adv. Microb. Physiol*, 37:1-81.
- 111- Tripodo M.M., Lanuzza F., Micali G., Coppolino R. and Nucita F. 2004.** Citrus waste recovery: a new environmentally friendly procedure to obtain animal feed. *Bioresource Technology*, 91: 111-115.
- 112- Ushida K., Jouany J.P. AND Demeyer D.I. 1991.** Effects of presence or absence of rumen protozoa and the efficiency of utilisation of concentrate and fibrous feeds. In : Tsuda T., Sasaki Y. and Kawashima R. *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminant*. Academic Press, Tokyo, pp. 625-654.
- 113- Valente M.E., Borreani G., Caredda S., Cavallarini L. and Sulas L. 2003.** Ensiling forage garland (*Chrysanthemum coronarium* L.) at two stages of maturity and at different wilting levels. *Animal Feed Science and Technology*, 108: 181-190.
- 114- Valizadeh R. and Sobhanirad S. 2009.** The potential of agro- industrial by-products as feed sources for livestock in Khosan Razavi province of Iran. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (11) :2375-2379.
- 115- Van Soest P.J. and Wine R.H. 1967.** Use of detergent analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Ass. Off. Anal. Chem*, 50: 50-56
- 116- Vasta V., Nudda A., Cannas A., Lanza M. and Priolo A. 2008.** Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminant. *Animal Feed Science and Technology*, 147: 223-246
- 117- Vendruscolo F., Albuquerque P.M., Streit F. 2008.** Apple pomace: A versatile substrate for biotechnological application. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28: 1-12
- 118- Ventura M.R., Pieltain M.C. and Castanon J.I.R. 2009.** Evaluation of tomato crop by-product as feed for goats. *Animal Feed Science and Technology*, pp. 1-5.
- 119- Viet T.Q and Kien D.D. 2001.** Dried rice straw and ureated rice straw as main fodder resources for local cattle in the dry season. *Prod. Anim*, 5(2) : 125-131.

- 120- Villas-Bôas S.G., Esposito E and Matos de Mendonça M. 2003.** Bioconversion of Apple pomace into a nutritionally substrate by *Candida utilis* and *Pleurotus ostreatus*. *World Journal of Microbiologie and Biotechnologie*, 19 : 461-467.
- 121- Wallace R.J. and Cotta M.A. 1988.** Metabolism of nitrogen- containing compound. In : Hobson PN editors. The rumen microbial ecosystem. *Elsevier Science Publishing*, New York, p. 217-249.
- 122- Wang Z., Eastridge M.L. 2001.** Effect of forage neutral detergent fiber and yeast culture on performance of cows during early lactation. *J.Dairy. Sci*, 84 (1) : 204-211.
- 123- Weimer P.j., Lopez- Guisa., French A.D. 1990.** Effect of cellulose fine structure on kinetics of its digestion by mixed ruminal microorganisms in vitro. *Appl. Environ. Microbiol*, 8 : 2421-2429.
- 124- Williams A. G. and Withers S.E. 1981.** The Production of plant cell wall polysaccharides-degrading enzymes by hemicellulolytic rumen bacterial isolates grown on a range of carbohydrate substrates. *Journal of Applied Bacteriology*, 52 : 377-387.
- 125- Williams B.A. 2000.** Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. Institute of Animal Science, Wageningen, pp.189-213.
- 126- Wolin M.J. and Miller T.L. 1988.** Microbe-Microbe interactions. In : Hobson PN. The rumen microbial ecosystem. Elsevier Science Publishers Ltd, pp.343-459.

Résumé

Dans ce travail, nous avons étudié les caractéristiques physico – chimiques et biologiques de trois résidus issus de l'industrie agroalimentaire ; il s'agit de résidus de tomates, de pommes et d'oranges seuls ou mélangés avec des fourrages naturels fibreux : paille d'orge, foin, chrysanthèmes (*Chrysanthemum coronarium*) et cardes (*Silybum marianum*). Ainsi, la composition chimique, la capacité tampon, la dégradabilité apparente et l'activité de la microflore ruminale *in vitro* ont été déterminées. Cela afin d'envisager la possibilité de leur utilisation dans l'alimentation des ruminants.

Les analyses chimiques montrent que les résidus agroalimentaires présentent une composition pariétale faible (NDF, ADF, ADL) par rapport aux fourrages naturels. On note aussi que tous les substrats sont pauvres en azote (< 6% de MS) excepté les résidus de tomates (12% de MS).

Sur la base des résultats de la fermentescibilité *in vitro*, de la capacité tampon et de la dégradabilité apparente, on peut classer les mélanges sur la base de leur potentialité comme aliments alternatifs comme suit:

Résidus de tomates + foin > résidus de tomates + cardes > résidus de pommes + cardes > résidus de pommes + chrysanthèmes > résidus d'oranges + cardes. L'utilisation des autres mélanges devrait être limitée à cause des risques qu'ils pourraient comporter aux animaux.

Summary

In this work, we have studied the physico-chemical and biological characteristics of three residues from the food industry, it was tomatoes, apples and oranges residues alone or mixed with natural fibrous forages: straw barley, hay, chrysanthemums (*Chrysanthemum coronarium*) and chards (*Silybum marianum*). The chemical composition, buffering capacity, apparent degradability and rumen microbial activity are also studied *in vitro*. This is in order to envisage the possibility of their use in ruminant feed.

The chemical analysis showed that food residues present a low total wall constituents (NDF, ADF, and ADL) compared to natural forages. We also note that all substrates are poor in nitrogen (<6% DM) except for the tomato residue (12% DM).

According to the results of the *in vitro* fermentability, the buffering capacity and apparent degradability, mixtures can be classified based on their potential as alternative foods as follows:

Tomatoes residues + hay > + tomatoes residues + chard > apples residues + chard > apples residues + chrysanthemums > oranges residues + chard.

The use of other mixtures should be limited because of the risks they may carry to animals

ملخص

في هذا العمل، قمنا بدراسة الخصائص الفيزيو - كيميائية والبيولوجية لثلاثة أنواع من بقايا الصناعة الغذائية والمتمثلة في بقايا الطماطم، التفاح والبرنقال على حدا أو ممزوجة مع العلف الليفي الطبيعي: القش، قش الشعير، الأقحوان (*Chrysanthemum coronarium*) و الشوندرية (*Silybum marianum*) كما درسنا أيضا التركيب الكيميائي، قدرة امتصاص الحموضة، درجة التحلل الظاهرية و نشاط بكتيريا الكرش مخبريا. هذا من اجل النظر في إمكانية استخدامها في تغذية الحيوانات المجتررة.

وأظهر التحليل الكيميائي أن بقايا الصناعة الغذائية ذات جدار ذو بنية فقيرة (NDF, ADF, ADL) مقارنة بالعلف الطبيعي. ونلاحظ أيضا أن جميع المركبات فقيرة من حيث النيتروجين (أقل من 6 ٪ مادة جافة) باستثناء بقايا الطماطم (12 ٪ مادة جافة). واستنادا إلى نتائج التخمير المخبري، و قدرة امتصاص الحموضة ودرجة التحلل الظاهرية، يمكن تصنيف المزائج على أساس إمكانية استعمالها كأطعمة بديلة على النحو التالي:

بقايا الطماطم + القش < بقايا الطماطم + الشوندرية < بقايا التفاح + الشوندرية < بقايا التفاح + الأقحوان < بقايا البرنقال + الشوندرية.

وينبغي الحد من استخدام المزائج الأخرى بسبب المخاطر التي قد تترتب عليها.

Nom : AMOKRANE

Prénom : Serine

Date de soutenance :

Titre : Etude des prétraitements microbiologiques des résidus agroalimentaires lignocellulosiques en vue de leur valorisation en alimentation animale

Résumé

Dans ce travail, nous avons étudié les caractéristiques physico – chimiques et biologiques de trois résidus issus de l'industrie agroalimentaire ; il s'agit de résidus de tomates, de pommes et d'oranges seuls ou mélangés avec des fourrages naturels fibreux : paille d'orge, foin, chrysanthèmes (*Chrysanthemum coronarium*) et cardes (*Silybum marianum*). Ainsi, la composition chimique, la capacité tampon, la dégradabilité apparente et l'activité de la microflore ruminale *in vitro* ont été déterminées. Cela afin d'envisager la possibilité de leur utilisation dans l'alimentation des ruminants.

Les analyses chimiques montrent que les résidus agroalimentaires présentent une composition pariétale faible (NDF, ADF, ADL) par rapport aux fourrages naturels. On note aussi que tous les substrats sont pauvres en azote (< 6% de MS) excepté les résidus de tomates (12% de MS).

Sur la base des résultats de la fermentescibilité *in vitro*, de la capacité tampon et de la dégradabilité apparente, on peut classer les mélanges sur la base de leur potentialité comme aliments alternatifs comme suit:

Résidus de tomates + foin > résidus de tomates + cardes > résidus de pommes + cardes > résidus de pommes + chrysanthèmes > résidus d'oranges + cardes. L'utilisation des autres mélanges devrait être limitée à cause des risques qu'ils pourraient comporter aux animaux.

Mots clés :

Résidus agroalimentaires, valorisation, microflore ruminale, fermentescibilité *in vitro*, mélanges, dromadaire.

Laboratoire de recherche

**Laboratoire de biotechnologie microbienne. Département de Biochimie-
Microbiologie Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

Membre du jury :

Président : Benguedouar A Professeur à l'université de Constantine
Rapporteur : Haddi M.L Maitre de conférences à l'université de Constantine
Examineurs : Boudemagh A Maitre de conférences à l'université de Constantine
Kitouni M Maitre de conférences à l'université de Constantine
Mihoubi I Maitre de conférences à l'université de Constantine