



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**



**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE EL-HADJ LAKHDAR BATNA
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES**



MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Filière

Sciences vétérinaires

Option

Maitrise des facteurs de la reproduction chez les herbivores

Présenté par :

BOUSSAADA Amina

Thème

**ETUDE *IN VITRO* DES FLAVONOÏDES PURIFIÉS SUR LA
MÉTHANOGENÈSE RUMINALE CHEZ LES OVINS : CAS DE LA
QUERCETINE**

Soutenu publiquement le : 03/07/2011

Devant le jury composé de :

Président : MEZIANE T.

Prof.- Université El Hadj Lakhdar Batna.

Rapporteur : DJABRI B.

M.C.- Université Laarbi Tébessa Tébessa.

Examineur: TLIDJENE M.

Prof.- Université El Hadj Lakhdar Batna.

Examineur : ARHAB R.

M.C.- Université Laarbi Tébessa Tébessa.

Année universitaire : 2010-2011



REMERCIEMENTS

Louange et glorification à dieu dont beaucoup de choses dépendent, parmi elles la réalisation de ce travail.

A l'issue de la réalisation du présent mémoire :

Je me plie à cette aimable tradition, qui est de remercier toutes les personnes qui de près et ou loin, par leur compréhension, leurs coopération, m'ont facilité la tâche et contribué à la mise en œuvre de ce travail.

J'adresse mes plus sincères remerciements au Dr. DJABRI B., mon promoteur pour m'avoir incluse dans son équipe et de m'avoir donné toute les facilités. Je le remercie pour la précieuse aide qu'il m'a offerte et les judicieux conseils qu'il ma prodigués tout au long de ce travail. Sa grande disponibilité malgré ses occupations professionnelles, ainsi que la confiance qu'il ma toujours inspirée! Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

Je veux adresser tous mes remerciements au Pr. MEZIANE T, coordonnateur de l'école doctorale pour m'avoir guidé durant mes années de thèse. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles. Je le remercie également pour l'honneur qu'il nous a fait de présider le jury d'évaluation de ce mémoire

Je remercie sincèrement Messieurs Pr. TLIDJENE M. Professeur à l'université de Batna et Dr. ARHAB R., maitre de conférences à l'université de Tébessa pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'expertiser ce travail.

Je tiens également à remercier M^{elle} DRIS D., maitre assistante au département de Biologie à l'université de Tébessa, sans qui ce travail n'aurait pas été possible, et avec qui j'ai pu avoir de passionnantes discussions scientifiques.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance aux enseignants HARKATI B. et BENAHMED M., pour leur aide et leurs conseils, ainsi que pour le temps consacré a mes travaux.

Je remercie tous particulièrement les enseignants qui ont contribué à ma formation, durant l'année théorique et pendant la réalisation de ce travail.



Le travail présenté dans ce manuscrit a été réalisé au laboratoire de biologie de l'Université de Tébessa. Un grand merci doit aussi être adressé à tous les techniciens du laboratoire de Biologie, en particulier Hanane, Narjese, Ali, Taher...etc. Ainsi que tous les membres du laboratoire de recherche sur la chimie organique et l'hétérochimie, et le laboratoire de géologie qui ont contribué au bon déroulement de ce travail. Je remercie tout le monde pour leur bonne humeur, leur encouragement et pour la bonne ambiance qu'ils ont installée dans les laboratoires.

Enfin, je tiens à remercier vivement tous mes amis(es) et mes collègues de l'école doctorale vétérinaire-Batna-Tiaret-El Taref- promotion 2008.



DEDICACE



Je dédie ce travail

A ceux qui m'ont tout a donné sans rien en retour

A mes parents,

Qui ont sacrifié leur vie pour que je puisse réussir et qui par leur attention, leur compréhension et leur soutien m'ont permis d'atteindre mes objectifs et concrétiser mes rêves. Aucun mot ne saurait témoigner de l'étendue des sentiments que j'éprouve à leur égard. Je souhaite que Dieu leur octroie une longue vie et qu'ils trouvent dans ce modeste travail le témoignage de ma reconnaissance et toutes mes affections.

A mon encadreur Dr DJABRI Belgacem pour son soutien et gentillesse qui va être pour moi un exemple à suivre.

A mon frère MOHAMED AMINE et mes sœurs : SARA, MANEL, KHAWLA, RAYENE, Pour leurs encouragements et leurs affections. Je les souhaite tout le bonheur durant leur vie.



Sommaire

INTRODUCTION..... 1

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

- 1. Anatomie de tube digestif des ruminants..... 4
 - 1.1. Cavite buccale..... 4
 - 1.2. Pré estomac..... 4
 - 1.2.1. Rumen..... 4
 - 1.2.2. Réseau..... 5
 - 1.2.3. Feuillet..... 5
 - 1.3. Caillette..... 5
 - 1.4. Intestin..... 6
- 2. Physiologie de la digestion chez les ruminants..... 7
 - 2.1. Paramètres physico-chimiques..... 7
 - 2.1.1. pH..... 7
 - 2.1.2. Température..... 7
 - 2.1.3. Potentiel d'oxydo-réduction..... 7
 - 2.1.4. Pression osmotique..... 7
 - 2.1.5. Phase gazeuse..... 8
 - 2.1.6. Phase hydrique..... 8
 - 2.2. Microorganismes impliqués dans la digestion ruminale..... 8
 - 2.2.1. Bactéries..... 8
 - 2.2.1.1. Classification selon leur fonction..... 8
 - 2.2.1.2. Classification selon leur état de présence de rumen..... 9
 - 2.2.1.3. Autres bactéries..... 10
 - 2.2.2. Protozoaires..... 10
 - 2.2.3. Champignons..... 12
 - 2.3. Bilan de la digestion dans le rumen-réseau..... 12
 - 2.3.1. Production d'acides gras volatiles..... 13
 - 2.3.2. Production de gaz digestif par les ruminants..... 13



- 3.1. Différentes formes d'aliments pour ruminants..... 14
 - 3.1.1. Aliments grossiers..... 14
 - 3.1.2. Aliments succulents..... 15
 - 3.1.3. Aliments concentré..... 15
- 3.2. Aliments communément utilisés dans les rations des ruminants..... 15
 - 3.2.1. Aliments simples..... 15
 - 3.2.1.1. Foins..... 15
 - 3.2.1.2. Pailles..... 15
 - 3.2.1.3. Ensilages d'herbe et d'autres fourrages verts..... 16
 - 3.2.1.4. Céréales..... 16
 - 3.2.1.5. Tourteaux..... 16
 - 3.2.2. Aliments composés..... 16
- 4. Effet de serre..... 17
 - 4.1. Gaz à effet de serre..... 17
 - 4.1.1. Dioxyde de carbone (CO₂)..... 17
 - 4.1.2. Chlorofluorocarbures (CFC)..... 18
 - 4.1.3. Protoxyde d'azote (NO₂)..... 18
 - 4.1.4. Monoxyde de carbone (CO)..... 18
 - 4.1.5. Méthane..... 19
 - 4.2. Production du méthane dans le rumen des ovins..... 21
 - 4.2.1. Fermentations microbiennes du tube digestif..... 21
 - 4.2.2. Facteurs influençant la méthanogenèse dans le rumen..... 22
 - 4.2.2.1. Influence de la ration..... 22
 - 4.2.2.2. Influence de l'animal 24
 - 4.3. Estimation des émissions de méthane par les ovins..... 25
 - 4.4. Réduction des émissions de méthane chez les ruminants..... 26
 - 4.4.1. Augmentation de la productivité animale..... 27
 - 4.4.2. Défaunation du rumen et acétogenèse réductrice..... 27



4.4.3. Additifs nutritionnels (l'utilisation de gras alimentaire).....	28
4.4.4. Additifs alimentaires.....	28
4.4.5. Utilisation d'additif naturel.....	29
4.4.5.1. Saponines.....	29
4.4.5.2. Tanins.....	30
4.4.5.3. Huiles essentielle.....	31
5. Aperçu général sur les flavonoïdes.....	32
5.1. Définition.....	32
5.2. Classe des flavonoïdes.....	32
5.2.1. Flavonols (hydroxy-3-flavone).....	34
5.2.2. Flavones.....	34
5.2.3. Isoflavones.....	34
5.2.4. Flavanones.....	34
5.2.5. Flavanes.....	34
5.3. Sources.....	36
5.4. Biosynthèse.....	36
5.5. Intérêt des flavonoïdes.....	38
5.5.1. Intérêt vis-à-vis des plantes.....	38
5.5.2. Intérêt physiologique.....	38
5.5.3. Intérêt pharmacologique.....	38
5.5.4. Intérêt économique.....	39
6. Etude de la quercetine.....	40
6.1. Définition de quercetine.....	40
6.2. Propriétés.....	41
6.2.1. Propriétés physiques et chimiques du quercétol.....	41
6.2. 2. Propriétés sensorielles.....	41
6.3. Absorption et métabolisme.....	41



6.4. Propriétés médicinales..... 42

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

1. Matériel végétal et animal..... 45

 1.1. Matériel végétal..... 45

 1.2. Matériel animal..... 46

2. Expérimentation *in vitro*..... 46

 2.1. Principe de la technique..... 46

 2.1.1. Préparation de la salive artificielle..... 47

 2.1.2. Inoculation..... 48

 2.1.3. Incubation..... 48

 2.2. Analyse quantitative de la phase gazeuse..... 50

 2.3. Analyse qualitative de la phase gazeuse..... 50

 2.4. Mesure du pH..... 51

 2.5. Détermination de la digestibilité apparente..... 51

 ➤ Digestibilité de la matière sèche..... 51

 ➤ Digestibilité de la matière organique..... 51

3. Analyse statistique..... 52

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Faciès fermentaire de l'inoculum..... 54

 1.1. pH de jus de rumen..... 54

 1.1.1. pH après 72h de fermentation..... 54

2. Effet de la quercetine sur les paramètres fermentaires..... 56

 2.1. Production de gaz *in vitro*..... 56

 2.1.1. Dans l'essai blanc 56

 2.1.2. Dans l'essai témoin..... 56

 2.1.3. En présence de la quercetine (après 2, 4, 6 et 8 heures d'incubation)..... 57

 2.1.4. En présence de la quercetine (après 24, 48 et 72 heures d'incubation)..... 58



3. Analyse qualitative des gaz produit *in vitro*..... 59

 3.1. Production du CO2 *in vitro*..... 59

 3.2. Production du méthane *in vitro*..... 59

 3.2.1. Après 72 heures d’incubation..... 59

4. Effet de la quercetine sur la digestibilité *in vitro* de la matière sèche et de la matière organique..... 61

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RESUMES.



Liste des tableaux

Tableau 1: Sources du méthane atmosphérique	19
Tableau 2: Sources anthropogènes du méthane atmosphérique	20
Tableau 3: Méthanogènes isolés de rumen	22
Tableau 4: Influence de différents régimes sur le profil fermentaire (mol/kg MOF) obtenus à partir du contenu de rumen des moutons.....	24
Tableau 5: Production de méthane des principaux types des ruminants domestiques.....	25
Tableau 6: Estimations de la production journalière et annuelle de méthane des ovins en Algérie.....	26
Tableau 7: Types d'hétéroside de quercétol.....	40
Tableau 8: Propriétés chimiques et physiques du quercétol.....	41
Tableau 9: Comparaison des valeurs de pH du jus du rumen fraîchement collecté avec celles rapportées dans la bibliographie.....	54
Tableau 10: Evolution de pH après 72h de fermentation en absence de la quercetine	55
Tableau 11: Comparaison des valeurs de pH du blanc après 72h avec celles rapportées dans La bibliographie.....	55
Tableau 12: Effet de l'addition de quercetine sur le pH après 72h de fermentation.....	56
Tableau 13: Effet de l'addition de quercetine sur la production de gaz. après 2h, 4h, 6h, 8h, 24h, 48h et 72h de fermentation.....	57
Tableau 14: Effet de quercetine sur la production de CH ₄ et CO ₂ après 72h de fermentation.	60
Tableau 15: Effet de l'addition de la quercetine sur la digestibilité de la matière sèche de foin de vesce avoine après 72h de fermentation.....	63
Tableau 16: Effet de l'addition de la quercetine sur la digestibilité de la matière organique de foin de vesce avoine après 72h de fermentation.....	64



Liste des figures

Figure 1: Tube digestif des ruminants.....	4
Figure 2: Aspects des quatre cavités de l'estomac des ovins.....	6
Figure 3: Bactéries ruminales.....	9
Figure 4: Protozoaires du rumen.....	11
Figure 5: Champignons ruminales.....	12
Figure 6: Aliments des ruminants.....	14
Figure 7: Gaz à effet de serre.....	17
Figure 8: Sources agricoles des gaz à effet de serre (CH ₄ , N ₂ O, CO ₂).....	21
Figure 9: Structure de base des flavonoïdes.....	32
Figure 10: Différentes classes des flavonoïdes.....	33
Figure 11: Familles des flavonoïdes.....	35
Figure 12: Voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	37
Figure 13: Métabolites produits durant le transfert intestinal de quercetine et durant leur passage dans le foie.....	42
Figure 14: Foin de vesce avoine.....	45
Figure 15: Différentes étapes de préparation de salive artificielle.....	49
Figure 16: Système de fermentation en batch.....	50
Figure 17: Effet de l'addition de la quercetine sur la cinétique de la production de gaz <i>in vitro</i> avec cinq concentrations (5,10 ,20 ,30 et 50 mg/ 30 ml).....	58
Figure 18: Diagramme représente la production de CH ₄ et CO ₂ après 72 heures de l'addition de la quercetine.....	60
Figure 19: Diagramme représente les pourcentages de digestibilité de la matière sèche en fonction de la concentration de quercetine administrée.....	63
Figure 20: Diagramme représente les pourcentages de digestibilité de la matière organique en fonction de la concentration de quercetine administrée.....	64



Liste des Abréviations

CH₄	Méthane
FAO	Food and Agriculture Organisation
MS	Matière sèche
MM	Matière minérale
MO	Matière organique
MOF	Matière organique fermentée
MSI	Matière sèche ingérée
N	Normalité
AGVs	Acide gras volatils
ATP	Adénosine triphosphate
IR	Infrarouge
UV	Ultra violet
CFC	Chlorofluorocarbures
PR	Potentiel redox
KDa	Kilo-dalton
DMS	Digestibilité de la matière sèche
DMO	Digestibilité de la matière organique



INTRODUCTION



Les ovins ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, où ils sont élevés essentiellement pour leur viande, leur laine et leur lait (**Rachedi, 2005**). Ils sont des mammifères polygastriques qui se distinguent par leur estomac divisé en différents compartiments.

Le rumen constitue le principal réservoir gastrique de dégradation de la majorité des composés de la ration alimentaire. Chez les ruminants le rumen est dépourvu d'enzymes digestives pour digérer certains éléments constitutifs des rations alimentaires. Ils dépendent, pour cela, du microbiote implanté dans le rumen. Le microbiote ruminal est essentiellement constitué des bactéries, des protozoaires et des champignons qui assurent la majorité des fonctions digestives des ruminants. La dégradation anaérobie des aliments par le microbiote ruminal aboutit à la formation d'acides gras volatils qui représentent la principale source d'énergie pour les ruminants et d'une phase gazeuse composée essentiellement de deux gaz à effet de serre qui sont le dioxyde de carbone (CO_2) et le méthane (CH_4).

Le méthane (CH_4) est un produit terminal ayant lieu dans le rumen au cours de la digestion microbienne des aliments. Son éructation par les ruminants conduit à la fois à une perte d'énergie pouvant représenter 8% de l'énergie ingérée et à une aggravation de l'effet de serre. Son contribution au réchauffement de la planète est évaluée à environ 3%. Malgré son rôle indispensable dans les processus fermentaires anaérobies du rumen, il est souhaitable de pouvoir limiter sa production pour répondre à une demande d'amélioration de la productivité des animaux et de protection de l'environnement.

Des efforts ont été faits pour réduire les émissions de méthane par les ruminants en utilisant des antibiotiques et des substances chimiques comme des additifs dans l'alimentation animale. Depuis janvier 2006, ces méthodes ne sont plus autorisées par la législation européenne pour leurs effets négatifs sur la santé animale.

Pour cette raison, l'attention s'est récemment concentrée sur d'autres stratégies biologiques visant à réprimer la méthanogenèse ruminale. Parmi ces candidats biologiques, les métabolites secondaires de plantes peuvent avoir un rôle majeur dans la réduction des émissions de CH_4 . Par exemple, il a été montré que les saponines agissent sur la population des protozoaires et de ce fait, permettent la réduction de la production de méthane et d'ammoniac (**Lu et Jorgensen, 1987**). De même, il a été observé que les extraits de plantes à forte concentration en flavonoïdes peuvent diminuer la production de méthane et



d'induire une vaste stimulation du métabolisme microbien (**dris, 2008**). Des travaux récents ont également montré le rôle des tanins dans la réduction de la production de méthane.

Dans ce contexte notre travail propose d'évaluer l'effet d'un flavonoïde purifié, la quercetine (flavonoïde contenu dans de nombreux fourrages pastoraux, plantes médicinales et fruits) sur la méthanogenèse ruminale ainsi que sur la digestibilité *in vitro* à partir de la digestion du foin de vesce avoine, D'une façon globale nous avons réalisé

- Une étude bibliographique détaillée en utilisant plus que 140 références.
- Une étude de l'activité antiméthanogénique de la quercetine en utilisant 5 concentrations (5, 10, 20, 30 et 50 mg / 30ml).
- Une étude de la digestibilité du régime en sa présence.



CHAPITRE I :

SYNTHÈSE



BIBLIOGRAPHIQUE

1. Anatomie de tube digestif des ruminants

L'appareil digestif s'étend de la bouche à l'anus, il comprend le tube digestif et ses annexes. Le tube digestif des ruminants est composé de différentes parties ; la cavité buccale, le pré-estomac, l'estomac et les intestins (le petit et gros intestin) (**Figure 01**).

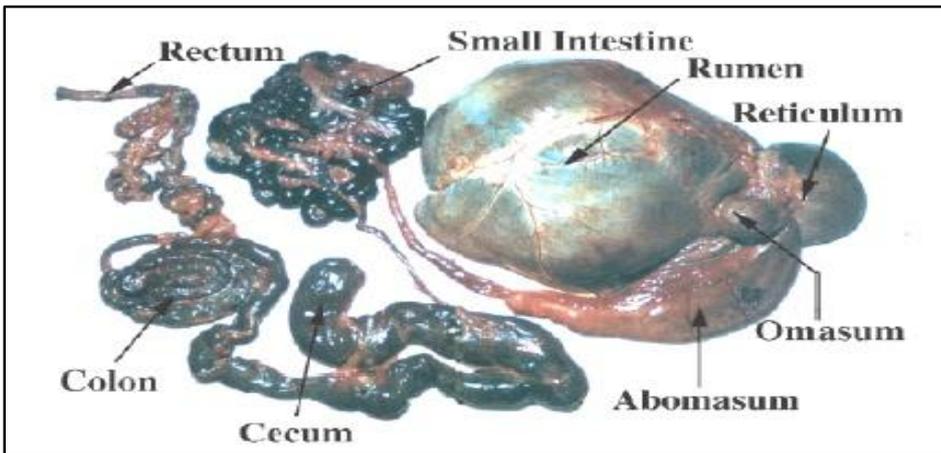


Figure 01 : Tube digestif des ruminants (**Russell et Rynchlik, 2001**).

1.1. Cavité buccale

La fente orale est bordée par une lèvre supérieure et inférieure, ces lèvres sont minces, mobiles et préhensibles (**Barone, 1984 ; Sautet, 1995**). Elle contient également les dents qui sont en nombre de 32 et implantées sur les deux mâchoires. Les 8 incisives sont implantées uniquement sur la mâchoire inférieure, sur la mâchoire supérieure, elles sont remplacées par un bourrelet incisif (**Soltner, 1999**).

1.2. Pré estomac

Comme chez tous les ruminants, le pré-estomac est composé de trois poches : le rumen (panse), le réseau (bonnet ou réticulum), le feuillet (omasum). Cet ensemble a une capacité de 30L chez l'ovin (**Barone, 1984**), ce qui occupe presque 2/3 de la cavité abdominale (**Chatelain, 1987**).

1.2.1. Rumen

Ce réservoir très volumineux (90% du volume du pré-estomac) est logé dans la partie gauche de l'abdomen (**Thivend et al., 1985; Soltner, 1999**). Il est bilobé et possède deux orifices (**Figure 02.a**) : le cardia raccordé à l'œsophage et le col de la panse qui s'ouvre sur le réseau (**Hafid, 2006**). Il offre un milieu idéal à la prolifération intense et



variée des micro-organismes grâce aux conditions regroupées dans le bio-fermenteur naturel:

- Un milieu riche en eau (85 à 90%).
- Un apport régulier de nutriments fournis à la fois par l'ingestion des aliments et par la rumination.
- Un pH compris entre 6,4 et 7,0 tamponné par l'apport des minéraux de salive.
- Une température de 39 à 40°C, cependant elle peut atteindre la valeur de 41°C lors d'activité fermentaire intense (**Chenost et Kayouli, 1997**).
- Une élimination continue des produits terminaux de la digestion microbienne.
- Des échanges permanents de la paroi du rumen (**Hungate, 1966; Hungate, 1990**).

1.2.2. Réseau

Le plus antérieur et le plus petit (**Figure 02.b**), le réseau possède une ouverture assez large sur le rumen. Les particules alimentaires qui franchissent l'orifice réticulo-omasal doivent avoir une taille moyenne inférieure ou égale à 1mm (**Jouany, 2000 ; Sauvant, 2002**). Le rôle du réseau est d'assurer la circulation des particules grâce à ses contractions ayant une fréquence de l'ordre d'une contraction par minute. Il assure également la motricité de l'ensemble des réservoirs gastriques et intervient dans la remontée du bol alimentaire lors de la rumination (**Rachedi, 2005**).

1.2.3. Feuille

Le feuille est un organe ovoïde plissé comme un livre. Sa surface intérieure est constituée de lamelles longitudinales de grande taille (**Gadoud, 1992**) (**Figure 02.c**). Le feuille est largement ouvert sur la caillette (**Jouany, 2000**) et intervient dans la filtration et l'absorption importante de l'eau.

1.3. Caillette

La caillette est l'estomac proprement dit chez les ruminants (**Hafid, 2006**). C'est à ce niveau qu'a lieu la sécrétion de l'HCl et du pepsinogène (**Guignard, 2000**). La caillette est l'organe dans lequel s'effectue la digestion des protéines ayant échappé à la fermentation ruminale ainsi que la majorité des lipides (**Figure 02.d**) (**FAO, 2003**).

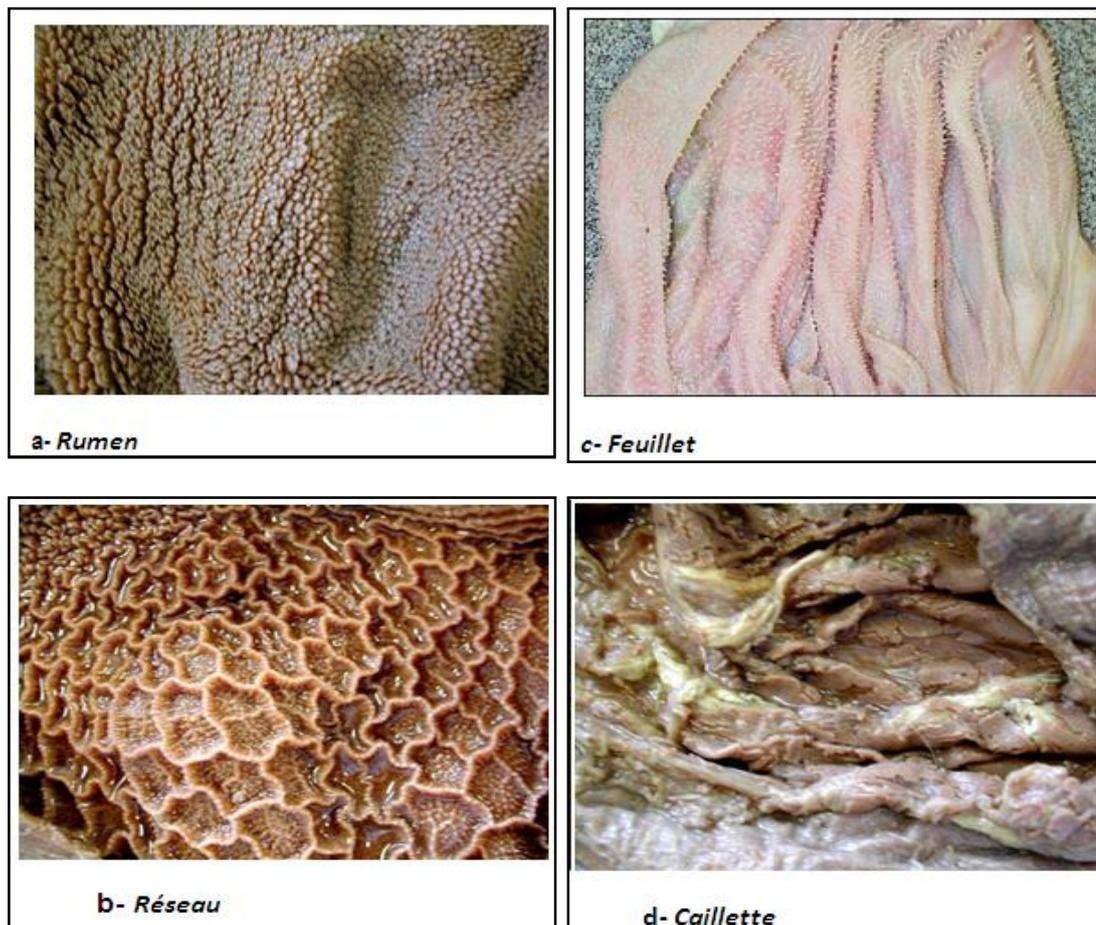


Figure 02: Aspects des quatre cavités de l'estomac des ovins (FAO ,2003).

1.4. Intestin

La longueur relative des intestins est de 11m (Barone, 1984). Ils comprennent :

- **L'intestin grêle** qui se subdivise en trois segments successifs : le duodénum, le jéjunum et l'iléon et il constitue la portion la plus longue et la plus étroite du tractus digestif. C'est le principal organe de la digestion enzymatique et l'absorption.
- **Le gros intestin** qui se divise anatomiquement en trois zones : le caecum, le colon et le rectum. C'est le deuxième lieu de fermentation microbienne après le réticulo-rumen.



2. Physiologie de la digestion chez les ruminants

2.1. Paramètres physico-chimiques

2.1.1. pH

Le pH oscille entre 6,5 et 7,2 au cours du nyctémère dans les conditions physiologiques. La régulation du pH du rumen est un point capital pour assurer la pérennité de son fonctionnement. En effet les produits de la digestion microbienne sont des acides qui doivent être neutralisés en permanence pour maintenir le pH dans les limites convenables. Ce rôle est dévolu principalement à la salive, qui est sécrétée en quantité considérable chez les ruminants (10 à 20L /kg de MSI) et dont le pH est basique.

Accessoirement lors de phénomènes d'adaptation à des régimes très acidogènes, on a montré que la paroi du rumen sécrète des bicarbonates qui peuvent pallier l'insuffisance de sécrétion salivaire le cas échéant (**Jean- Blain, 2002**).

Il joue un rôle important dans la régulation de l'activité microbienne, mais une fermentation rapide peut baisser le pH à moins de 5, ce qui est favorable à la croissance des micro-organismes qui produisent essentiellement le propionate et le lactate, la salivation abondante et continue assure au contenu du rumen un pouvoir tampon, par l'apport d'une grande quantité d'ions bicarbonate et phosphate (**Hungate, 1966**).

2.1.2. Température

Elle est généralement supérieure à celle du corps: 39°- 40,5°C. Cependant, elle peut atteindre 41°C lors de la grande fermentation (**Jondey, 1989**).

2.1.3. Potentiel d'oxydoréduction

Le rumen constitue un écosystème fortement anaérobie, son potentiel d'oxydoréduction moyen est de -350 mv (**Fonty et al., 1995, Gouet et al., 1985, Jouany, 1994**). La zone proche de l'épithélium est très vascularisée. Il s'y fixe une population microbienne facultativement aérobie qui contribue à l'élimination des traces d'oxygène ce qui permet de maintenir l'écosystème en anaérobiose (**Crapelet et al., 1974**).

2.1.4. Pression osmotique

La pression osmotique est identique à celle du sang dans les conditions normales d'alimentation (**Hungate, 1966**). Après absorption d'eau, la pression osmotique diminue,



mais étant donné la perméabilité de la paroi du rumen, elle atteint l'équilibre au bout de dix heures.

La pression osmotique de la salive est plus faible que celle du sang. Son arrivée continue dans le rumen affecte peu la pression du milieu.

2.1.5. Phase gazeuse

La composition moyenne de la phase gazeuse est la suivante (**Hobson, 1971**):

CO ₂	-----	60-65%
CH ₄	-----	25-30%
N ₂	-----	6-9%
O ₂	-----	0,3-0,6%
H ₂	-----	0,1-0,3%
H ₂ S	-----	0,01%

2.1.6. Phase hydrique

Acides gras volatiles

Acides organiques

2.2. Microorganismes impliqués dans la digestion ruminale

Les phénomènes microbiens se déroulent principalement dans le réticulo-rumen, et ultérieurement mais à faible intensité au niveau du gros intestin grâce à la présence d'une population microbienne hétérogène (**Hafid, 2006**).

2.2.1. Bactéries

La population bactérienne du rumen est comprise entre 8×10^9 et 4×10^{10} /ml de contenu ruminal, elle constitue 50% de la biomasse microbienne et c'est la catégorie la plus complexe et la plus importante. Différentes espèces bactérienne sont présentes dans le rumen. Plus de 300 espèces bactérienne sont connues et sont généralement des anaérobies strictes non sporulées (**Stewart et al., 1992**). Elles représentent la flore la plus performante pour digérer la cellulose des fourrages compte tenu de leur nombre dans le rumen (**FAO, 2003**).

2.2.1.1. Classification selon leur fonction

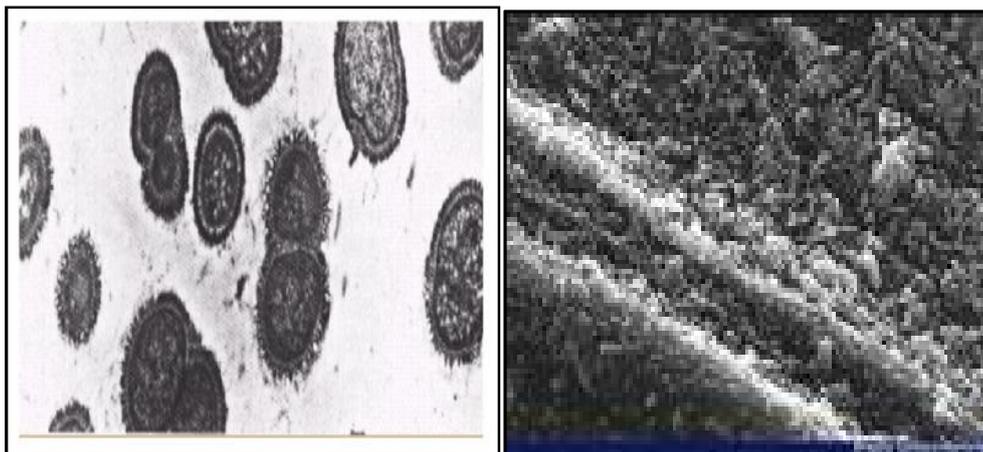
➤ **Les bactéries cellulolytique**

C'est le groupe des bactéries le plus important (**Rachedi, 2005**). Les principales bactéries cellulolytique isolées du rumen sont : *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* (**Figure 03.a**), *Bactéroides succinogènes*, *Fibrobacter succinogènes*

Ces souches ruminales sont capables d'hydrolyser complètement la cellulose cristalline telle que le coton (**Fonty et al., 1995**).

➤ **Les bactéries amylolytiques**

Les espèces représentatives de ce groupe sont : *Selenomonas ruminantium* (**Figure 03.b**) et *Streptococcus bovis* (**Jouany, 1994**), la plupart des bactéries hydrolysant l'amidon son incapable d'utiliser la cellulose (**Orskov et Ryle., 1990**). *S. bovis* produit de l'acétate et de l'éthanol, quand sa croissance est normale (**Rachedi, 2005**). *Bactériodes annylophilus* ne fermente que l'amidon, les dextrines et le maltose (**Yaakoub, 2006**).



a-*Ruminococcus flavefaciens*

b-*Selenomonas ruminantium*

Figure 03 : Bactéries ruminales avec grossissement 40 (**Soltner, 1999**).

2.2.1.2. Classification selon leur état de présence de rumen

➤ **Bactéries libres**

Le 1/3 des bactéries se trouvent à l'état libre dans le liquide ruminale (**Yaakoub, 2006**), elles utilisent les substances libérées dans le milieu ruminal en se développant vers les régions de forte concentration en substrats préférentiels (**Rachedi, 2005**).

➤ **Bactéries adhérentes**

Elles adhèrent soit aux particules alimentaires (70%), soit à la paroi ruminale.



I.2.2.1.3. Autres bactéries

➤ Bactéries méthanogènes

Ce sont essentiellement *Methanobactérium ruminantium* et *M. mobile*. Elles produisent du méthane ce qui permet d'éliminer les ions H^+ en excès. D'où le rôle d'exutoire aux éléments réducteurs H^+ en milieu anaérobie. En orientant la fermentation vers la production d'acétate, elles potentialisent l'activité des bactéries cellulosiques et la croissance fongique mais cette production de CH_4 constitue une perte d'énergie pour les ruminants (**Chevallier, 2001**).

➤ Bactéries pectinolytiques

Leurs principales espèces sont *Lachnospira multipara*, *Pervotellaruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Streptococcus bovis* et quelques souche de *Spirochètes*, mais seulement quelque unes d'entre elles ont été isolées à partir de milieu sélectif contenant de la pectine purifiée comme seul substrat énergétique (**Yaakoub, 2006**).

➤ Bactéries protéolytiques

Plusieurs espèces telles que *Mesgaphaera elsedinil*, peuvent croître à partir des acides aminés en absence de glucides comme source d'énergie (**Wallace, 1996**).

*Rôle des bactéries

Les bactéries se fixent par leur glycocalyx aux fragments végétaux. L'attaque se fait par érosion des surfaces endommagées et la surface bactérienne s'enfonce alors dans la paroi végétale (**Rachedi, 2005**). En effet, sur les parois intactes, les différents polymères glucidiques ne peuvent pas se lier à la surface bactérienne en raison de leur faible concentration, de leur liaison avec d'autres composants ou de leur configuration stérique incompatible avec les polymères extrêmes de la surface bactérienne (**Yaakoub, 2006**).

2.2.2. Protozoaires

Ce sont des eucaryotes unicellulaires, mobiles grâce à leurs cils et leurs flagelles (**Jean-Blain, 1999**), pour ces dernières on va distinguer :

➤ Protozoaires ciliés

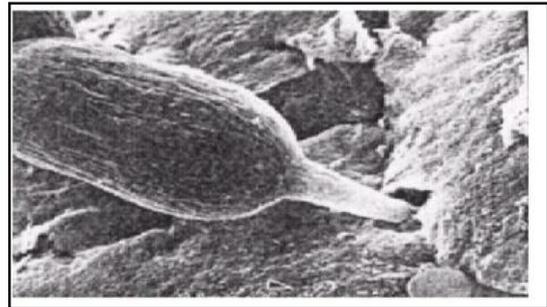
Ce sont les protozoaires les plus importants par leur nombre et leur influence sur la digestion (**Figure 4.a**). Leur concentration est de 10^5 à 10^8 cellules par ml et de taille de 50 à 300 μ m (**Jean-Blain, 2002**). Ils sont présents à l'état libre ou sont fixés aux particules végétales et ils peuvent ingérer les bactéries (**Orskov et Ryle, 1990 ; Fonty et al., 1995**).

➤ **Protozoaires flagellés**

Leur concentration est plus faible, 10^3 à 10^4 cellule/ml (**Figure 04.b**). Se sont des organismes pouvant ingérer des bactéries (**Orskov et Ryle, 1990**). Bien que les protozoaires produisent des enzymes qui participent directement à la digestion, leur présence n'est pas indispensable à la vie des ruminants (**Fonty et al., 1995**). Leur culture sur milieu synthétique est particulièrement difficile du fait de leurs exigences nutritionnelles et de leur sensibilité au changement physico-chimique du milieu (**Chenost et Kayouli, 1997**). La fonction cellulolytique a été observée chez plusieurs espèces de protozoaire cilié (**Besle et Jouany, 1990**). Cependant la production de la cellulase par des bactéries intracellulaires n'est pas à exclure. Les activités hémicellulolytiques et pectinolytiques sont observées chez une dizaine d'espèce : 10% de l'activité protéolytique et 30 à 40% de la fonction lipolytique sont assurées par les protozoaires ciliés (**Coleman, 1975 ; Fonty et al., 1995**).



a- Protozoaires ciliées



b- Protozoaires flagellés

(Microscope électronique a balayage photos Elisabeth Grenet INRA).

Figure 04 : Protozoaires du rumen (Jouany, 1994).

***Rôle des protozoaires**

La stratégie d'attaque de tissus végétaux par les protozoaires est différente de celle des autres microorganismes du rumen. Les protozoaires ciliés entodiniomorphes possèdent l'essentiel des enzymes impliquées dans la cellulolyse. Ils ingèrent les fibres, les mettant ainsi en contact étroit avec les enzymes dans le sac digestif, puis ils les digèrent dans leurs vacuoles digestives. Les protozoaires peuvent ainsi s'insérer sous l'épiderme des parois végétales (**Fonty et Forano, 1999 ; Fonty et al., 1995 ; Jouany, 1994**), partiellement dégradées, où se fixer par ingestion des parties fibreuses appartenant aux grosses particules alimentaires, où adhérer par la partie antérieure du protozoaire. Ils ont un rôle actif dans la digestion des aliments et la lyse partielle de leurs cellules au sein du rumen (**Yaakoub, 2006**).

2.2.3. Les champignons

Les champignons du rumen sont anaérobies stricts et se fixent sur les particules végétales et les crampons appelés rhizoïdes. (**Grenet et Barry, 1988**). Il représentent 8% de la biomasse microbienne total du rumen (**Fonty et al., 1995**). *Neocallismatix frontalis*, *Piromonas communis*, *Neocallimastix jouhonii*, sont les principales espèces connues (**Bernalier et al., 1990**).

Tous les champignons sont presque des cellulolytiques et leurs cellulases sont les plus actives (**Fonty, 1999**). Ils peuvent utiliser plusieurs variétés de glucide autant que source d'énergie, comme la cellulose, le cellobiose et le maltose (**Jouany, 1994**). Certaines souches peuvent même utiliser l'amidon (**Brooker et al., 1995**).

*Rôle des champignons

Tous les champignons se trouvent fixés aux particules alimentaires (**Figure 05**). Ils colonisent préférentiellement les tissus lignifiés et séjournent le plus longtemps dans le rumen (**Rachedi, 2005**). Bien qu'ils se fixent principalement sur ces tissus, il n'existe aucune preuve qu'ils utilisent la lignine comme source de carbone (**Yaakoub, 2006**).

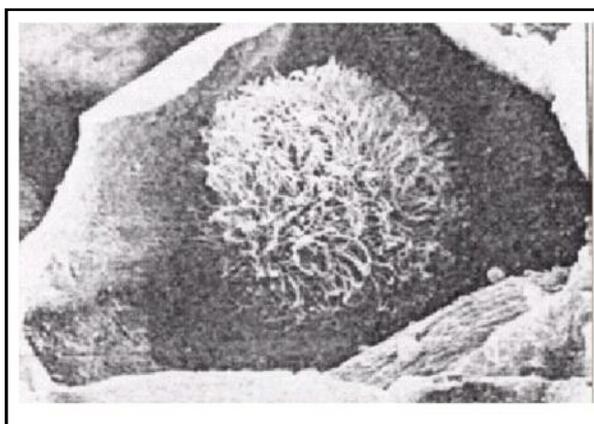


Figure 05 : Champignons ruminale (Jean-Blain, 2002).

(Microscope électronique a balayage photos Elisabeth Grenet INRA).

2.3. Bilan de la digestion dans le rumen-réseau

La population microbienne fournit à l'animal la majeure partie des substrats énergétiques, des acides gras volatils, des acides aminées et des vitamines (**Chouinard, 2004**).

Il sort du rumen la majeure partie des corps bactériens, une partie plus faible des protozoaires et un pourcentage de 30 à 40% de la matière organique digestible qui est



constituée surtout de protéines alimentaires et aussi de glucides pariétaux ayant échappé à la dégradation microbienne chez les ruminants. Il s'ensuit des particularités du métabolisme énergétique dont l'élément essentiel n'est plus le glucose mais un mélange d'acide gras volatils qui sont absorbés dans le réticulo-rumen (60 à 80% d'énergie absorbée). Par ailleurs, les acides aminés absorbés dans l'intestin grêle ont deux origines : alimentaire et microbienne ce qui confère aux ruminants une relative indépendance vis-à-vis des sources azotées de la ration (**Thomas *et al.*, 1972**).

2.3.1. Production d'acides gras volatiles

Les acides gras représentent la source énergétique de toutes les fonctions de l'organisme des ruminants. Ils sont issus soit de la fermentation des glucides soit par désamination des aminoacides. Il s'agit surtout d'acide acétique (60%) acide propionique (20%) et l'acide butyrique (10%) (**Chouinard, 2004**). Ils peuvent couvrir jusqu'à 40% des besoins énergétique (**Gurtler *et al.*, 1975**), leurs concentration globale dans le rumen dépend de plusieurs facteurs liées à l'alimentation (préhension, quantité, composition et digestibilité) (**Jean- Blain, 2002**).

2.3.2. Production de gaz digestif par les ruminants

Les glucides constituent la base de régime alimentaire destiné aux animaux domestiques, les oses issus de la digestion de ces glucides sont rapidement absorbés par les bactéries, ils sont rarement détectés dans le rumen.

Le métabolisme glucidique aboutit en anaérobie à la formation d'ATP (nécessaires au métabolisme bactérien), à la formation d'acides gras volatils (l'acétate, le propionate et le butyrate) et de la chaleur (**Yaakoub, 2006**).

Les gaz produits sont éliminés par éructation et par voie pulmonaire (CO₂). La production du méthane est reliée à celle de l'acétate, et celle de CO₂ est reliée à la production du propionate. Il existe aussi une relation inverse entre la production de propionate et celle de CH₄ (**Chouinard, 2004**). La production de méthane représente une perte d'énergie qui peut aller jusqu'à 10% de l'énergie digestible de la ration (**Jouany, 1991**), ou 6,7% d'énergie brute,

cette production est estimée à 600 litres par jours et pour le CO₂ elle est de 400 litres chez un bovin adulte, pour le mouton elle est de 30 à 60 litres pour le CH₄ (**Jouany, 1994**).

3. Alimentation des ruminants

3.1. Différentes formes d'aliments pour ruminants

Dans l'alimentation des ruminants, c'est surtout les produits végétaux qui occupent une place primordiale. En premier lieu les fourrages au sens large du mot, puis les racines, les tubercules, les graines et des fruits divers (Sauvant *et al.*, 1990) (Figure 06).

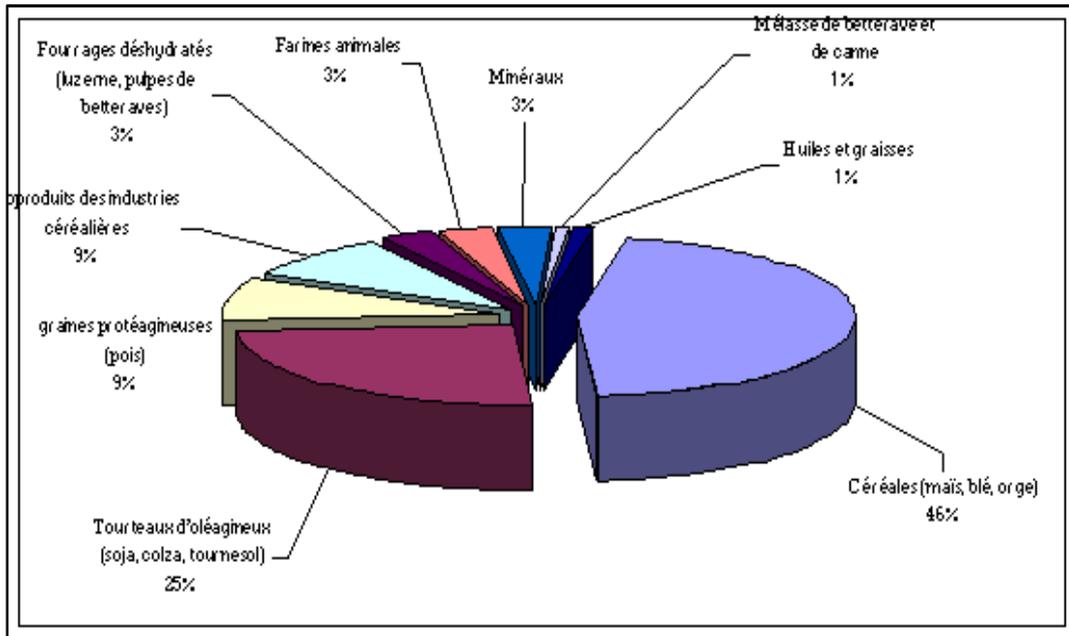


Figure 06: Aliments des ruminants (FAO, 2003).

Parmi ces aliments, les sous produits résultant de l'industrie agroalimentaire des produits végétaux destinés à l'alimentation humaine sont également inclus comme aliments de bétail. Les produits d'origine animale peuvent aussi être incorporés dans l'alimentation du bétail comme les sous produits d'abattoir (farines des os) malgré qu'ils soient actuellement délaissés suite à l'épidémie de l'ESB (Encéphalopathie Spongiforme Bovine). Parfois il est nécessaire de compléter la ration par des additifs afin d'améliorer sa valeur nutritive. Les aliments peuvent être classés en : aliments grossiers, aliments succulents et aliments concentrés.

3.1.1. Aliments grossiers

Ils contiennent le plus souvent une forte proportion de constituants membranaires, ils sont réservés aux ruminants et aussi aux herbivores, nous distinguons :

- **Les aliments à haute teneur en matière sèche** : les foin et les fourrages déshydratés (85% à 92% de M.S).



- **Les aliments à teneur variable en matière sèche** : l'herbe des prairies et les ensilages (10% à 30% de M.S.) (**Laadjimi, 2008**).

3.1.2. Aliments succulents

Dont la teneur en matière sèche est faible ainsi qu'en cellulose, ce sont surtout les racines et les tubercules (**Jarrige, 1988**).

3.1.3. Aliments concentrés

Ces sont riches en principes nutritifs, ils ont une forte teneur en azote et en énergie (**Yaakoub, 2006**). Il existe deux catégories d'aliments concentrés:

- **Les aliments concentrés simples** : graines oléagineuses; grains (céréales) et fruits; sous produits de ces grains de fruits ainsi que des racines et tubercules.
- **Les aliments concentrés composés** : qui sont mélanges d'aliments concentrés simples pouvant aussi contenir une certaine proportion d'autres aliments (fourrages) (**Démarquilly et Andrieu, 1988**).

3.2. Aliments communément utilisés dans les rations des ruminants

3.2.1. Aliments simples

3.2.1.1. Foins

Les foins représentent un aliment indispensable à tous les ruminants. Ils sont issus des prairies naturelles à la flore variée ou des prairies temporaires de graminées seules et/ou de graminées et légumineuses. Leur valeur nutritive est en relation avec le stade de récolte qui est pour les graminées le début d'épiaison et pour les légumineuses le bourgeonnement. Elle dépend aussi des conditions de récolte et de conservation (**Soltner, 1999**).

Le foin est le procédé de conservation le plus ancien qui permet d'obtenir en conditions favorables un aliment de très bonne qualité en posant pratiquement aucun problème sur le plan de l'hygiène alimentaire (**Barret, 1992**).

3.2.1.2. Pailles

Se sont surtout les pailles de céréales et de graminées fourragères (à graines), leur valeur nutritive dépend de l'espèce et aussi les conditions de récolte. La meilleure est



l'avoine, puis l'orge et le blé. Les pailles nécessitent toujours une complémentation en énergie, en azote, en minéraux et même en vitamines (**Démarquilly et Andrieu, 1988**).

3.2.1.3. Ensilages d'herbe et d'autres fourrages verts

Il s'agit des végétaux consommés en l'état sur la prairie, les parcelles cultivées ou dans l'étable (**Barret, 1992**). Il s'agit aussi de fourrages annuels (culture pures ou mélange de seigle, avoine orge, blé, vesce et trèfle). Sa valeur nutritive est en relation avec le stade de récolte et la réalisation d'un bon ensilage (présence ou absence d'acides toxiques). Les ensilages de fourrages verts remplacent les fourrages classiques et sont très appétibles (**Jarrige, 1988**).

3.2.1.4. Céréales

L'orge fut la graine la plus utilisée. Le maïs est très largement incorporé dans les régimes ainsi que le blé et dans une mesure moindre le sorgho, le seigle, le triticales, l'avoine et le riz (**Barret, 1992**). Elles sont caractérisées par une richesse en amidon et leur faible teneur en cellulose. Elles sont également pauvres en matières azotées. Les céréales sont utilisées surtout comme aliments d'engraissement et comme correcteur énergétique pour des animaux excédentaires en matière azotée digestible (**Allard et Pellerin, 2000**).

3.2.1.5. Tourteaux

On peut les classer en deux types :

- **Les tourteaux de pression** : qui sont le résultat de la pression des graines oléagineuses.
- **Les tourteaux d'extraction** : ils sont obtenus par une extraction ou élimination de l'huile des tourteaux de pression (**Allard et Pellerin, 2000**).

3.2.2. Aliments composés

Ce sont des mélanges de différents produits qui peuvent être de différentes origines (animal ou végétal), ainsi que leurs dérivés. Ils peuvent être complétés ou non par des additifs et de là ces aliments peuvent être complets c'est à dire qu'ils contiennent les constituants qui assurant tous les besoins nutritionnels. Ils peuvent être également complémentaires à d'autres aliments comme les mûlasse contenant plus de 14% de sucre totaux, et du complément minérale contenant plus que 40% de matière minérales (**Yaakoub, 2006**).

4. Effet de serre

La température annuelle moyenne de la terre est de 15°C. En absence de gaz à effet de serre dans son atmosphère, la terre serait environ 34°C plus froide. A cette température, l'eau n'existerait pas sous sa forme liquide. L'effet de serre est donc un phénomène naturel essentiel au maintien de la biosphère (Rochette, 2003). Cet effet est dû à l'accumulation dans l'atmosphère de gaz qui absorbent le rayonnement infrarouge (IR), issu de l'émission de rayons de grandes longueurs d'onde par la surface terrestre (Demeyer et al., 2000).

4.1. Gaz à effet de serre

Les principaux gaz polluants à effet de serre produits par les activités humaines sont : le dioxyde de carbone (CO₂), le méthane (CH₄), les chlorofluorocarbures (CFC), le protoxyde d'azote (NO₂) (Rochette, 2003) (Figure 7).

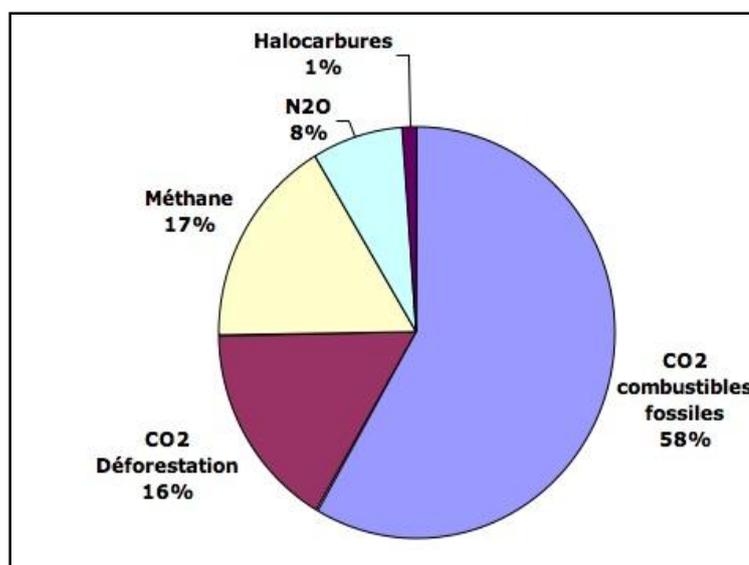


Figure 7 : Gaz à effet de serre (Rochette, 2003).

4.1.1. Dioxyde de carbone (CO₂)

Le dioxyde de carbone ou gaz carbonique (CO₂) est de loin le gaz à effet de serre le plus abondant. Les surfaces agricoles, tout comme les forêts, jouent cependant un rôle très actif dans les échanges de CO₂ entre l'atmosphère et la biosphère. À l'échelle de la biosphère terrestre, les sols représentent le réservoir le plus important de carbone et jouent ainsi un rôle central dans le cycle global du carbone. Suite à la photosynthèse végétale, une fraction importante (20%) du CO₂ atmosphérique fixé par les plantes est incorporée dans le sol sous forme de matière organique. Le carbone ainsi fixé est retiré de l'atmosphère et séquestré dans le sol (Angers, 2002).



4.1.2. Chlorofluorocarbures (CFC)

Les hydrocarbures chlorés et fluorés participent pour environ 8% à l'effet de serre). Les CFC ont été synthétisés pour la première fois en 1892, mais leur exploitation est encore mal connue. Plus tard, ils ont servi de gaz de propulsion dans les aérosols, ou encore de réfrigérants après leur libération dans l'atmosphère. Les CFC migrent vers la stratosphère où ils dissocient les molécules d'ozone qui constituent cette dernière. La couche d'ozone réduit la pénétration du rayonnement UV. Ce rayonnement est nocif pour les humains, il provoque certaines maladies cancéreuses. Pour cette raison, l'utilisation des CFC a été interdite. Même si les CFC sont des gaz à effet de serre extrêmement puissants, leur concentration est faible dans l'atmosphère surtout après leur interdiction (**Dris, 2008**).

4.1.3. Protoxyde d'azote (N₂O)

Le protoxyde d'azote est un gaz à effet de serre très puissant (**Chantigny, 2003**). Sa contribution à l'effet de serre est de l'ordre de 2% (**Rochette, 2003**). Le N₂O provient principalement de la combustion incomplète des sols agricoles dégradés. La part humaine intervient dans le domaine de l'agriculture par l'utilisation des engrais azotés (**Boultifat, 2008**). Le N₂O est produit lors de deux transformations biologiques sous action bactérienne (**Chantigny, 2003**) :

- La nitrification qui est sous l'action des bactéries nitrifiantes (*Nitrosomonas* et *Nitrobacter bacteria*), le NH⁺₄ est oxydé en NO⁻₂, lui-même est oxydé en nitrate (NO⁻₃).
- La dénitrification est produit sous l'action des bactéries dénitrifiantes (*Pseudomonas, Micrococcus*), elle est constituée de quatre étapes; la réduction de NO⁻₃ en NO⁻₂, la réduction de NO⁻₂ en NO puis la réduction de NO en N₂O, et enfin la réduction de N₂O en N₂ (**Bernard, 2004**).

4.1.4. Monoxyde de carbone (CO)

Le CO est un gaz qui agit indirectement sur l'effet de serre. Il influence certaines cycles chimiques atmosphériques qui créent ou détruisent d'autres gaz à effet de serre, tels que l'ozone de la troposphère ou le méthane. Ce gaz est produit par les carburants et les combustibles (**Boultifat, 2008**).

4.1.5. Méthane

Le méthane (CH₄) est un gaz à effet de serre très puissant (**Dessus, 2008**). La contribution d'un gaz à effet de serre est habituellement caractérisée par un indice appelé



potentiel de réchauffement global. Il est calculé par rapport à une référence qui est le CO₂. Il a une efficacité 21 fois plus grande que celle de CO₂ pour intercepter la radiation infrarouge (IR) (Rochette, 2003). Le méthane est moins abondant que le CO₂ dans l'atmosphère, mais il est beaucoup plus dangereux, car il absorbe 72 fois le rayonnement IR émis par la terre que le CO₂ (Dessus, 2008). La contribution du CH₄ au réchauffement de la planète est évaluée à environ 3% (André, 2008).

*** Sources du méthane**

Les émissions de méthane ont plusieurs sources naturelle et anthropogénique. L'augmentation de la concentration du méthane dans l'atmosphère est principalement liée à celle des populations, puisque seulement 30% des émissions sont d'origine naturelle. Tandis que les 70% restantes proviennent de sources anthropogènes. Le méthane est produit principalement par décomposition microbienne de la matière organique en l'absence d'oxygène. Les sources anthropiques de méthane proviennent principalement des activités agricoles telles que l'élevage de bétail et la culture du riz. La décomposition de la matière organique au niveau des décharges produit également du méthane. Ces sources anthropiques représentent environ les 2/3 des émissions totales de ce gaz. Ces sources sont assez bien connues et leur production semble dépassée le potentiel d'utilisation, ce qui provoque l'accumulation du CH₄ dans l'atmosphère comme l'illustre (les tableaux 1 et 2) (Boultifat, 2008).

Tableau I : Sources du méthane atmosphérique (10⁶ tonnes an) (Boultifat, 2008).

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



Tableau 2 : Sources anthropogènes du méthane atmosphérique (106 tonnes an)
(Boultifat, 2008).

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

Généralement il y a trois grands types de sources qui peuvent être identifiés :

- Les sources anaérobies qui produisent du CH₄ en absence d'oxygène (70%). Elles font appel à des processus bactériens, d'une part liés à la dégradation de la matière organique et d'autre part faisant intervenir la réduction du CO₂ ou la fermentation de l'acétate soit dans les marais, les rizières, les décharges ou dans l'estomac des ruminants.
- Les sources liées à la production d'énergies fossiles telles que le charbon, le pétrole et le gaz naturel (20%). Les émissions proviennent des pertes pouvant intervenir lors de l'exploitation, du transport et de la transformation de ces matières. **(Figure 8)**.
- Les sources liées à la combustion incomplète de biomasse et de matière organiques fossiles **(Bernard, 2004)**, par la raison de l'existence des microorganismes peuvent soit dégrader du CH₄, soit en consommer et le transformer en CO₂.

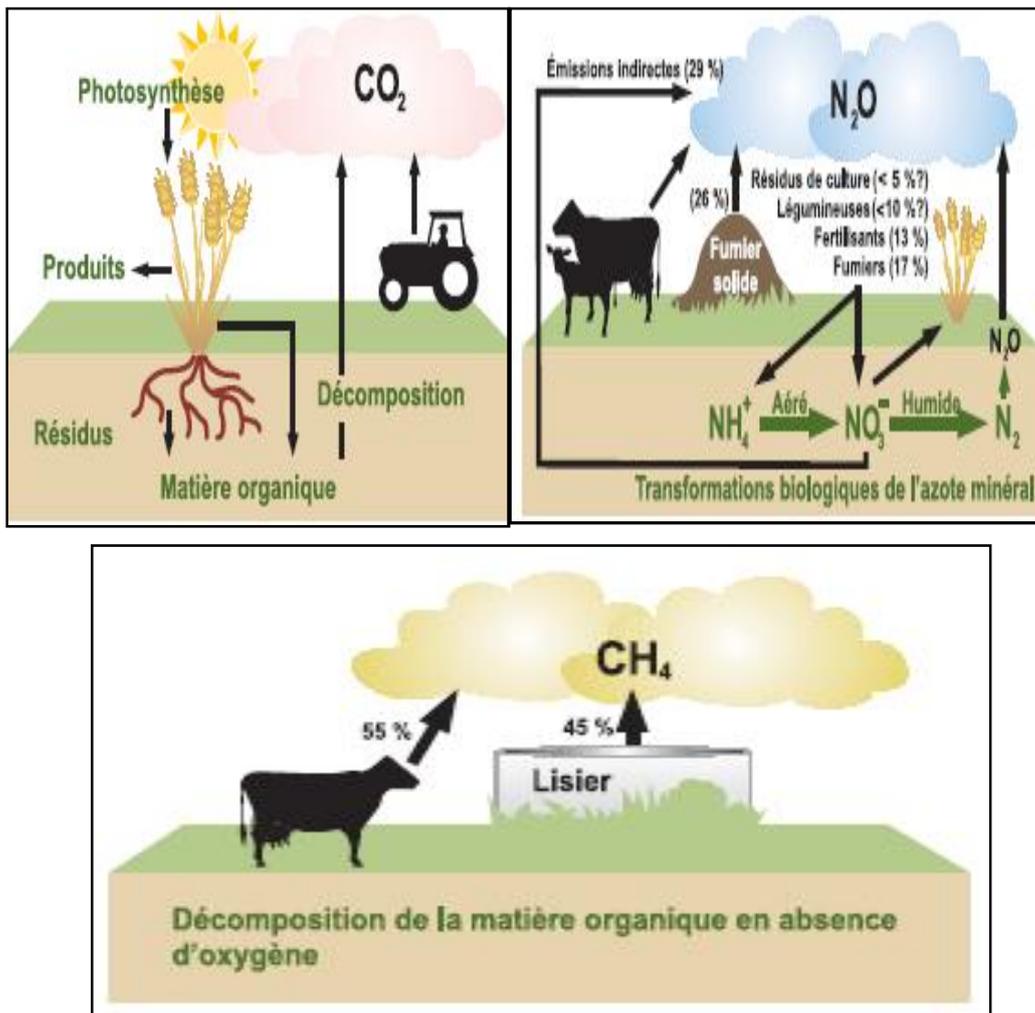


Figure 8 : Sources agricoles des gaz à effet de serre (CH₄, N₂O, CO₂) (Rochette, 2003).

4.2. Production du méthane dans le rumen des ovins

4.2.1. Fermentations microbiennes du tube digestif

➤ Les méthanogènes

Les méthanogènes sont des membres du domaine des Archaea. Il s'agit des bactéries anaérobies strictes, représentant environ 4% des microorganismes des ruminants (tableau3) (Yanagita *et al.*, 2000) et peuvent être aisément distinguées des autres organismes car ils produisent tous du méthane comme principale produit de fermentation.

Tableau 3 : Méthanogènes isolés de rumen (Yanagita *et al.*, 2000).

Microorganisme	La source d'énergie
<i>Methanobrevibacter ruminantium</i>	H ₂ /formate
<i>Methanobrevibacter sp.</i>	H ₂ /formate
<i>Methanosarcina barkeri</i>	H ₂ /méthanol méthylamines/acétate
<i>Methanosarcina mazei</i>	H ₂ /méthanol méthylamines/acétate
<i>Methanobacterium formicicum</i>	H ₂ /formate
<i>Methanomicrobium mobile</i>	H ₂ /formate

La production du méthane dans le rumen a un effet sur les produits terminaux de la fermentation, ainsi que sur le rendement en ATP. Si les méthanogènes sont présents, les nucléotides réduites peuvent être ré-oxydés par l'hydrogénase, plutôt que par un alcool ou une lactate-déshydrogénase.

La méthanogenèse implique la consommation d'hydrogène et la réduction par paliers du dioxyde de carbone (Stewart *et al.*, 1988). Un certain nombre de substrats peut être utilisé pour la méthanogenèse (acétate, formate, alcools de petite taille issus de la dégradation des pectines, ...), mais le dioxyde de carbone et l'hydrogène sont néanmoins les principaux substrats impliqués. Ainsi, la majorité du dihydrogène provenant de la dégradation des glucides termine en méthane.

4.2.2. Facteurs influençant la méthanogenèse dans le rumen

Plusieurs facteurs peuvent influencer la production du méthane dans le rumen, certains sont liés à la ration (type, quantité), d'autres sont liés à l'animal.

4.2.2.1. Influence de la ration

- Influence de la digestibilité du régime

A partir des résultats de 20 études sur moutons et bœufs adultes recevant 55 régimes sur 615 périodes de mesure en chambres respiratoires, **Blaxter et Clapperton** ont



montré que les pertes d'énergie sous forme de méthane augmentent avec la digestibilité du régime : pour une augmentation de 10 points de la digestibilité de l'énergie, l'accroissement est au moyenne de 0,47 points dans le cas de fourrages longs et de 0,74 points dans le cas de régime mixte. Cet accroissement résulte d'une augmentation des fermentations dans les réservoirs digestifs mais il dépend aussi des caractéristiques physiques et de la composition chimiques des régimes (**Blaxter et Clapperton, 1965**).

- **Influence du pH**

Une fermentation accélérée diminue le pH du rumen, avec effet négatif sur la méthanogenèse et les protozoaires.

- **Influence de niveau alimentaire (ingestion)**

Une augmentation des quantités d'aliments ingérées entraîne une accélération du transit digestif, donc une réduction de la digestion microbienne des parois végétales dans les réservoirs digestifs. Ce phénomène s'accompagne d'une diminution de la production de méthane. Pour les rations mixtes, le phénomène est d'autant plus important que le régime est riche en produits amylacés et en fourrage lignifié

- **Influence de type de substrat (ration de base de l'animal)**

Moins de méthane est formé à partir de protéine qu'à partir des glucides. Une infusion des glucides facilement fermentescibles dans le rumen diminue le méthane en faveur du propionate. Ce changement est sans doute dû à une vitesse de fermentation accélérée, associée à une population microbienne modifiée.

Un régime à base de mélasse ou d'amidon, conditionné pour une ingestion limitée des glucides facilement fermentescibles, résultera dans un taux de protozoaires plus élevé et une production plus élevé de butyrate qui s'accompagne généralement d'une diminution de la production de méthane.

L'addition ou la substitution partielle d'aliment concentré à un fourrage peut modifier les conditions fermentaires dans le rumen. En particulier, lorsque l'aliment est riche en produits amylacés, il peut orienter la flore microbienne vers les fermentations amylolytiques au détriment des fermentations cellulolytiques. Ce phénomène entraîne alors une diminution de la digestibilité des parois et des pertes d'énergie sous forme de méthane (**Bicaba, 1991**) (**tableau4**).



Tableau 4 : Influence de différents régimes sur le profil fermentaire (mol/kg MOF) obtenus à partir du contenu de rumen des moutons (**Bicaba, 1991**).

Régimes	Méthane	Acétate	Propionate	Butyrate
Foin+Concentré	1,54	5,32	3,70	1,11
Paille+maïs+ tourteaux de soja	2,83	7,26	1,58	0,81
Paille+maïs +urée	2,32	6,28	2,56	1,16
Paille+maïs	2,85	7,32	1,66	0,76

- **Influence de la vitesse de fermentation**

Une vitesse plus élevée diminue la proportion de méthane produit en faveur de la proportion de propionate.

4.2.2.2. Influence de l'animal

Il a été montré que la méthanogenèse présentait des variations significatives, lorsque le contenu du rumen est prélevé avant le repas, sur plusieurs moutons alimentés avec une même ration à base de foin. Ces différents profils sont, sans doute, liés à des populations microbiennes ruminales différentes, dont la nature pourrait être déterminée par la cinétique de salivation et donc de vidange du rumen. (**Nagaraja, Tone et al., 1992**).

La méthanogenèse varie entre 2,10 et 3,45 moles de méthane / kg de matière organique fermentée avec le contenu du rumen obtenu avant le repas de trois moutons alimentés de la même ration limitée à base de foin (**Demeyer, 1991**).

- **Influence du taux de protozoaires dans le rumen**

L'activité des protozoaires est un paramètre non seulement déterminé par la nature et le niveau de l'alimentation mais aussi par le contrôle animal de la cinétique et le volume du contenu de rumen. La présence de protozoaires dans le rumen est associée à des taux importants de méthanogenèse.

- **Variabilité intra et inter-individuelle**

Les mesures effectuées dans la chambre respiratoire pendant 4 à 5 jours consécutifs sur 36 moutons de races différentes recevant la même quantité d'aliment par kg de poids métabolique montrent que les coefficients de variation intra et inter-individuelle de la



production de méthane sont de 5,0 et 7,5 respectivement et qu'il n'y a pas de différence significative entre les 6 races (**Blaxter et Clapperton, 1965**).

4.3. Estimation des émissions de méthane par les ovins :

Des études ont démontrés que chez des moutons à l'entretien recevant du foin de luzerne en 4 repas par jours, 80% du méthane est produit dans le rumen : 95% est éliminé par éructation et 5% par voie pulmonaire. Le complément (20%) est produit dans le gros intestin : 89% est éliminé par les poumons et 11% par l'anus au cours de la défécation (**Adamou, 2001**).

Ces estimations sont basées sur des exemples d'émissions de méthane par des animaux ayant comme aliment du foin ou herbe plus du concentré (en général 75% de fourrage plus 25% du concentré).

Les émissions annuelles moyennes de méthane d'une brebis allaitante sont de 16,7 m³, tandis que celles d'une brebis laitière sont de 17,8 m³. Celles d'un agneau de boucherie élevé en bergerie avec un régime riche en aliments concentrés sont le tiers (2,9 m³) d'un agneau de boucherie élevé à l'herbe. L'émission de méthane par kg de lait est en moyenne de 77 litres pour une brebis par kg de carcasse produite. Tandis que celle des agneaux de races laitières sevrés précocement est en moyenne de 60 litres et celle des agneaux élevés près de leurs mères est de 1160 litres (**Adamou, 2001**) (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Production de méthane des principaux types des ruminants domestiques (**Adamou, 2001**).

Animal	Situation	Poids (kg)	Production (G ou kg/J)	Régimes	Méthane (L/J)
Agneau	Croissance	30	300 g/J	Herbe	36
Brebis	Tarie	60	0	Foin	30
	Allaitante	65	2,2 kg/J	70% F 30%H	65

F : foin, H : herbe.



➤ **Emission journalière et annuelle**

L'émission de méthane par les brebis est sans doute la plus importante par rapport aux autres ovins et à l'ensemble des ruminants et elle est justifiée par :

- Un effectif de 9 954 980 (plus de 45 %) des ovins en Algérie.
- Les besoins augmentent avec la production et l'émission de méthane en parallèle.
- La nature du régime composé essentiellement des fibres.

Le méthane émis par les brebis estimé à 497,74 millions litres/jour, est l'équivalent de plus de 50 % de la production des ovins et plus de 38 % de la production journalière totale du cheptel algérien, un pourcentage qui impose l'inhibition (réduction) de la production de méthane au niveau des brebis en premier ordre (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Estimations de la production journalière et annuelle de méthane des ovins en Algérie (DSA Batna, 1998).

Ovins	Effectif	Production (g ou kg/J)	Régimes	Méthane (10 ⁶ l/jour)	Méthane (10 ⁹ l/an)
Brebis	9 954 980	0 à 2 kg/j	F ou H+C	497,74	181,67
Béliers	624 170	-	Idem	34,95	12,75
Antenaïse	1 749 490	0,15	idem	69,97	25,54
Antenaïs	1 266 920	0,15	idem	50,67	18,49
Agneaux	2 034 820	0,25	Idem	63,07	23,02
Agnelles	2 318 560	0,10	Idem	53,32	19,64
Totale	17 948 940	-	-	769,72	281,11

F : foin, C : concentré, H : herbe.

4.4. Réduction des émissions de méthane chez les ruminants

L'éruclation de CH₄ par les ruminants conduit à la fois à une perte d'énergie pouvant représenter 8% de l'énergie ingérée et à une aggravation de l'effet de serre par son



pourvoir radiatif. Sa contribution au réchauffement de la planète est évaluée à environ 3%. Malgré son rôle indispensable dans les processus fermentaires anaérobies du rumen, il est souhaitable de pouvoir limiter sa production pour répondre à une demande d'amélioration de la productivité des animaux et de protection de l'environnement (**Martin *et al.*, 2006**).

4.4.1. Augmentation de la productivité animale

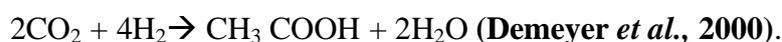
La stratégie la plus efficace semble être l'augmentation de la productivité animale (**Sauvant, 1993**). Dans ce sujet, un exemple théorique peut être cité d'une forme laitière avec une production visée de 2400 hl de lait par an. Cet objectif peut être atteint avec un troupeau de 60 vaches produisant 4000 kg de lait par an. Dans ces conditions, chaque vache libère annuellement 109 kg de CH₄, ce qui représente 6570 kg ou 9200 m³ de CH₄ pour l'ensemble du troupeau. Le même objectif de production peut également être atteint avec un troupeau de 24 vaches produisant 10000 kg de lait par an. Dans ce cas, chaque vache libère 146 kg de CH₄, mais au total, l'ensemble du troupeau produirait seulement 3504 kg ou 4900 m³ de CH₄ pour une année complète.

Cet exemple fait donc ressortir l'importance, d'un point de vue environnemental de calculer la quantité de CH₄ émise par unité de produit et non par animal ou par unité de fourrage ou d'énergie ingérée (**Sauvant., 1993**).

4.4.2. Défaunation du rumen et acétogenèse réductrice

Les bactéries méthanogènes se fixent sur des protozoaires ciliés et cette association physique entre les deux membres de l'écosystème microbien serait responsable de 9% à 25% de la méthanogènes du rumen (**Moss *et al.*, 2000**). La défaunation du rumen d'ovin est presque toujours accompagnée d'une diminution considérable de la méthanogènes (20 à 25%).

La nécessité de développer des alternatives pour les antibiotiques à intensifier les recherches sur les probiotiques l'introduction des bactéries actives est impliquées dans l'acétogenèse réductrice, capable d'entrer en compétition avec les bactéries méthanogènes, est particulièrement intéressante. Ces bactéries sont présentes dans les rumens, mais leur activité hydrogèneotrophe ne s'exprime pas dans la réaction :



Ces organismes préfèrent le métabolisme hétérotrophe dans le rumen, en compétition avec les autres bactéries acidogènes. Leur affinité très réduite pour l'hydrogène



en comparaison avec les méthanogènes serait le facteur majeur responsable de cette situation (Nollet *et al.*, 1996).

4.4.3. Additifs nutritionnels (Utilisation de gras alimentaire)

Des matières grasses peuvent être ajoutées à la ration des ruminants comme additifs nutritionnel dans le but d'augmenter l'apport en énergie. Dans le rumen, ces matières grasses réduisent la digestibilité des autres constituants de la ration, en particulier, les glucides structuraux. Plus spécifiquement, les acides gras alimentaires empêchent l'attachement des bactéries cellulolytiques sur les particules d'aliment, ce qui réduit leur efficacité. Les acides gras polyinsaturés pourraient également exercer un effet toxique directement sur les populations bactériennes.

Cette inhibition s'accompagne ainsi d'un accroissement du pourcentage d'acide propionique dans le contenu ruminal et d'une réduction des émissions de CH₄ (Chouinard, 2004). A titre d'exemple, une étude réalisée chez le mouton a montré qu'une augmentation d'un point du pourcentage de matières grasses ajoutées aux rations s'accompagnait d'une diminution de 2,6% de la production de CH₄ (Giger-Riverdin *et al.*, 1992). Il faut toutefois veiller à ce que l'effet inhibiteur sur la digestibilité de la ration n'affecte pas de façon trop importante l'efficacité alimentaire des animaux (Chouinard, 2004).

4.4.4. Additifs alimentaires

Il y a des inhibiteurs non compétitifs tels que les analogues halogénés du méthane. L'action de ces composés est due à une interaction avec les co-enzymes intervenant dans le processus de la méthanogenèse. Ces co-enzymes analogues interviennent aussi dans la production de propionate. (Demeyer *et al.*, 2000). L'acide 2- bromoéthylsulfonique est un inhibiteur assez spécifique. Cet analogue provoque une inhibition sélective de la méthanogenèse (Immg *et al.*, 1996). Récemment, l'usage combiné du bromochlorométhane et de l' α - cyclodextrine a donné des résultats positifs et persistants (Moss *et al.*, 2000).

Les antibiotiques forment un autre groupe d'inhibiteurs à action moins spécifique (Demeyer *et al.*, 2000). Les antibiotiques inophores comme le monensin peuvent modifier l'équilibre bactérien des rumens et entraîner une diminution de la méthanogenèse (Jouany *et al.*, 1991).



Il a également été envisagé d'éliminer totalement ou partiellement les protozoaires du rumen pour réduire la méthanogenèse ruminale. En effet, les protozoaires, qui produisent de l'hydrogène et l'hébergent une flore méthanogène, seraient responsables indirectement d'environ 40% de la production de méthane dans le rumen (**Moss *et al.*, 2000**). Il faut toutefois considérer qu'il est difficile de contrôler la population de protozoaires dans le rumen. L'emploi de produits toxiques pour les protistes ne grandit pas une défaunation totale et permanente du rumen et peut nuire à la santé de l'animal et à la salubrité des produits animaux destinés à la consommation humaine. En outre, la niche écologique initialement occupée par les protozoaires est moins partiellement remplacée par des bactéries, ce qui réduit l'impact de leur élimination sur la méthanogenèse. Ces approches de modification de l'écosystème microbien ne semblent pas être prometteuses puisqu'il est interdit d'utiliser en Europe tous les antibiotiques ou substances à risques dès 2006 (**Jouany et Martin, 1991**).

4.4.5. Utilisation d'additif naturel

Les niveaux hauts de productivité animale ne peuvent pas être supportés par un fourrage seul (**Nocek et Russeli, 1988**). Les nutritionnistes ont des méthodes pour diminuer des pertes de fermentation (par exemple : le méthane et l'ammoniac). Malgré l'inhibition puissante de certains additifs, une possibilité d'accumulation des résidus dans la viande, le lait ou l'environnement et les doutes des consommateurs concernant la sécurité de ces produits et de ces résidus (**Demeyer *et al.*, 2000**). C'est pourquoi, le recours et la recherche d'autres substituts s'avèrent indispensable. Parmi les substituts de ces produits synthétiques, les extraits de plantes et les métabolites secondaires qui présentent l'avantage d'avoir une bonne image (**Dris, 2008**).

4.4.5.1. Saponines

Les saponines sont des détergents naturels trouvés dans plusieurs familles de plantes. Ils ont des propriétés détergentes et surfactant puisqu'ils contiennent des composants hydrosolubles et liposolubles, ils consistent un noyau liposoluble, ayant un stéroïde ou une structure de niterpenoïde avec une ou plusieurs chaînes alternatives de glucides hydrosolubles (**Hostettman et Marston, 1995**). Les saponines s'avèrent d'excellentes moyennes de la suppression des protozoaires dans le rumen. Une diminution de nombre de protozoaires a été annoncées dans le rumen de mouton avec des saponines pures (**Lu et Jorgensen, 1987**) ou nourrir à dose de plante riche en saponines (**Diaz *et al.*,**



1993; Teferedegne *et al.*, 1999).

La diminution de nombre des protozoaires ciliés ruminales peut augmenter le flux des protéines microbiennes dans le rumen, augmente l'efficacité d'utilisation d'alimentation et réduit la méthanogenèse (Dris, 2008). L'extrait de *Yucca* réduit la concentration $\text{NH}_3 - \text{N}$ ruminal *in vitro* (Takahashi *et al.*, 2000) et *in vivo* (Santoso *et al.*, 2004) qui pourrait être attribué à ses propriétés NH_3 - obligatoires (Headon, 1991) ou ses effet inhibiteurs sur les protozoaires ciliées dans le rumen (Wallace *et al.*, 1994; Wang *et al.*, 1998).

Les extraits aqueux, méthanoliques et éthanoliques de *Sapindus nukorossi* (plante riche en saponine) causent une diminution de la production de méthane *in vitro* par les microbiotes ruminales de *Buffalo*, mais l'extrait éthanolique est le plus efficace, il cause de 95% d'inhibition de méthanogenèse accompagné avec une suppression de digestibilité *in vitro* des aliments (Agarwal *et al.*, 2006). L'inhibition de la méthanogenèse est accompagnée avec une diminution significative de production de gaz total, nombre des protozoaires, production d'acétate et le rapport acétate/propionate et une augmentation relative de concentration de propionate sans affecter le taux d'acides gras volatiles totales.

Dans une autre expérience, l'extrait aqueux de deux plantes riches en saponines (*Acacia concina* et *Emblica officinolis*) accroît la production du méthane (Patra, 2004). Les différentes études montrent donc que l'effet des saponines à partir des sources variables est différent. Il est dépendant de la composition chimique et la dose d'inclusion des saponines (Makkar et Becker, 1997; Sliuniski *et al.*, 2002).

4.4.5.2. Tanins

Elles sont des molécules organiques phénoliques avec poids moléculaires variant de 500 à 3000 KDa.

Les effets divers des tanins sur l'émission de méthane par les ruminants sont rapportés par Waghom and McNabb (2003). Les extraits méthanoliques de *Terminal beleria* et *Terminal chebula* (deux plantes riche en tanins).

Les rapports indiquent que les acides phénoliques sont toxiques pour plusieurs microbes ruminants, surtout les protozoaires ciliées, les microbes cellulolytiques et les méthanogènes. Les acides phénoliques comme l'acide p-coumarique, l'acide ferulique, l'acide cinamique, l'aide 3- phényle propionique et l'acide phloretique à une concentration de 0,1%, inhibent la synthèse d'AGV et limitent la production *in vitro* du CO_2 et de



méthane (**Ushida et al., 1989**). Une autre étude similaire à rapporter que les monomères phénolique à concentration de 0,5% diminuent la production du CO₂, CH₄, d'acétate (**Asiegbu, 1995**).

4.4.5.3. Huiles essentielles

Une huile essentielle est un produit naturel obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur d'eau ou par hydro-distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.

Les huiles essentielles sont des mélanges odorants complexes et variables de composés volatiles. Ils sont stables à température ambiante si elles sont conservées de manière adéquate, à l'abri de l'oxydation et de la polymérisation provoquée par l'air, par la lumière et par les variations de température. Les huiles essentielles comprennent principalement des monoterpènes, des hydrocarbures cycliques et leurs dérivées d'alcool, d'aldéhyde et d'ester.

Les huiles essentielles ont une activité antimicrobienne très spécifique et affectent significativement la fermentation ruminale (**Patra et al., 2006**), les extraits aqueux, méthanoliques et éthanoliques de *Foeniculumvulgare*, *Syzygiumaromaticum*, *Alliumsativum*, *Alliumcepa* et *Zingiberofficinalis* riches en huiles essentielles provoquent l'inhibition *in vitro* de l'émission de méthane

Les extraits méthanoliques et éthanoliques de *F.vulgare*, effets variables sur la digestibilité d'aliment. Alors que, l'extrait éthanolique d'*A. salivum* est le meilleur inhibiteur d'émission *in vitro* de méthane (environ 64%) sans aucune influence sur les enzymes de dégradation de la cellulose (**Patra, 2004**).

5. Aperçu général sur les flavonoïdes

5.1. Définition

Du latin *flavus*, jaune, sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux : on les trouve dissoutes dans les vacuoles à l'état d'hétérosides ou comme constituant des plastes particuliers, les chromoplastes (**Guignard, 2000**).

Elles représentent le plus grand groupe des métabolites secondaires les plus répandus chez les végétaux (**Robard et Antolovitch, 1997**). Elles seraient plus de 5000 dérivés flavonoïdes et leurs activités antioxydants sont très différentes (**Gómez-Caravaca et al., 2006**).

Les flavonoïdes sont des composés qui possèdent un noyau flavone C_{15} ($C_6-C_3-C_6$). Ils sont composés de deux cycles benzéniques (A et B) reliés par le biais d'un cycle pyrone (oxygène contenu au niveau d'une pyrane) (**Häkkinen, 2000 ; Rice-Evans et al., 1996**) (**Figure 9**).

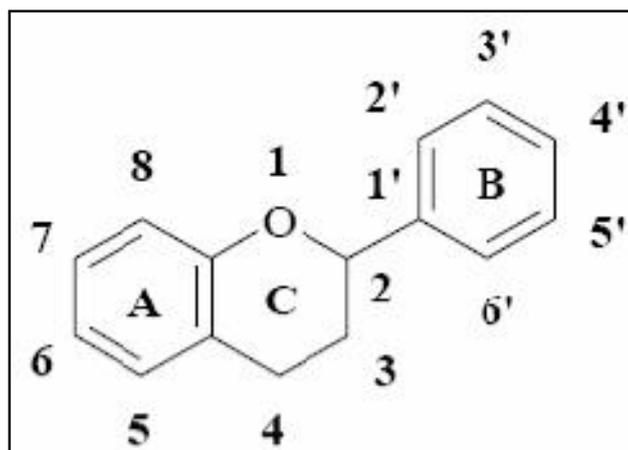


Figure 9 : Structure de base des flavonoïdes (**Frakas, 2004**).

5.2. Classe des flavonoïdes

Selon le degré d'oxydation du cycle 'C' l'hydroxylation du motif flavone et la nature du substituant au niveau du carbone C_3 , les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs sous classes : anthoxanthines (flavonols, flavones, isoflavones, flavanones, flavanes) les anthocyanines et les proanthocyanidines (**Figure 10**).

A l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent généralement sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxylées sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone.

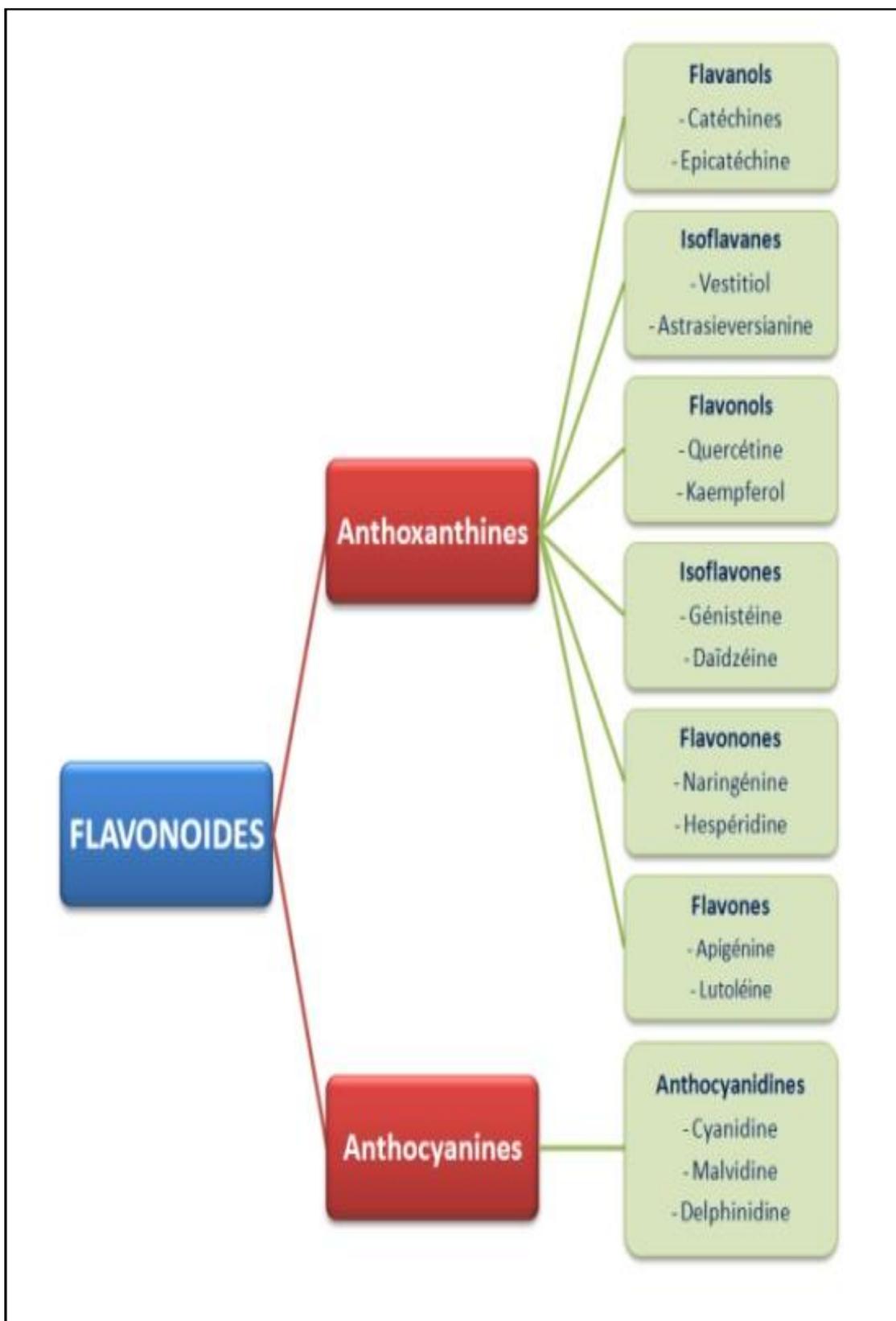


Figure 10 : Différentes classes des flavonoïdes (Ribéreau-Gayon, 1968).



5.2.1. Flavonols (hydroxy-3-flavone)

Les flavonols se différencient des flavones par l'existence d'un OH en position 3. Ce sont les flavonoïdes les plus répons ; les trois principales structures sont la quercetine, le kaempferol et la myricetine. La quercetine est sans doute le composé phénolique le plus répons dans la nature (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

5.2.2. Flavones

Les flavones proprement dites ont un rôle moins important que les flavonols ; cependant l'apigénine et la lutéoline, dont l'hydroxylation correspond respectivement à celle du kaempferol et la quercetine, sont des constituants assez fréquents dans les différentes familles d'Angiospermes.

5.2.3. Isoflavones

Les isoflavones telle que la génistéine n'ont pas la structure classique en C₆-C₃-C₆ des autres flavonoïdes ; elles sont beaucoup moins répandues que les précédentes, mais il existe dans cette famille un grand nombre de structures peu classiques.

5.2.4. Flavanones

Les flavanones ou dihydro-2,3-flavones dérivent des flavones par disparition du double liaison de l'hétérocycle central. Ils sont également assez peu répons, les principales substances sont la naringénine et l'éridictyol qui sont hydroxylés comme le kaempférol et la quercetine.

5.2.5. Flavanés

Les flavanés contiennent un hétérocycle central, dont, d'une part est entièrement saturée, D'autre part ne possède pas de groupement -CO- ; on rencontre fréquemment dans les tissus végétaux des flavanols (catéchine) et surtout des flavanediols 3-4(ou leucoanthocyanidines) qui interviennent dans la constitution des tanins condensés. Les flavanés les plus importants sont les catéchines et les gallocatéchines, la leucocyanidine et la leucodélpidine.

Les flavanés se différencient des autres composés phénoliques en ce sens qu'elles existent dans la nature sous forme d'aglycones, le plus souvent polymérisés, alors que les flavones, flavonols et composés voisins sont toujours sous forme hétérosidique (**Ribéreau-Gayon, 1968**) (**Figure 11**).

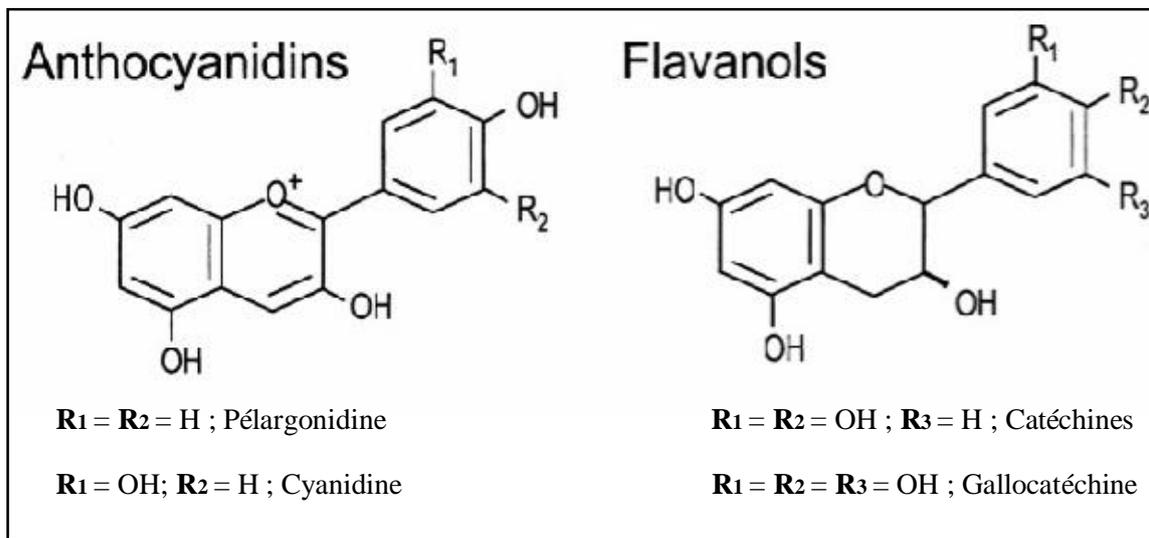
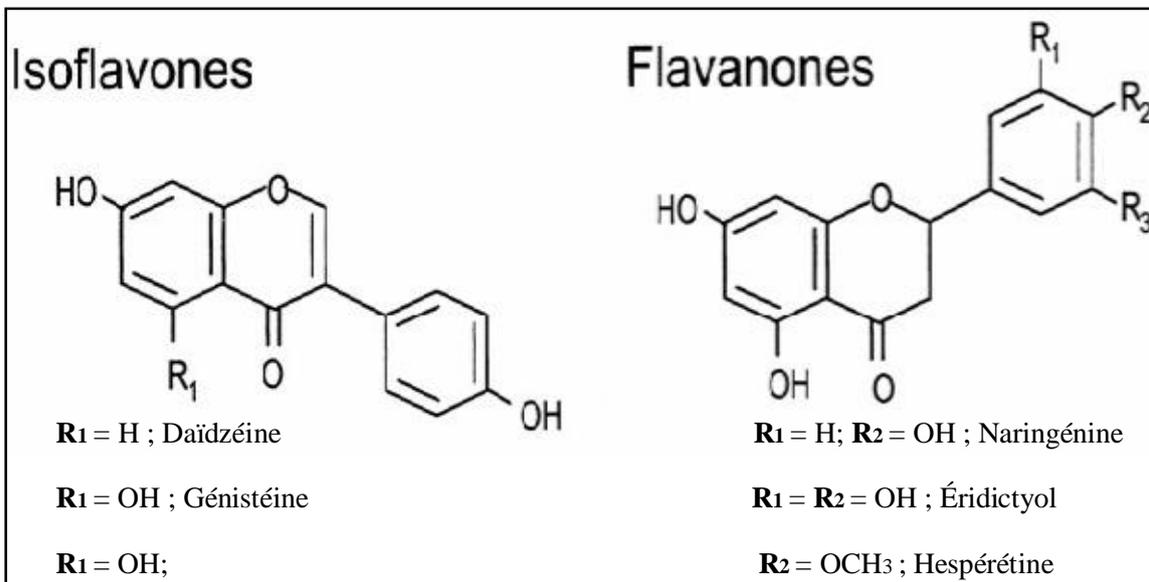
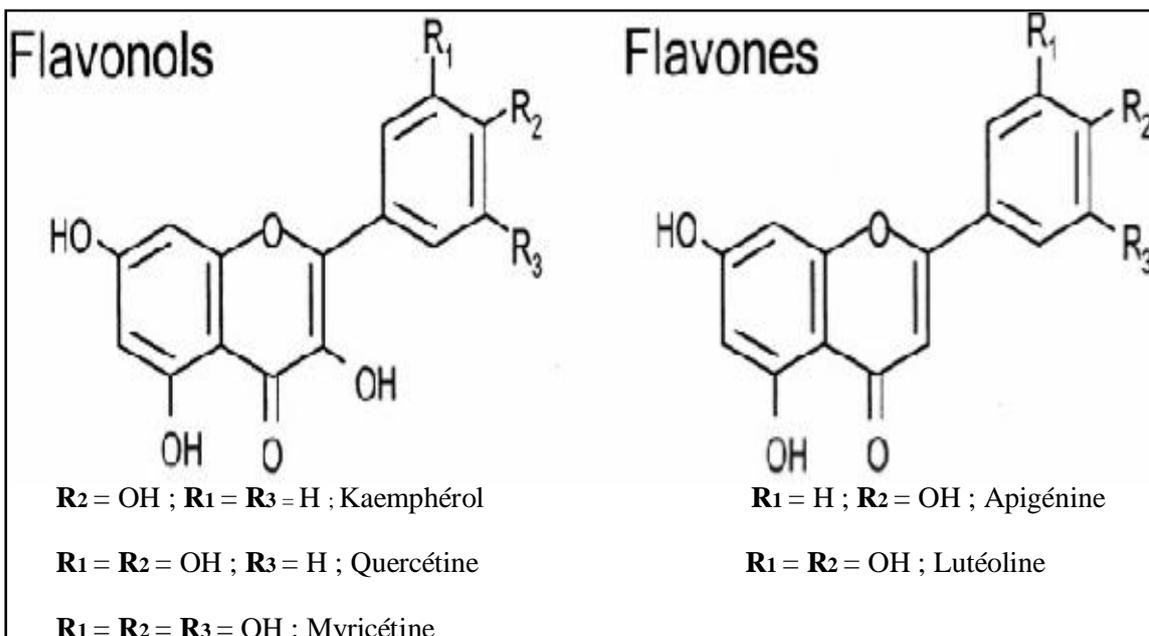


Figure 11 : Familles des flavonoïdes (Manach, 2004).



5.3. Sources

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal. Ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs.

Par contre, on les trouve en abondance dans les familles suivantes :

- POLYGONACEES
- APIACEES (= OMBELLIFERES)
- RUTACEES
- ASTERACEES (= COMPOSEES)
- LEGUMINEUSES

De plus, leur localisation au sein de la plante est caractéristique. En effet, les flavonoïdes se répartissent volontiers dans les organes aériens jeunes (jeunes feuilles, boutons floraux) où ils sont localisés dans les tissus superficiels (assise palissadique). Ils se répartissent aussi volontiers dans les racines.

Au niveau cellulaire, on a observé que les flavonoïdes, sous forme d'hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux.

Les flavonoïdes sont des marqueurs chimiotaxonomiques de choix pour la classification végétale en raison de leur distribution *quasi* ubiquitaire dans les plantes, alliée à leur relative stabilité et facilité d'identification ainsi que la production pour des individus taxonomiquement proches des mêmes types de flavonoïdes (**Remesy et al., 1996**).

5.4. Biosynthèse

Dérivant d'une origine biosynthétique commune, les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en *p*-coumarate puis en *p*-coumaroyl-CoA (**Remesy et al., 1996**) (**Figure 12**).

Il existe un intermédiaire commun dans la biosynthèse des flavonoïdes = une tetrahydroxychalcone, à partir de laquelle on différencie :

- les 4-Oxo-flavonoïdes
- les Anthocyanidines
- les Flavanes
- Tanins (**Remesy et al., 1996**).

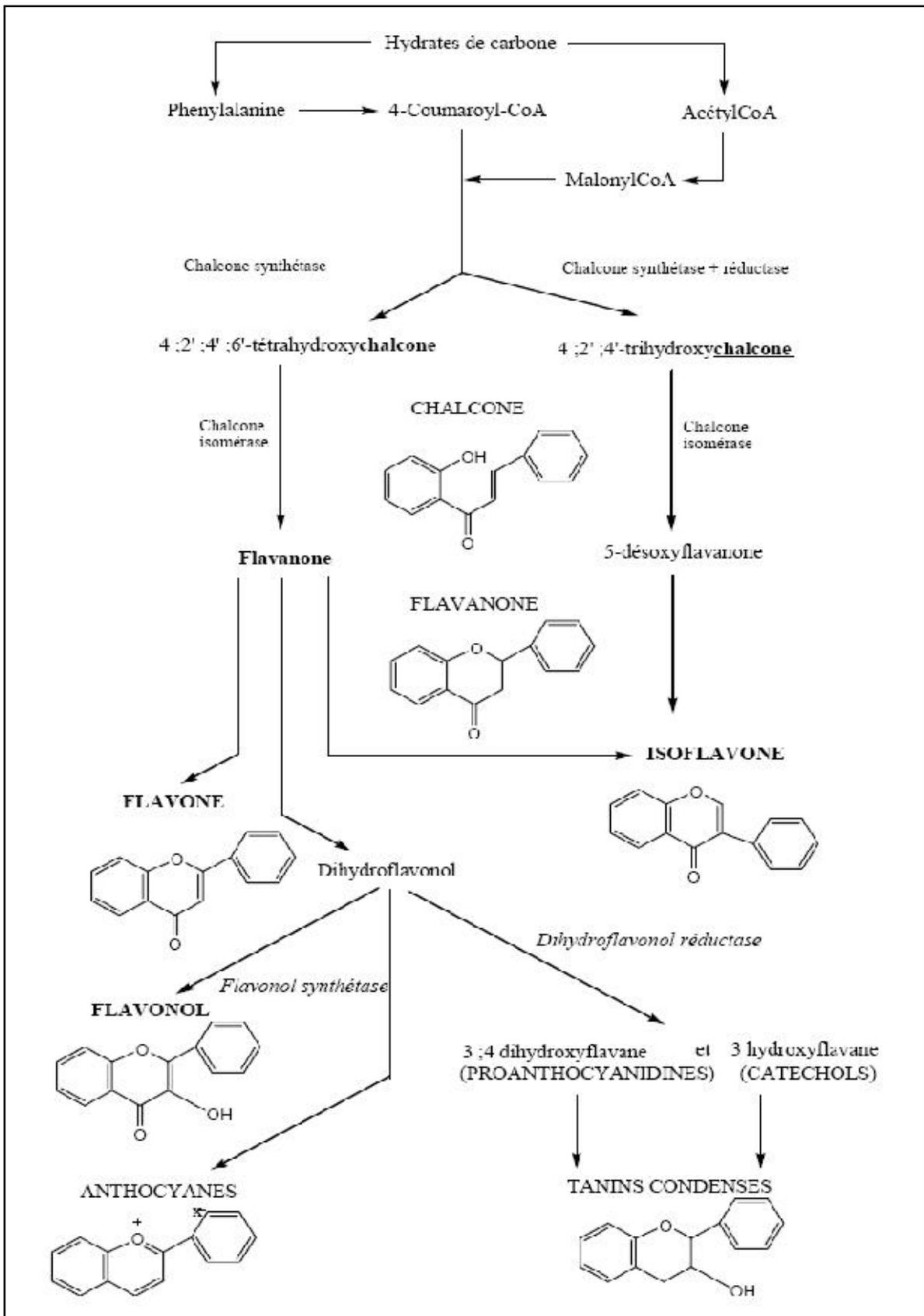


Figure 12 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes. (Remesy *et al.*, 1996).



5.5. Intérêt des flavonoïdes

5.5.1. Intérêt vis-à-vis des plantes

Les flavonoïdes jouent principalement deux rôles pour la plante : l'un attractif et l'autre protecteur, comme exposés ci-dessous.

- Les flavonoïdes sont les pigments colorés des fleurs (**Takeda *et al.*, 1985**). Par exemple, les couleurs orange, rouge et bleue des légumes, fruits, fleurs et tissus de stockage des plantes sont dues à des anthocyanes hydrosolubles (qui sont des flavonoïdes jaunes réduits). De ce fait, ils jouent un rôle important dans les interactions avec les insectes (attraction et rôle dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines).
- Ils agissent dans les systèmes de défense des cellules végétales en réponse à certains stress tels que les radiations ultraviolettes. Les flavonoïdes ont également des propriétés fongicides, bactériennes (**Reinhold *et al.*, 1981**) et insecticides (**Ress et Harborne ,1985**) et protègent les plantes contre les champignons et les insectes.

5.5.2. Intérêt physiologique

On peut additionner d'autre rôle physiologique des flavonoïdes dans les plantes à fait l'objet de nombreuses spéculations pendant des années. Au début années 1960 plusieurs chercheurs ont apporté que deux flavonols, le kaempferol et la quercétine, étaient impliqués dans la croissance de la tige de plantules de pois qui est régulée par la lumière (**Winkel, 2001**). D'autres études font intervenir les flavonoïdes dans la croissance des racines et la dormance, actuellement, il n'est cependant pas avéré que les flavonoïdes jouent un rôle significatif dans la croissance des plantes (**Hopkins, 2003**).

5.5.3. Intérêt pharmacologique

Les flavonoïdes possèdent aussi quel que propriétés pharmacologique telles que :

- Les flavonoïdes présentent une activité antioxydante protectrice contre les effets néfastes des entités radicalaires oxygénées.
- L'O-méthylation des substituants hydroxyles du squelette flavonique annule l'activité anti-oxydante des flavonoïdes (**Harbone, 1986**).
- Les flavonoïdes inhibent xanthine oxydase, source biologique importante du radical superoxyde ($O_2^{\cdot -}$). Ils sont également connus pour inhiber d'autres
- enzymes impliquées dans la génération des cyclooxygénases,



les lioppoxygénases, ou les monooxygénades microsomiales (**Bilia et al., 1996**).

- Le radical superoxyde réagit avec le peroxyde d'hydrogène (en présence de fer) pour donner des radicaux hydroxyles encore plus toxiques (OH). C'est cette réaction, appelée réaction de fente on, catalysée par le fer, qui inhibée par certains flavonoïdes (tels que la quercetine) par une action de chélation du fer (**Sang et al., 2002**).
- Ainsi, leur propriété vitaminique P les rend potentiellement veino-actifs, en diminuant la perméabilité capillaire et en renforçant leur résistance. (**Elgmal et al., 1979**).
- De plus les flavonoïdes sont antiviraux, antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoires et antiallergiques.
- Utilisée pour la prévention du des maladies cardio-vasculaires (**Heller et Forkman, 1998**).

5.5.4. Intérêt économique

- Interviennent par leur seule présence dans la ration alimentaire quotidienne, grâce à la consommation de fruits, de légumes et des produits dérivés, un grand rôle sur la quantité ingérée.
- Peuvent être dans la ration alimentaire sous forme de fragments ou d'extraits de plantes.
- Peuvent faire partie de compléments alimentaires à but thérapeutique, comme sont actuellement disponibles en parapharmacie de nombreux extraits plus ou moins concentrés et purifiés de plantes.
- Peuvent être extrait des sources végétales et utilisés comme médicaments.
- Peuvent être produits par les voies de la chimie soit par synthèse complète soit par modification des molécules naturelles (**Peer et al., 2001**).
- La quercetine a des rôles très importants pour cela on va l'étudiée par détails.

6. Etude de la quercétine

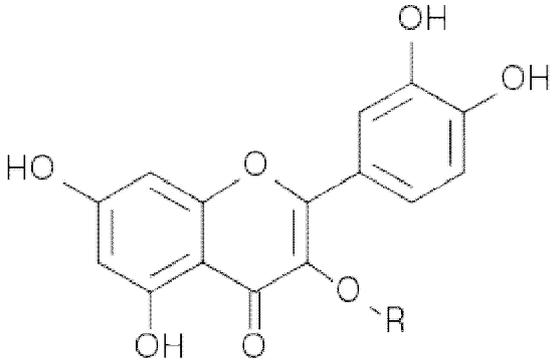
6.1. Définition de quercétine

La quercétine ou quercétol est un flavonoïde de type flavonol présent chez les plantes comme métabolite secondaire. Le quercétol est le plus actif des flavonoïdes et de nombreuses plantes médicinales doivent leur efficacité à leur fort taux en quercétol. Les études *in vitro* et *in vivo* ont montré que c'était un excellent anti-oxydant. La quantité de quercétol trouvée varie considérablement suivant la variété cultivée, les conditions de croissance, l'époque de la récolte. Les oignons sont une source majeure de glycosides ayant la particularité d'avoir des substitutions en position 4'. Dans l'échalote, la forme hétéroside est très dominante puisqu'on la trouve pour 99,2%, avec seulement 0,8% d'aglycone (Escandar et Sala, 1991).

➤ Hétéroside de quercétol

Le quercétol se trouve dans les plantes sous forme hétéroside (ou glycoside c'est-à-dire associé à un glucide) dans lequel il joue le rôle de l'aglycone. Le groupe hydroxyle peut être substitué en position 3 par un rhamnose, un glucose, un galactose ou un rutinoside pour donner respectivement le quercitroside, l'isoquercitroside, l'hypéroside et la rutoside (Erkoc *et al.*, 2002) (Tableau 07).

Tableau 07: Types d'hétéroside de quercétol (Erkoc *et al.*, 2002).

	R	Formule
Quercétol	H	
Quercitroside	O-rhamnosyl	
Hypéroside	O-β-D-galactosyl	
Isoquercitroside	O-β-D-glucosyl	
3-robinosidequercétol	O-β-D-robinosyl	
Rutoside	O-β-D-rutinosyl	



6.2. Propriétés

6.2.1. Propriétés chimiques et physiques du quercétol

Les propriétés chimiques (Formule brute, Masse molaire) et physiques (T° fusion, Solubilité, Masse volumique) ont été décrites dans le (Tableau 08).

Tableau 08 : Propriétés chimiques et. Physiques du quercétol.

Propriétés chimiques		Propriétés physiques	
Formule brute	$C_{15}H_{10}O_7$ [Isomères]	T° fusion	$316^{\circ}C^2$
Masse molaire	$302,2357 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	Solubilité	$60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-12}$
	C 59,61 %,	Masse volumique	$1,799 \text{ g}/\text{cm}^3$
	H 3,33 %, O 37,06 %,		

6.2.2. Propriété sensorielle

Il possède une saveur amère intense, du même ordre que la naringine, avec un seuil de reconnaissance de l'amertume de 50 ppm et 65 ppm respectivement.

6.3. Absorption et métabolisme

Les glycosides sont hydrolysés par des enzymes de l'intestin grêle et sont ensuite absorbés sous leur forme aglycone. Ce n'est toutefois pas ce dernier que l'on retrouve dans le sang mais les métabolites produits durant leur transfert intestinal et durant leur passage dans le foie :

- par glucuronidation (3'-O-D-glucuronide du quercétol, 4'-O-D-glucuronide du quercétol, 3-O-D-glucuronide du quercétol etc).
- par sulfatation (3'-O-sulfate de quercétol).
- par O-méthylation (4'-O-méthylquercétol, 3'-O-méthylquercétol à savoir l'isorhamnétol) (Remesy *et al.*, 1996) (Figure 13).

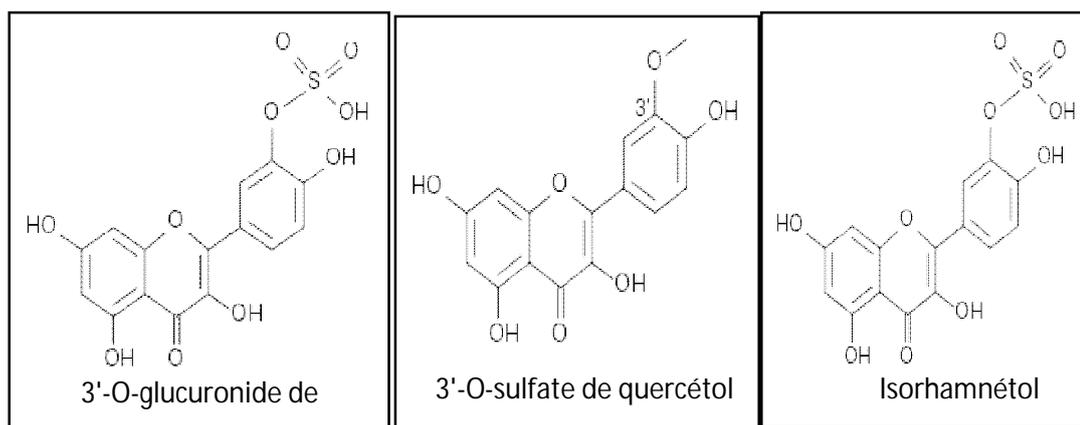


Figure 13 : Métabolites produits durant le transfert intestinal de quercétine et durant leur passage dans le foie (Remesy *et al.*, 1996).

Les métabolites ont une moindre activité anti-inflammatoire que le quercétol. Le 3-O-glucuronide de quercétol n'a pratiquement pas d'activité jusqu'à la concentration de 10 μ M.

La bioactivité anti-inflammatoire se fait dans l'ordre décroissant suivant : quercétol > 3'-O-méthylquercétol > 3'-O-sulfate de quercétol >> 3-O-glucuronide de quercétol.

L'activité anti-oxydante moindre des métabolites se fait dans un ordre un peu différent : quercétol > 3'-O-méthylquercétol > 3-O-glucuronide de quercétol > 3'-O-sulfate de quercétol > 3'-O-méthylquercétin-3-O-glucuronide

Une fois dans la circulation sanguine, les métabolites du quercétol peuvent circuler plus d'une dizaine d'heures (Erkoc *et al.*, 2002).

6.4. Propriétés médicinales

De nombreuses études *in vitro* ont montré que le quercétol était un excellent antioxydant. De tous les flavonoïdes, c'est même le plus puissant capteur d'espèces réactives oxygénées ERO (ou radicaux oxygénés libres). Le quercétol inhibe la production de TNF α (cytokine impliquée dans l'inflammation) dans les macrophages, de IL8 dans les cellules pulmonaires, et de deux cytokines (TNF α et IL-1 α) dans les neurones. Ce processus passe par l'inhibition du facteur de transcription NF-kB jouant un rôle essentiel dans la régulation du système immunitaire. Le piégeage des ERO évite le stress oxydant et atténue les inflammations.



Dans une étude récente (**Kampkötter et collaborateurs, 2008**) montrent que le traitement par le quercétol des vers *Caenorhabditis elegans* accroît leur résistance au stress oxydant et allonge leur durée de vie de 15%.

Le quercétol serait en mesure de réguler l'expression des gènes puisqu'il augmente la translocation du facteur de transcription DAF-16 dans le noyau. Mais les nombreux effets bénéfiques (comme l'activité antimutagénique) qui ont été mis en évidence sur les lignées cellulaires cultivées, les invertébrés ou les rongeurs ne peuvent être extrapolées *in vivo* (**Fulbert et Cals, 1992**). Et jusqu'à maintenant, très peu d'études sur les effets du quercétol sur l'homme ont été menées. Une étude de portant sur des patients souffrant de sarcoïdose, une inflammation chronique des poumons s'accompagnant d'un stress oxydant (avec augmentation du TNF α et IL-8), a montré une amélioration du système anti-oxydant après une prise de quercétol (**Baugman et al., 2003**).

Le traitement de patients souffrant de prostatite chronique par le quercétol a fourni une amélioration significative de leurs symptômes. Ces études semblent indiquer que les effets bénéfiques d'une supplémentation en quercétol serait appropriée en premier lieu pour les affections associées au stress oxydant et à une inflammation. Pour l'instant, seuls des effets anti-oxydants et anti-inflammatoires ont été prouvés *in vivo* (**Imai et Nakachi, 1995**).



CHAPITRE II :

MATERIELS

ET



METHODES

Notre travail effectué au cours de cette étude entre dans le cadre d'un projet de recherche portant principalement sur l'utilisation d'extraits végétaux originaires de zones arides et semi-arides dans la réduction de la méthanogenèse ruminale.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'activité antiméthanogénique d'un flavonoïde purifié qui est la quercétine contenue dans de nombreux fourrages et plantes pastorales en effectuant des analyses quantitatives et qualitatives des gaz produits au cours de la fermentation (CO₂ et CH₄) et la mesure de la digestibilité (matière sèche et organique) par référence à un substrat standard (foin de vesce avoine dans notre étude) en sa présence.

La quercétine pure nous a été fournie par le laboratoire du développement et valorisation des ressources phytogénétiques agréé au niveau de l'université de Constantine et dirigé Pr. Merghem .R .

1. Matériel végétal et animal

1.1. Matériel végétal

Le substrat utilisé pour cette étude est le foin de vesce avoine (**Figure 14**) récolté de la région de Tébesa il a été choisi pour sa bonne valeur nutritive et sa digestibilité remarquable.

Les échantillons ont été collectés le mois de Mars 2010 par coupure à la main de la partie aérienne. Ensuite ils sont séchés, moulus et tamisés à travers une grille de 1 mm, conservés dans des récipients clos jusqu'à leur utilisation.



Figure 14 : Foin de vesce avoine.

C'est un aliment grossier résultant de l'association de deux plantes appartenant à deux familles différentes *Vicia sativa* (légumineuse) et *Avena sativa* (graminée).



1.2. Matériel animal

Les ovins utilisés dans notre étude appartiennent à la race Ouled Djellel. Ces animaux ont un régime alimentaire reposant essentiellement sur le pâturage sur les parcours naturels et sur le foin de vesce avoine. Ces animaux sont des mâles, matures et âgés entre 9 et 12 mois, ils sont sacrifiés à l'abattoir municipal de TEBESSA à des fins commerciales.

Le contenu de rumen des ovins abattus est collecté juste après l'éviscération puis il est filtré à travers 4 couches de gaze chirurgicale puis directement transféré dans des Thermos préchauffés à 39 °C et saturés en CO₂ selon la méthode de (Nicolie *et al.*, 1987), ils sont hermétiquement fermés et transférés directement au laboratoire où ils sont traités au plus tard dans les 2 heures qui suivent la collecte.

Le processus de filtration permet de récupérer une bonne partie la fraction microbienne libre dans le liquide ruminal. Le filtrat récupéré est placé dans un bain marie réglé à 39°C, sous un flux continu de CO₂.

2. Expérimentation *in vitro*

Cette étude a été réalisée en appliquant la Technique de production de gaz *in vitro* en quatre étapes successives :

- 1^{ère} étape : préparation de la salive artificielle.
- 2^{ème} étape : mélange de la salive artificielle avec le contenu ruminal.
- 3^{ème} étape : réalisation de l'inoculation et l'incubation.
- 4^{ème} étape : vidange des seringues après 72 heures d'incubation.

2.1. Principe de la technique

La technique d'incubation *in vitro* est une simulation de la digestion des aliments par les microorganismes dans le rumen. Elle est basée sur la fermentation en anaérobiose du substrat avec un mélange de jus de rumen et d'une solution tampon (Menke et Steingass, 1988).

Le jus de rumen constitue l'inoculum de la flore ruminale et permet de restaurer en partie les conditions chimiques du rumen. Le suivi de la fermentation se fait, soit par la mesure de production des produits terminaux (AGV., CO₂ et CH₄), soit par la mesure de la digestibilité par référence à un substrat standard (Arhab., 2000).



Dans notre étude, nous avons retenu la production de gaz dans ses aspects quantitatifs et qualitatifs (CH₄ et CO₂) ainsi que la digestibilité en présence de foin de vesce avoine.

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

2.1.1. Préparation de la salive artificielle

La majorité des composants de la salive naturelle ou artificielle sont les sels qui sont surtout : les bicarbonates de sodium ou de potassium et aussi hydrogène de phosphate et de chlore. Dans la technique *in vitro*.

Les caractéristiques les plus importants d'une salive jusqu'ici peuvent être définies par quatre facteurs qui sont :

- La quantité des phosphates représentée par hydrogène-phosphate (HPO₄).
- La quantité de bicarbonate (HCO₃⁻).
- La quantité du chlore (Cl⁻)
- Le rapport sodium / potassium (Na⁺ / K⁺).

Chaque élément a un rôle métabolique définis, les bicarbonates est un tampon efficace à des valeurs de pH qui se rapprochent de 6,5 (**Rymer et al., 1999**). Le dioxyde de carbone est utilisé par les méthanogènes comme un accepteur d'électron. Les phosphates contribuent aussi au tamponnage du milieu, le phosphore est un constituant des acides nucléiques (bactériens), des phospholipides et des coenzymes.

L'approvisionnement en chlorures de potassium et de sodium change la pression osmotique. Le potassium est le cation majeur des cellules bactériennes et qu'il entre comme un cofacteur pour certaines enzymes comme le phosphohexokinase. Les quantités des bicarbonates ainsi que celle des phosphates ont une influence sur le taux des fermentations en changeant le pH salivaire avec une valeur maximale à pH 7 (**Rymer et al., 1999**).

➤ **Méthode de préparation :**

toutes les étapes mentionnées ci-dessous sont décrites dans **Menke et al., (1979)**, et **Menke et Steingass (1988)**.



Il faut un mélange de cinq solutions (**annexe 01**) :

La solution A (solution de micro-éléments),

La solution B (solution tampon),

La solution C (solution de macro- éléments),

La solution D (indicateur du potentiel redox), La solution E (solution réductrice).

Le brassage est maintenu à 39° C puis un barbotage est assuré en profondeur par un flux contenu de CO₂ jusqu'au virage de la coloration bleu vers le rose pour devenir finalement incolore (**Figure 15**). A ce moment, le jus de rumen filtré est ajouté dans un rapport (1/2 v/v) avec la salive artificielle. Un barbotage en surface est maintenu 15 min pour maintenir une atmosphère totalement anaérobie.

2.1.2. Inoculation

200 mg de substrat (foin de vesce avoine) est introduit dans chaque seringue et mis à fermenter avec 30ml du mélange (10ml de jus de rumen + 20ml de salive artificielle). (**Figure16**). Pour chaque concentration, trois (03) seringues sont incubées. Dans les mêmes conditions, trois (03) seringues sans substrat et sans additif (jus de rumen + salive artificielle) (blancs) et trois (03) seringues témoins sans additif mais contenant le substrat sont incubées.

L'additif dans cette expérimentation est la quercétine. La dilution de ce dernier s'effectue sous la formule suivante : 0,5g d'additif dans 10ml d'éthanol donc les 5 concentrations testées sont respectivement : 5 ; 10 ; 20 ; 30 et 50 mg/30ml.

2.1.3. Incubation

Les seringues inoculées sont horizontalement incubées dans une étuve à agitation rotatoire 9 tours/min et à 39°C pendant 72 heures.

Le suivi de la cinétique de fermentation est réalisé par la mesure du volume total des gaz produits lors de la fermentation. Il est indiqué par le déplacement du piston sous la pression des gaz libérés à différents intervalles de temps: 2, 4, 6, 8, 24, 48 et 72 heures. Le gaz produit est mesuré par une lecture visuelle des graduations présentes sur la face de chaque seringue. La production réelle de gaz dans chaque seringue correspond à la production de gaz après 72 heures soustraite du volume de gaz enregistré à t₀ et celui du volume de gaz moyen produit par le blanc. La fermentation est cependant arrêtée après 24h pour l'estimation de la production qualitative des gaz (CH₄ et CO₂).

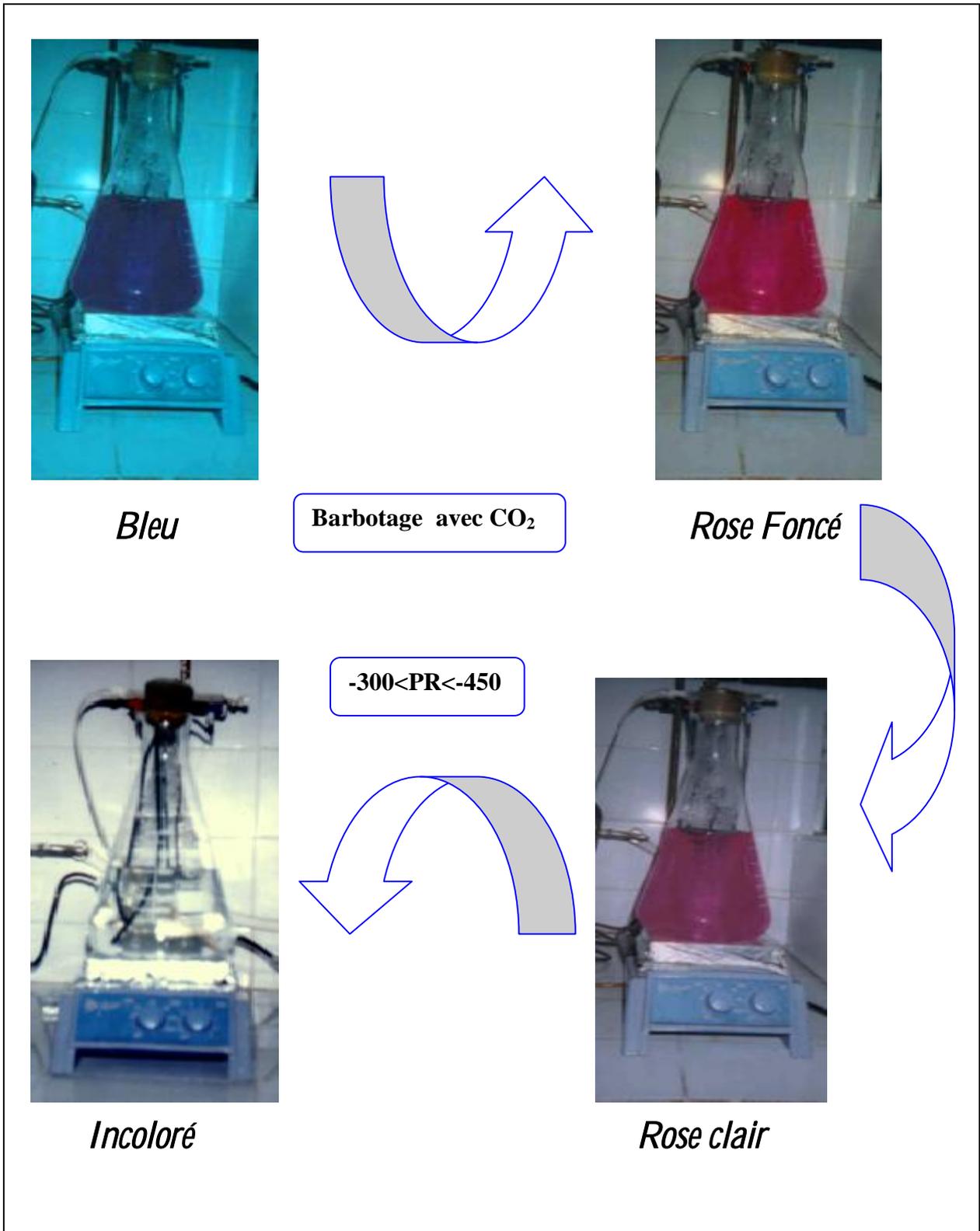


Figure 15 : Différentes étapes de préparation de la salive artificielle (Menke et Stingass, 1988).

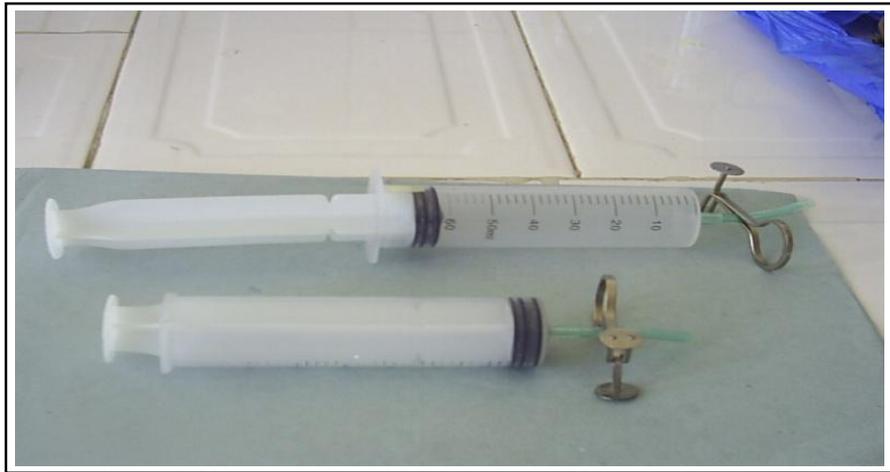


Figure 16: Système de fermentation en batch (Seringues 60 ml capacité).

2.2. Analyse quantitative de la phase gazeuse

La production réelle de gaz dans chaque seringue correspond à la production de gaz après 72 heures soustraite du volume de gaz enregistré à t_0 et celui du volume de gaz moyen produit par le blanc.



PTG : production total de gaz ;

V_{72} : production de gaz enregistré après 72h ;

V_0 : production de gaz enregistré à t_0 ;

V_b : production de gaz enregistré par le blanc.

2.3. Analyse qualitative de la phase gazeuse

L'analyse qualitative et quantitative des gaz fermentés est réalisée selon la méthodologie décrite par (**Jouany 1994**). Elle consiste à injecter 4 ml d'une solution alcaline d'hydroxyde de sodium (NaOH 10N). Ce dernier absorbe le CO_2 , ce qui entraîne la rétraction du piston. Par différence entre le volume total de gaz produit et le volume de CO_2 , la production de méthane est déduite.

$$V_{CH_4} = V_{NaOH} - V_{liq}$$

Et



V_{CH_4} : volume de méthane ;

V_{NaOH} : volume enregistré après injection de la soude ;



- V_{liq} : volume de liquide ;
- V_{CO_2} : volume de gaz carbonique ;
- V_t : volume total de gaz produit.

2.4. Mesure du pH

A la fin de chaque fermentation, le pH de chaque seringue est mesuré par un pH-mètre.

2.5. Détermination de la digestibilité apparente

➤ Digestibilité de la matière sèche

A la fin de chaque fermentation, le contenu de chaque seringue est centrifugé à 11200 tours/min pendant 30min. Le culot est séché, dessiccation à 105°C jusqu'à poids constant puis pesé. La digestibilité apparente de la matière sèche est déterminée par l'équation:

$$D (MS) \% = MSi - (MSrs - MSrb) \times 100 / MSi$$

- D (MS) : Digestibilité apparente de la matière sèche;
- MSi : matière sèche initiale introduite dans chaque seringue;
- MSrs : matière sèche résiduelle de substrat incubé;
- MSrb : matière sèche résiduelle moyenne de blanc.

➤ Digestibilité de la matière organique

Les résidus secs sont ensuite incinérés dans un four à moufle à 550°C pendant 5 heures. Le résidu obtenu correspond à la matière minérale résiduelle (MM). Le taux de matière organique non dégradée (MO) est égal à la différence entre le taux de MS introduite et la MM résiduelle. La digestibilité apparente de la matière organique est déterminée par l'équation:

$$D (MO) \% = MOi - (MOrs - MOrb) \times 100 / MOi$$

- D (MO) : Digestibilité apparente de la matière organique;
- MOi : matière organique initiale introduite dans chaque seringue;
- MOrs : matière organique résiduelle de substrat incubé;
- MOrb : matière organique résiduelle moyenne de blanc.



3. Analyse statistique

Les résultats de la production de gaz ont été traités par une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur :

- Effet concentration (5 ; 10 ; 20 ; 30 ; et 50 mg/30ml).

Les moyennes ont été comparées avec le test **Dunnnett** afin de comparer les résultats à celui de témoin.

Les résultats de la digestibilité ont été traités aussi par une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur (concentration).

Les moyennes ont été comparées avec le test **Dunnnett** afin de comparer les résultats à celui de témoin.

Les calculs ont été réalisés par le programme informatique **STATISTICA ; version 6.**



CHAPITRE III :

RESULTATS

ET



DISCUSSIONS



1. Faciès fermentaire de l'inoculum

1.1. pH de jus de rumen

Le pH est un paramètre très important dans la régulation et l'optimisation des fermentations ruminales. Le pH du jus de rumen fraîchement collecté est de 6,73. Cette valeur indique des conditions physico-chimiques favorables à une bonne activité fermentaire du microbiote ruminal (**Tableau 9**).

Nos valeurs étaient proches à celles de **Rachedi (2005)** ; **Boultifat (2009)** ; **Yaakoub (2006)** et **Laadjimi (2008)** (**Tableau 9**).

Après l'addition de la salive artificielle, une légère augmentation de pH a été constatée. Le pH du mélange jus du rumen/salive artificielle a atteint une valeur moyenne de 7.01. Le même résultat est rapporté par plusieurs auteurs **Rachedi (2005)** ; **Boultifat (2009)** ; **Yaakoub (2006)** et **Laadjimi (2008)**. Cette augmentation de pH peut être expliquée par l'effet tampon de la salive artificielle qui contribue à la neutralisation de l'acidité du milieu (**Huntington et Givens, 1997** ; **Khazal et al., 1995**).

Tableau 9 : Comparaison des valeurs de pH de jus du rumen fraîchement collecté avec celles rapportées dans la bibliographie.

	La présente étude	Ndlovu et Nherera (1997)	Dris (2008)	Chenost (2001)	Rachedi (2005)	Boultifat (2009)	Yaakoub (2006)	Laadjimi (2008)	Ly (1997)
Valeur de pH	6,73	6,41	6,42	6,42	6,67	6,67	6,85	6,90	6,92

1.1.1. pH après 72h de fermentation

La valeur de pH que nous avons enregistrée sur le blanc (seringues ne contenant pas de substrat, et d'additif) après 72 heures d'incubation était 7,65. Des résultats semblables ont été rapportés par **Dris (2008)** (**Tableau 10**).

Il faut signaler que l'acidification du pH après 72h de fermentation serait due à l'accumulation des AGV et de l'acide lactique comme produit final de fermentation dans le milieu (**Bernard, 2001** ; **Madrid et al., 2002** ; **Nguyen et al., 2001** ; **Scot et al., 1970**).



Elle peut être engendrée aussi à une augmentation de la concentration en H₂ (**Bernard, 2001**).

Hoover (1986), rapporte qu'un pH bas peut diminuer l'efficacité de la croissance bactérienne et inhiber la dégradation des fibres *in vitro*. Cependant, les valeurs enregistrées, dans notre étude ne passent pas au-dessous du seuil critique (<6,2) à partir duquel apparait le phénomène de l'acidose, en raison du pouvoir tampon élevé de la salive artificielle de **Menke et Steigass (1988)**.

L'augmentation de pH final peut être attribuée à la concentration élevée de l'ammoniac issu de la fermentation de l'urée par la microflore ruminale (**Polan et al., 1976**), comme elle pourrait être due aussi à la diminution de concentration de l'hydrogène (**Bernard, 2001**).

Tableau 10 : Evolution de pH après 72h de fermentation en absence de la quercetine.

	pH _j	pH _m	pH _b	pH _{tém}
Valeur de pH	6.73	7.01	7,65	8,19

pH_j : pH de jus de rumen brute ;

pH_m : pH de jus de rumen après l'ajout de salive artificielle

pH_b : pH de blanc après 72h de fermentation ;

pH_{tém} : pH de témoin (sans additif) après 72h de fermentation.

Tableau 11 : Comparaison des valeurs de pH du blanc après 72h avec celles rapportées dans la bibliographie.

	La présente étude	Dris (2008)	Attar (2009)	Laadjimi (2008)	Sauvent (2003)	Ly (1997)	Fakhri (1997)
Valeur de pH	7,65	7,49	7,25	7,09	7,06	7,06	6,84



Pour savoir l'effet de l'addition de la quercetine pure sur la variation du pH, une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur (concentration) a été entreprise. Celle-ci montre que l'effet étudié n'influe pas significativement le pH ($p > 0,05$) (**Tableau 12**).

Tableau 12 : Effet de l'addition de quercetine sur le pH après 72h de fermentation.

[] Quercetine (mg)	0 mg	5 mg	10 mg	20 mg	30 mg	50 mg
pH	8,19 ^a ± 0.66	7,5 ^a ± 0.70	7,42 ^a ± 0.48	7,83 ^a ± 0.25	7,14 ^a ± 0.90	7,61 ^a ± 0.07

a : les valeurs affectées d'une même lettre dans la même ligne ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

2. Effet de la quercetine sur les paramètres fermentaires

2.1. Production de gaz *in vitro*

2.1.1. Dans l'essai blanc

Dans l'essai blanc (seringues ne contenant pas de substrat et d'additif), on constate une légère production de gaz avec une valeur moyenne de 09,00 ml. **Ly (1997)** a rapporté une valeur moyenne proche de la nôtre 7,8 ml. Des valeurs plus élevées ont été rapporté par **Attar (2009)** avec une moyenne de 17,58 ml et **Dris (2008)** avec une valeur de 21,66 ml.

Ces résultats dépendent, sans doute, de l'activité microbienne sur les résidus de la ration alimentaire prise avant l'abattage. La différence de production de gaz observée entre les différents travaux est probablement due à l'activité fermentaire variables suivant la microflore ruminale. Cette dernière dépend, à la fois, de deux facteurs

- L'animal donneur;
- Son régime alimentaire (**Ammar et al., 2000 ; Bueno-Ives et al., 2005**).

2.1.2. Dans l'essai témoin

Dans l'essai témoin (seringue contenant le foin de vesce avoine sans additif), une production de gaz d'une valeur moyenne de 41 ml/200mg de MS a été enregistrée.

Boultifat (2009) a rapporté une production de gaz moyenne de 38,58 ml/200mg de MS. Cette valeur est différente compare à la notre.



La variation entre les différentes études peut être expliquée par la variabilité de la composition chimique des substrats utilisés, et de l'activité microbienne de l'inoculum, c'est-à-dire que les animaux donneurs n'ont pas reçus d'aliments standardisés (Tolera et Said, 1997). En effet, les micro-organismes adaptés à la digestion d'aliment de haute qualité sont plus efficaces que ceux adaptés à la digestion d'aliment de qualité inférieur (Menke et al., 1979).

2.1.3. En présence de la quercetine (après 2, 4, 6 et 8 heures d'incubation)

L'addition de quercetine à des seringues contenant le foin de vesce avoine en utilisant les cinq concentrations (5 ; 10 ; 20 ; 30 et 50 mg) n'affecte pas significativement ($P>0,05$) la production de gaz. Bien que non significative ($P>0,05$). L'utilisation de quercetine pour les concentrations : 5,10 et 50 mg est accompagnée d'une diminution de volume de gaz total en comparaison avec les témoins.

Tableau 13 : Effet de l'addition de quercetine sur la production quercetine sur la production de gaz après 2h, 4h, 6h, 8h, 24h, 48h et 72h de fermentation(moyennes \pm ecartypes).

[] Quercetine	Après 2h	Après 4h	Après 6h	Après 8h	Après 24h	Après 48h	Après 72h
0 mg	08,34 ^a $\pm 0,52$	12,00 ^a ± 1.41	17,33 ^a ± 1.95	19,66 ^a ± 1.95	40,67 ^a $\pm 1,39$	41,00 ^a ± 1.41	41,00 ^a ± 0.70
5 mg	06,67 ^a $\pm 0,63$	11,67 ^a ± 0.19	15,67 ^a ± 1.41	16,00 ^a ± 1.41	23,67 ^{ab} $\pm 1,99$	23,67 ^{ab} ± 1.99	23,67 ^{ab} ± 0.57
10 mg	05,67 ^a ± 1.20	09,67 ^a ± 0.15	13,67 ^a ± 0.28	14,66 ^a ± 0.28	22,67^b $\pm 0,16$	23,00^b ± 1.41	23,00^b ± 0
20 mg	08,84 ^a ± 1.01	21,67 ^a ± 1.23	17,67 ^a ± 0.89	18,66 ^a ± 2.36	26,67 ^{ab} $\pm 0,54$	27,67 ^{ab} ± 0.45	27,67 ^{ab} ± 2.36
30 mg	07,67 ^a ± 0.93	11,00 ^a ± 1.41	16,67 ^a ± 1.73	20,66 ^a ± 1.89	28,67 ^{ab} $\pm 0,85$	29,67 ^{ab} ± 0.28	29,67 ^{ab} ± 1.15
50 mg	05,00 ^a ± 1.41	13,67 ^a ± 1.20	15,00 ^a ± 1.41	14,66 ^a ± 1.45	20,33^b $\pm 0,71$	20,33^b ± 0.45	20,33^b ± 0.45

a,b : les valeurs moyennes affectées de lettres différents dans la même ligne ou colonne sont significativement différentes ($p>0,05$).

Ces résultats sont en accord avec ceux d'Attar (2009) et avec ceux de Busquet et Calsamiglias (2005) qui ont utilisé le cinnamaldehyde. La quercetine est un composé phénolique, donc leur effet est rendu surtout à la présence d'un groupe OH dans la structure phénoliques (Dorman et Dean, 2000 ; Ultee et al., 2002 ; Burt, 2004).

Ces composées exercent leur activité antimicrobienne en perturbant la force motrice des protons au niveau de la membrane cytoplasmique. Ils perturbent, également, le transport des flux des électrons actifs et la coagulation du contenu des cellules (**Burt, 2004**). Donc les acides phénoliques sont toxiques pour plusieurs microbes ruminants, surtout les protozoaires ciliés, les microbes dégradant les fibres et les méthanogènes. **Ushida et al. (1989)** et **Asiegbu et al., (1995)** indiquent que les acides phénoliques comme l'acide p-coumarique, l'acide ferulique, l'acide cinnamique et l'acide phloritique et certains monomères phénoliques peuvent abaisser le CH₄, acétate et augmentent la production de propionate.

2.1.4. En présence de la quercétine (après 24, 48 et 72 heures d'incubation)

Après 24 heures, quelle que soit la concentration de quercétine utilisée (5 ; 10 ; 20 ; 30 et 50 mg), nous avons noté une diminution de la production de gaz en comparaison avec les témoins. Cette diminution est statistiquement significative pour toutes les concentrations surtout avec 10 et 50 mg avec un pourcentage de réduction de 55%, 49,89% respectivement.

Après 48 à 72 heures, nous avons noté que la production de gaz devient stationnaire (**Tableau 13**). Cette phase stationnaire caractérisée par une production faible de gaz, peut être expliquée par l'épuisement du milieu de fermentation en nutriments, c'est-à-dire qu'il y a eu lieu une dégradation totale du substrat présent dans le milieu. Cette phase est suivie par la mort de la microflore (**Pell et Schofield, 1992**) (**Figure17**).

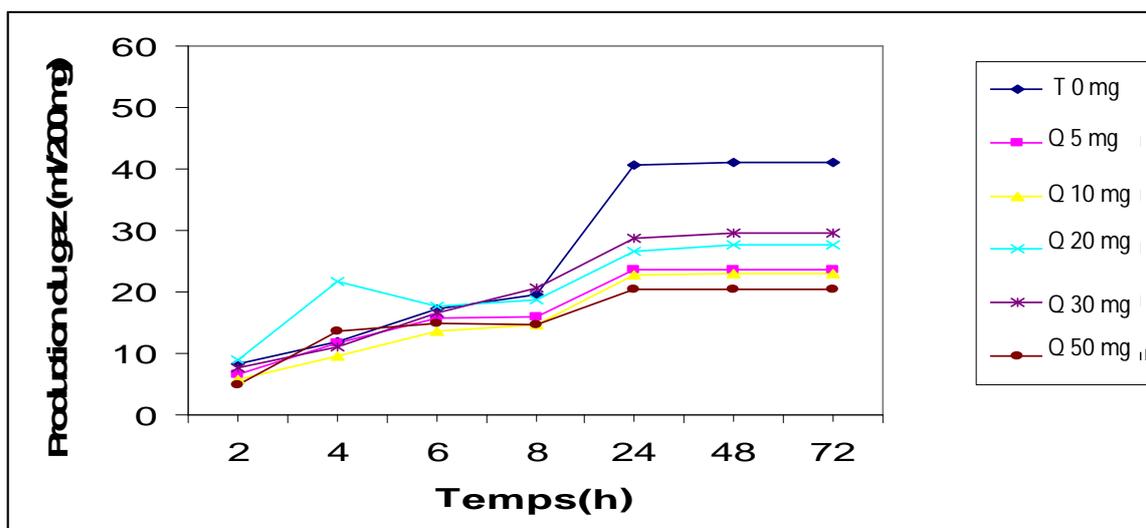


Figure 17: Effet de l'addition de la quercétine sur la cinétique de la production de gaz *in vitro* avec cinq concentrations (5, 10, 20, 30 et 50 mg / 30 ml). T : témoin ; Q : la quercétine pure



3. Analyse qualitative des gaz produit *in vitro*

Globalement, le CO₂ est produit en un volume double du CH₄, ainsi que pour le témoin. C'est-à-dire que 1/3 du gaz produit représente le CH₄ et les 2/3 restants forment le CO₂.

Selon la bibliographie, le volume du gaz produit peut être réparti en deux catégorie : la première représente le CO₂ et le CH₄ formés suite à la fermentation, et la deuxième renferme le CO₂ libéré des sels HCO₃ (présents dans la salive artificielle dissous lors de la neutralisation des AGV générés) (Archimède *et al.*, 1999 ; Blummel et Orskov, 1993; Cone et Van Gelder, 1990 ; Menke et Steingass, 1988). Ce CO₂ représentait plus de la moitié du volume total du gaz produit dans le cas de l'emploi du tampon de Menke (Blummel et Orskov, 1993 ; Menke et Steingass, 1988).

Par référence à cette dernière observation, nous pouvons corriger les volumes du CO₂ produits seulement de la fermentation.

3.1. Production du CO₂ *in vitro*

La production du CO₂ après l'addition de la quercetine reste relativement supérieure à celle du CH₄ durant toutes les heures d'incubation. Cette supériorité est statiquement différente pour chaque une entre eux (P<0,05).

L'augmentation du CO₂ par rapport au CH₄ prouve que la fermentation ruminale est orientée vers la production du propionate et du butyrate qui conduit à la formation du CO₂. En effet, la production du gaz est directement liée a celle des acides gras volatils (Blummel et Orskov, 1993 ; Boultifat, 2009).

3.2. Production du méthane *in vitro*

3.2.1. Après 72 heures d'incubation

Pour la quercetine, l'analyse statistique montre qu'il ya une diminution non significative en utilisant les concentrations 5, 10, 20, 30mg alors que cette diminution devient plus significative avec la concentration 50 mg. (Tableau 14) et (Figure 18).

Le déficit en H₂ et la compétition entre les micro-organismes surtout les méthanogènes peuvent être responsable sur la réduction du méthane comme il peut être rendu à la toxicité de quercetine sur la microflore.

Tableau 14 : Effet de quercetine sur la production de CH₄ et CO₂ après 72h de fermentation (moyennes ± ecartypes).

[] Quercetine (mg)	Après 72 heures d'incubation	
	CH ₄	CO ₂
0 mg	13,66 ^a ± 0.45	27,33 ^a ± 1.80
5 mg	07,89 ^a ± 1.25	15,78 ^{ab} ± 0.74
10 mg	07,66 ^a ± 0.70	15,33 ^{ab} ± 0.31
20 mg	09,22 ^a ± 1.48	18,44 ^a ± 1.69
30 mg	09,89 ^a ± 0.19	19,75 ^a ± 0.93
50 mg	06,77 ^{ab} ± 0.38	13,56 ^b ± 0.98

a, b: les valeurs moyennes affectées de lettres différents dans la même ligne ou colonne sont significativement différents (P<0,05).

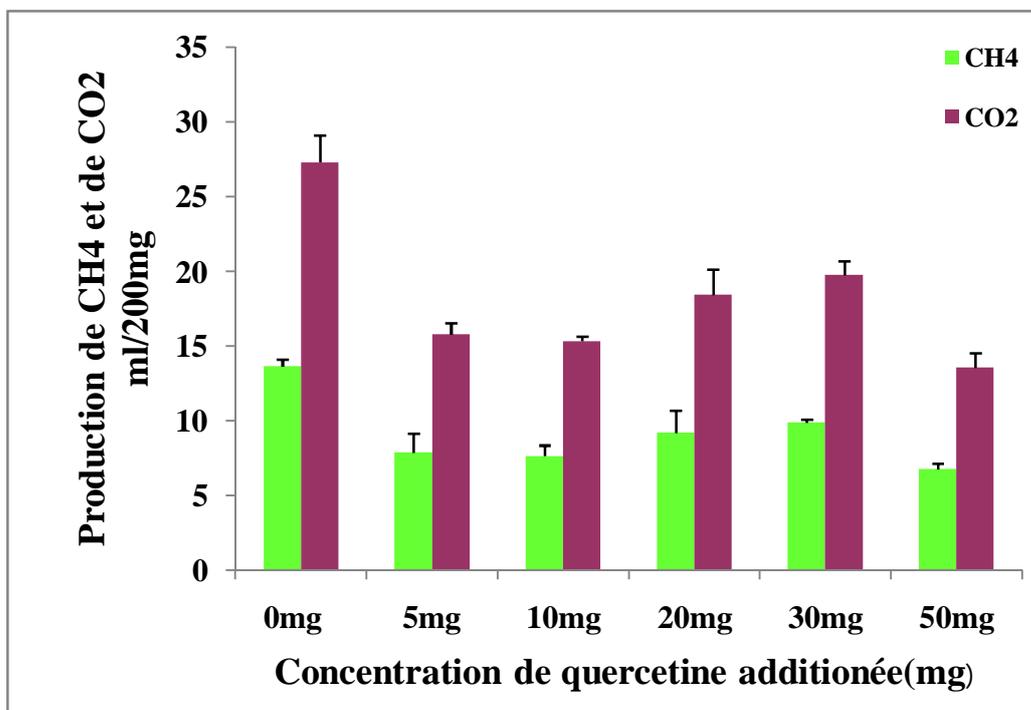


Figure 18 : Diagramme représente la production de CH₄ et CO₂ après 72 heures de l'addition de la quercetine.



4. Effet de la quercétine sur la digestibilité *in vitro* de la matière sèche et de la matière organique

Les coefficients de digestibilité apparente de la matière sèche et de la matière organique de foin de vesce avoine sont : 58,8% et 62,45% respectivement. **Madiha *et al.*, (2000)** trouvent des valeurs de digestibilité voisine aux nôtres. Ils ont rapporté des valeurs de 55,7% et 68,8% respectivement. Le foin de vesce avoine présente une bonne digestibilité car il a un taux faible en paroi cellulaires et plus spécialement en lignine. En effet, selon **Jarrige *et al.*, (1988)**, la lignine constitue la partie indigestible des aliments car elle rend la cellulose et plus particulièrement la lignocellulose inaccessible et résistante aux bactéries cellulolytiques. Selon le même auteur, les hémicelluloses sont nettement moins digestibles que les substances pectiques et la cellulose en raison de leur liaison avec la lignine. De nombreux auteurs présentent des digestibilités apparentes de matière organique de foin de vesce avoine, variant de 59,9 à 72,6 %.

Cette variabilité des résultats entre les auteurs pour le même substrat peut être en partie attribuée au stade végétatif au moment de la récolte, aux conditions climatiques et surtout aux variations saisonnières de température et de pluviométrie qui déterminent la composition chimique de la plante.

Les tableaux 15 (Figure19) et 16 (Figure20), représentent l'effet de l'addition de la quercétine sur la digestibilité de la matière sèche et matière organique (DMS, DMO) de foin de vesce avoine, ces tableaux montrent que l'addition de la quercétine n'affecte pas significativement la DMS et DMO comparativement avec le témoin à l'exception de la concentration 20mg (DMS) qui peut être liée à une erreur de manipulation. Ce qui confirme que ce métabolite secondaire réduit la méthanogenèse sans altérer la digestibilité de foin de vesce avoine (c.à.d. sans aucune influence sur les enzymes de dégradation de la cellulose).

Aucune étude n'a été menée sur l'effet des flavonoïdes purs sur la réduction de méthane et la digestibilité *in vitro*. Contrairement à d'autres études portées sur les huiles essentielles et sur d'autres métabolites secondaires qui sont considérés comme facteurs antinutritionnels par exemple celle des saponines et des tanins.

Selon plusieurs auteurs les saponines répriment la méthanogenèse, la digestibilité et possèdent des effets délétères prouvés sur les protozoaires du rumen car elles agissent sur leurs membranes en précipitant les stérols qui les composent, elles agissent donc



indirectement sur l'efficacité du microbiote ruminal, sachant que les protozoaires contribuent à une partie de la digestion (**Hostettmann et Marston, 1995 ; Makkar et Becker, 1997 ; Williams et Colman, 1992**).

Arhab et al., (2007) indiquent que les tanins peuvent influencer la production de gaz *in vitro* et la digestibilité grâce à l'effet inhibiteur qu'exercent sur les enzymes extracellulaires sécrétées par les bactéries. Les tanins affectent la perméabilité de la paroi bactérienne en agissant sur les membranes cellulaires des bactéries, leur effet antimicrobien peut être dû à leur liaison aux protéines des pores de la paroi cellulaire, altérant de ce fait les mécanismes de transport de nombreux substrats essentiels tels que le glucose, les acides aminés et l'ammoniac. Les tanins de faible poids moléculaire peuvent aussi pénétrer à travers les pores de la paroi cellulaire externe et inactiver les perméases du périplasma impliquées dans le transport des acides aminés et des glucides. Ils peuvent également se lier aux ions et perturber l'absorption des oligo-éléments (soufre et phosphore) indispensables à la croissance bactérienne.

Plusieurs auteurs (**Bae et al., 1993 ; Jones et al., 1994 ; Makkar et Becker, 1997 ; Mc Sweeney et al., 2001 ; Hristov et al., 1999**) montrent que les tanins exercent un effet inhibiteur sur la production de gaz, sur la digestion des aliments, sur la population microbienne et sur l'activité enzymatique.

Patra (2004) indique que les extraits méthanoliques et éthanoliques de *F. vulgare*, ont des effets variables sur la digestibilité d'aliment. Alors que, l'extrait éthanolique d'*A. salivum* est le meilleur inhibiteur d'émission *in vitro* de méthane (environ 64%) sans aucune influence sur les enzymes de dégradation des fibres et de la cellulose.

Tableau 15 : Effet de l'addition de la quercetine sur la digestibilité de la matière sèche de foin de vesce avoine après 72h de fermentation (moyennes ± ecartypes).

[] quercetine (mg)	0 mg	5 mg	10 mg	20 mg	30 mg	50 mg
DMS (%)	58,8 ^a ± 3.77	64,9 ^a ± 4.10	42,5 ^{ab} ± 0.70	37,2 ^b ± 0.14	45,5 ^{ab} ± 1.03	51,5 ^{ab} ± 6.44

a, b : les valeurs moyennes affectées de lettres différents dans la même ligne ou colonne sont significativement différents (P<0,05).

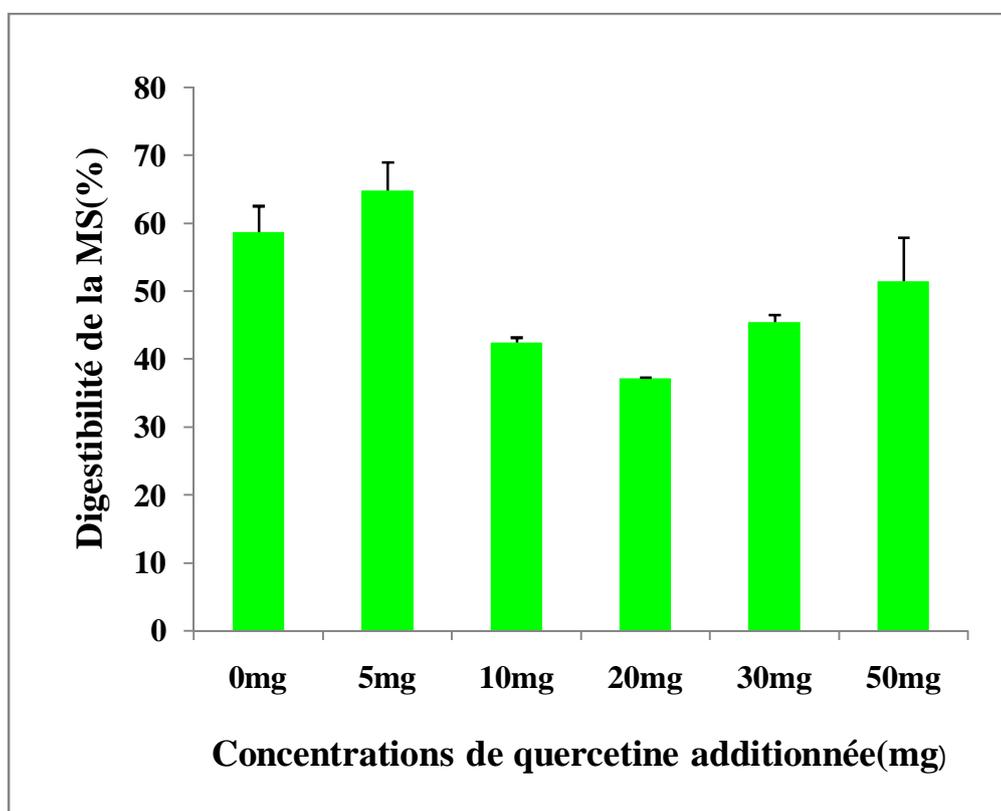


Figure 19 : Diagramme représente les pourcentages de digestibilité de la matière sèche en fonction de la concentration de quercetine administrée.

Tableau 16 : Effet de l’addition de la quercetine sur la digestibilité de la matière organique de foin de vesce avoine après 72h de fermentation (moyennes ± ecartypes).

[] quercetine (mg)	0 mg	5 mg	10 mg	20 mg	30 mg	50 mg
DMO (%)	62,45 ^a ± 0.98	62,41 ^a ± 10.47	55,31 ^a ± 9.46	55,81 ^a ± 2.77	60,53 ^a ± 2.68	59,99 ^a ± 0.07

a, b : les valeurs moyennes affectées de lettres différents dans la même ligne ou colonne sont significativement différents (P<0,05).

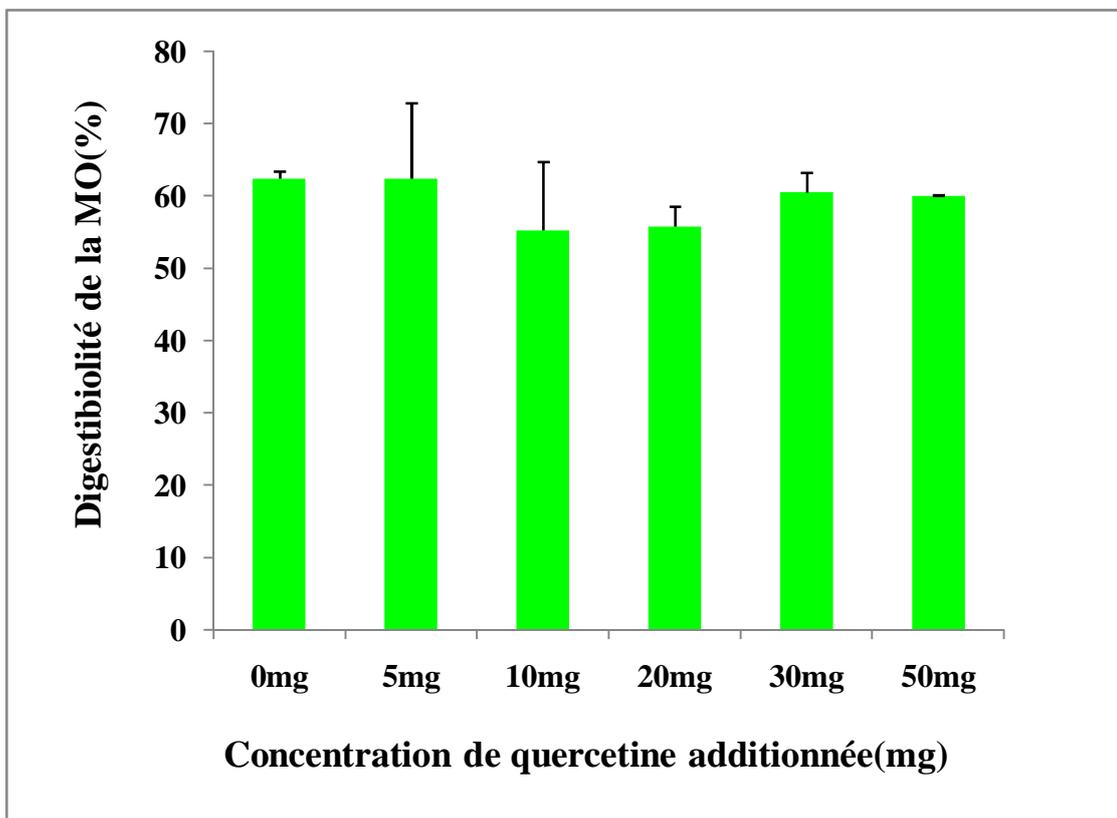


Figure 20 : Diagramme représente les pourcentages de digestibilité de la matière organique en fonction de la concentration de quercetine administrée.



CONCLUSION



Notre travail avait pour objectif d'étudier l'effet de la quercetine purifiée sur la méthanogenèse ruminale chez les ovins ainsi que sur la digestibilité *in vitro*. Cette dernière a été testée sous cinq concentrations différentes : 5, 10, 20, 30 et 50 mg /30ml.

La technique principale utilisée lors de cette étude consiste en la détermination quantitative et qualitative des gaz fermentaires produits suite à la digestion *in vitro* des substrats. Selon différents auteurs notamment **Menke *et al.*, (1988)**, le volume total de gaz produit, au bout d'un laps de temps dépendant de la nature de l'aliment étudié, est un marqueur qui traduit efficacement le cours de la fermentation d'un substrat, et fournit donc d'importantes données sur sa valeur nutritive. Dans notre étude cette technique de production de gaz *in vitro* a été conjuguée avec la mesure de la digestibilité de la matière sèche et organique de foin de vesce avoine en présence de la quercetine.

Nos résultats montrent que la quercetine induit une diminution non significative de la quantité de méthane produit *in vitro*, en utilisant les doses de 5, 10, 20 et 30 mg/30ml. Cette diminution devient plus significative avec la dose de 50 mg/30ml.

En ce qui concerne les résultats de la digestibilité de foin de vesce avoine. L'étude statistique a montré que la quercetine en tant que composé phénolique n'influe pas significativement sur la digestibilité de du foin de la vesce avoine comparativement avec celle du témoin ($P > 0,05$). Ceci reflète que la quercetine n'exerce pas une toxicité vis à vis des microorganismes ruminants capable d'engendrer une défaunation du rumen et par conséquent une détérioration de la digestibilité.

Les résultats obtenus nous ont permis de conclure que l'utilisation de la quercetine a révélé un effet notable sur la réduction du CH_4 sans supprimer la digestibilité de la ration alimentaire. Cependant, il est à noter que cet effet est indépendant de la dose administrée.

Enfin, le milieu ruminal étant un écosystème complexe qui met en jeu différents paramètres interférant les uns avec les autres, et dont la détermination est essentielle pour la compréhension des nombreux phénomènes s'y déroulent. Nous pouvons concentrer les efforts de recherche futurs notamment sur :

- Une optimisation de la dose idéale de quercetine permettant une inhibition maximale sans effet indésirable sur le microbiote et la digestibilité ruminale.
- Une détermination quantitative et qualitative d'AGV produits lors de la fermentation après l'addition de la quercetine.

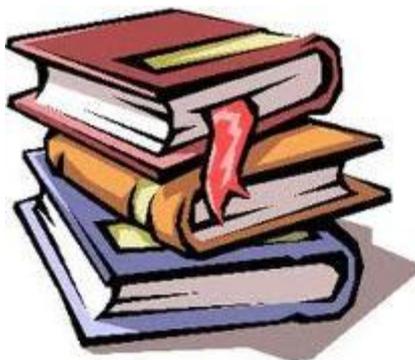


- Une étude *in vivo*, qui donnerait une idée plus proche de la réalité de l'effet de la quercetine sur la réduction du CH₄ et sur la digestibilité de la ration.
- Un dénombrement des protozoaires auxquels la flore des *Aarchae* est principalement associée pour montrer clairement l'effet qu'exerce la quercetine sur le microbiote ruminal.

Ceci nous permettra de mieux conseiller les éleveurs sur l'utilisation des plantes riches en flavonoïdes dans l'alimentation des ruminants afin de lutter contre l'émission du CH₄ qui affecte à la fois la productivité des ruminants et l'environnement.



REFERENCES



BIBLIOGRAPHIQUES



1. **Adamou Alla Eddine. (2001).** Aperçu bibliographique sur la méthanogénèse chez les ruminants. Thèse d'ingénieur en agronomie., zootech., Université Colonel El-Hadj Lakhdar., Batna.
2. **Agarwal N., Kamra D.N., Chaudhary L.C. and Patra A.K. (2006).** Effect of *Sapindus mokorossi* extracts on *in vitro* methanogenesis and fermentation characteristics in buffalo rumen liquor. J. Appl. Anim. Res., in press.
3. **Allard G et Pellerin D. (2000).** Les bons fourrages qui font de bons ovins. Symposium ovin 2000. CRAAQ; pp: 22-33.
4. **Ammar H., Ranilla M. J., Tejido M. L., Gonzalez et Lopez S. (2000).** Effect of inoculum source (sheep or goat rumen fluid) on *in vitro* digestibility and gas production kinetics of the foliage of some spanish browse plants. Anim. Feed. Scie and Technol; **119**: 323-331p.
5. **André S. (2008).** Comment réduire la production de méthane chez les ruminants Physiologie animale et Systèmes d'élevage : 15 p.
6. **Angers D. (2002).** Rôle des sols agricoles dans la séquestration de CO₂ atmosphérique. Texte de conférence présenté au 65^e Congrès de l'Ordre des agronomes du Québec.
7. **Archimede H., Poncet C.,Boval M., Nipeau F.,Philibert L., Xand A.,et Aumont G., (1999).** Comparaison of fresh and dreid digitaria decumbens grass intake and digestion by black-belly rams. Journal of agricultural science, Cambridge: 133-240.
8. **Arhab R. (2000).** Etude de la digestibilité in vitro de sous produits agro-industriels et de cellulose purifiée par la microflore ruminale de camélidés. Utilisation des gaz fermentaires comme marqueurs de fermentation. Thèse de Magister en Biochimie appliquée. Université de Constantine. 69 p.



9. **Asiegbu F.O. (1995).** Effects of cell wall phenolics and fungal metabolites on methane and acetate production under in vitro rumen conditions *J. Gen. App. Microbiol.*,**41**: 475-485p

10. **Attar F. (2009).** Etude *in vitro* de l'activité antiméthanogénique des huiles essentielles extraite à partir du *Romarinus officinalis* et du *Lavendula officinalis* chez les ovins.82p.

11. **Bae H.D., McAllister T.A., Yanke L.J., Cheng K.J. and Muir A.D. (1993).** Effect of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59** : 2132-2138.

12. **Barone. (1984).** Rumen microorganismes as providers of high quality protein *J. Anim. Feed. Sci and Technol.*, **120**: 96-120 p.

13. **Barret P. (1992).** Growing and using lavender a story country wis dombulletin. US.

14. **Baugman S.; Regeat, F.; Texier, O.; Agullo, G.; Demigne, C.; Remesy, C. (2003).** Bioavailability, metabolism and physiological impact of 4-oxo-flavonoids. *Nutrition Research* **16**: 517-544 p.

15. **Beever D.E. (1993).** Rumen function: Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. Forbes J.M. et France J. (Eds). CAB. Int., Univ. Press, Cambridge, UK. 187-215 pp.

16. **Bernalier A., Fonty G. Gouet P. (1990).** Fermentation properties of four strictly anaerobic rumen fungal species; H₂-producing microorganisms. FEMS. Symposium. Marseille. 361-364pp.

17. **Bernard J.K. (2001).** *In vitro* mixed ruminal micro-organisms fermentation of whole cotten seed, coated with Gelatinized corn starch and urea.

18. **Bernard S. (2004).** Evolution temporelle du méthane et du protoxyde d'azote dans l'atmosphère contrainte par l'analyse de leurs isotopes stables dans le névé et la glace



polaires. Thèse de doctorat en sciences de la Terre et de l'Univers. Université Joseph Fourier (Grenoble1). 320 p.

19. **Besle J.M., Jouany J.P. (1990).** La biomasse pariétale des fourrages et sa valorisation par les herbivores *INRA. Prod. Amin* : 39-50.
20. **Bicaba Z.m, (1991).** Digestion comparée de diverses rations à base de fourrages pauvres chez les ovins et les caprins. In Tesserand J.C., Dermarquilly. Nutrition des ruminants domestiques. P 582-596.
21. **Bilia A. R., Ciampi L., Mendez J. et Morelli I., (1996).** *Pharmaceutics Acta Helvetiae*, **71**: 199-204.
22. **Blaxter K.I., Clapperton L.I., (1965).** Prediction of the amount of methane produced by ruminant. *Br. J.Nutr.*, **19**: 511-521.
23. **Blümmel M et Ørskov E. R. (1993).** Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Anim. Feed. Scie and Technol*; **40**: 109-119.
24. **Boultifat L. (2009).** Evaluation de la contribution spécifique des fractions soluble et insoluble de sous-produits de l'agronomie saharienne à la méthanogénèse ruminale d'ovins. Thèse de Magister en microbiologie appliquée. Université de Constantine. 68p.
25. **Brooker J.D., Lum DK., Miller S., Skene J. et O'Donovan L. (1995).** Rumen microorganismes as providers of high quality protein. *J. Anim. Feed. Sci and Technol.*, **120**: 96-120.
26. **Bueno Ives C. S., Cabral Filho Sergio L. S., Gobbo Sarita P. (2005).** Influence of inoculum source in gas production method. *Anim. Feed. Scie and Technol*, **124**: 95-105.
27. **Burt S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**: 223–253.



28. **Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Cardozo P.W., Kamel C. (2005).** Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture”, *J. Dairy Sci.*, **88**: 2508-251.
29. **Chantigny M. (2003).** Contribution des amendements organiques, des fertilisants minéraux et du labour aux émissions de protoxyde d’azote (N₂O). Texte de conférence présenté au 65^e Congrès de l’Ordre des agronomes du Québec.
30. **Chatelin H. (1987).** The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gaz production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J. Agric. Sci.*, **93**: 217-222 p.
31. **Chenost A. Kayouli B. (1997).** Utilisation des fourrages grossiers en régions chaudes. In : Etude FAO production et Santé Animales. FAO Ed. Rome : 135 p.
32. **Chevallier F.H. (2001).** La digestion ruminale des amidons, Cinétique et applications. Thèse de Docteur vétérinaire. Université de Toulouse. 115 p.
33. **Chouinard Y. (2004).** Production et émission du méthane et du gaz carbonique par les ruminants. 65^{ème} congrès de l’ordre des agronomes du Québec. Canada. 1-10p.
34. **Coleman G.S., (1975).** The international ship between rumen ciliate protozoa and bacteria. In LW. Me Donald and A.C.I. Warner (eds), *Digestion and Metabolism in the Ruminant*, University of New England Publishing Unit. Armidale Australia. 149-164 p.
35. **Cone J.W. Van Gelder A.H. (1990).** Influence of protein fermentation on gas production profiles. *Amin. Feed Sci. and Tec*: 251-264.
36. **Crapelet C., Duplan J.M, Thibier M. (1974).** Physiologie animale: la digestion chez les ruminants. INA. Paris-Grignon., 3-7: 10-18, 24-28.



37. **Démarquilly C et Andrieu J. (1988)**. Les fourrages: In Alimentation des Bovins Ovins & Caprins. INRA, Paris; pp: 315-334.
38. **Demeyer D., Fieves V. (2000)**. Ruminants et environnement : la méthanogenèse. Ann. Zootech, **49**: 95-112.
39. **Demeyer D.I, (1991)**. Quantitative aspects of microbial metabolism in the rumen and hindgut, in **Jouany J.P.** Rumen microbial metabolism and ruminant digestion, INRA Edition, Paris. P 217-237.
40. **Dessus B. (2008)**. Le méthane d'origine agricole, cible à privilégier dans la lutte contre le changement climatique. La revue Durable, **29**: 1-10pp.
41. **Dorman, H. J. D., and S. G. Deans. (2000)**. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology **88**: 308-316p.
42. **Dris D. (2008)**. Influence d'extrait végétaux (*Thymelaea hirsuta et Sonchus maritimus*) sur la méthanogenèse et de la digestibilité ruminale *in vitro*. Thèse de magistère en Biochimie Appliqué, Université Cheikh Larbi Tebessi de Tébessa, 70p.
43. **DSA Batna, (1998)**. Estimations de la production journalière et annuelle de méthane des ovins en Algérie.
44. **Elgamal M. H., Elewa N. H., Elkhisy E. A. M. and Duddeck H. (1979)**. Phytochemistry, **18**: 139-143p.
45. **Erkoc, F.; Erkoc, S., (2002)**. Theoretical investigation of flavonoids naringenin and genistein. Journal of Molecular Structure: THEOCHEM, 583, (1-3), 163p.
46. **Eugène M., (2002)**. Effets de la défaunation de ruminants sur les performances de production, en fonction de la ration ingérée. Etude des variations de la protéosynthèse et



de la cellulolyse microbienne ruminale. Thèse de Docteur de l'Institut National Agronomique, INA Paris-grignon, école doctorale Abies, p158.

47. **Farkas O., Jakus J., Héberger K., (2004).** Quantitative Structure – Antioxidant Activity Relationships of Flavonoid Compounds. *Molécules*, **9**: pp 1079-1088.
48. **Fonty G. et Forano E., (1999).** Ecologie de la dégradation et de la fermentation des polyholosides constitutifs des parois végétales dans le rumen. *Cahier Agriculture*, vol **8** : 21-35pp.
49. **Fonty G., Jouany J-P., Forano E. et Gouet Ph., (1995).** L'écosystème microbien du réticulo-rumen. In : *Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion.* Editions INRA., p: 299-348.
50. **Food and Agriculture Organisation : FAO (2003).** Rappels sur l'anatomie du tube digestif des ruminants et l'utilisation digestive des fourrages pauvres.
51. **Fulbert J.C., Cals M.J. (1992).** Les Radicaux libres en biologie clinique. *Pathol. Biol.*, **49**(1) : 66-77,
52. **Gadoud R., (1992).** Nutrition et alimentation des animaux d'élevage, volume 1. Les éditions Foucher, Paris. 120 pp.
53. **Giger-Riverdin, S., M. Vermorel et D. Sauvant., (1992).** Facteurs de variation de la production de méthane au cours de la digestion des aliments composés chez les ruminants. *Ann. Zootech.*, **41**: 37-38.
54. **Gómez-Caravaca A.M., Gómez-Romero M., Arráeza-Román D., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A., (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**: pp1220-1234.
55. **Gouet Ph., Thivend P. (1985).** Le rumen un fermenteur modèle. *Biofuture*. **23**: 47-52.



56. Grenet E., Barry P., (1988). Colonization of thick walled plant tissues by anaerobic fungi. *Anim. Feed.Sci. Technol.*, **19**: 25-31 p.
57. Guignard J.L. (2000). *Biochimie végétale. Eddition Masson ,PARIS .255 p.*
58. Gurtler H.A.K., Kolb. E., Schroder. L.et Seidel. H. (1975). *Physiologie des animaux domestiques. Ed. Vigot frères. 272 – 276pp.*
59. Hafid N., (2006). L'influence de l'âge, de la saison et de l'état physiologique des caprins sur certains paramètres sanguins. Thèse de magister en sciences vétérinaires, Université El-Hadj-Lakhdar de Batna, 85p.
60. Häkkinen S., (2000). *Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. Thèse de doctorat. KUOPIO. 93 p.*
61. Hantigny M. (2003). Contribution des amendements organiques, des fertilisants minéraux et du labour aux émissions de protoxyde d'azote (N₂O). Texte de conférence présenté au 65e Congrès de l'Ordre des agronomes du Québec.
62. Harbone J. B. (1986). *The flavonoids: Advances in research since. Champon and Hall London.*
63. Headon D.R., (1991). Glycofractions of the *Yucca* plant and their role in ammonia control. In: *Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of 7th all tech Symposium, Nicholas Ville, KY: All tech Technical Publications., 95–108p.*
64. Heller, W.; Forkmann. (1993). G., *The flavonoids. Harborne J.B. ed.; London: 499p.*
65. Hobson P. N. (1971). Rumen bacteria «Rumen microorganism». In: *Industrial microbiology. Ed; D.J.D.H. Chenhull, J. R. R. Churchill. Vol: 9.*
66. Hoover W.H. (1986). Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy. Sci.*, **69**: 2755-2766.



67. **Hopkins, (2003).** Physiologie végétale, Deboeket larcier 2^{ème} Edition: 180-279 p.
68. **Hostettmann K. and Marston A. (1995).** Saponins. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
69. **Hristov A.N., McAllister T.A., Van Herk F.H., Cheng K.J., Newbold C.J. and Cheeke P.R. (1999).** Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. J. Anim. Sci., **77**: 2554-2563p.
70. **Hungate R.E., (1966).**The rumen and its microbes. Academic press, New York, USA. **3**: 27-38p.
71. **Huntington J.A. and Givens D.I. (1997).** The effect of inoculum concentration and method of inoculation on the gas production profile high temperature dried grass. Proceed. Brit. Societ. Anim Sci., 192-200p.
72. **Imai K; Nakachi K. (1995).** Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases. *BMJ* 310 (6981): 693-6p.
73. **Immig I., Demeyer D., Feidler D., Van Nevel C. and Mbanzambigo L. (1996).** Attempts to induce reductive acetogenesis into a sheep rumen. Arch. Anim. Nutr., **49**: 363-370p.
74. **Jarrige R. (1988).** Principe de la nutrition et de l'alimentation des ruminants : Besoins alimentaires des animaux : valeur nutritive des aliments, *INRA*.621p.
75. **Jarrige. R, Grenet E., Démarquilly C., Besle J.M., (1995).** Les constituants de l'appareil végétatif des plantes fourragères in **Jarrige R., Ruckebush Y.**
76. **Jean-Blain. C, (2002).** Introduction à la nutrition des animaux domestiques. Ed.Tec .et Doc., Paris, 424p.



77. **Jondey A., Gogny. M. (1989).** Physiologie comparée. Le fonctionnement du rumen. Cahiers de Nutrition et de diététique, **24**: 429-434p.
78. **Jones G.A., McAllister T.A., Muir A.D. and Cheng K-J. (1994).** Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacterium. Appl. Environ. Microbiol, **60**: 1378p.
79. **Jouany J.P., (1994).** Les fermentations dans le rumen et leur optimisation. INRA. Prod. Anim., **7**(3): 207-225p.
80. **Jouany J-P., (2000).** La digestion chez les camélidés ; comparaison avec les ruminants. INRA Prod. Anim., **13**: 165-176p.
81. **Jouany J.P. and Martin C., (1991).** La production de méthane digestif par les ruminants. INRA. Unité de recherches sur les herbivores, Centre de Clermont-Theix, France.
82. **Khazal K., Deinho M.T., Ribero J.M. and Orskov E.R. (1995).** Prediction of apparent digestibility and voluntary intake of hays feed to sheep: comparison between using fiber components in vitro digestibility or characteristics of gas production or nylon bag degradation. J. Anim. Sci., **61**: 527-1709p.
83. **Laadjimi K., (2008).** Evaluation des interactions fermentaires entres fourrages : estimation de leur fermentescibilité *in vitro* par le microbiote ruminal d'ovins. Thèse de magister en Biochimie appliquée. Université Cheikh Larbi Tébéssi de Tébessa, 80p.
84. **Lu C.D. et Jorgensen N.A., (1987).** Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. J. Nutr., **117**: 919-927p.
85. **Ly J. and Preston T.R. (1997).** An approach to the estimation of washing losses in leaves of tropical trees. Livst. Resea. Riral. Dev., **9** (3): 5-9p.
86. **Madiha H, Javier G, Rafael C, María R (2000).** Nutritive value of on-farm vetch-oat hays. I. Voluntary intake and nutrient digestibility .Anim.Res. 381-389p (abstr).



87. Madrid J., Megias M.D. and Hernandez F. (2002). *In vitro* determination of dry matter and cell wall degradation and production of fermentation end products of various by-products. Anim. Feed Sci. Technol., **51**: 189-199p.
88. Makkar H.P.S. and Becker K. (1997). Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of *Moringa oleifera* tree, J. Agric. Sci., Camb., **128**: 311– 322p.
89. Manach C., (2004). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. Curr Opin Lipidol.;**16**:77-84 p.
90. Martin C.,Morgavi D.,Doreau M.et Jouany J.P.,(2006). Comment réduire la production de méthane chez les ruminants ? Fourrages, **187**: 283-300p.
91. McSweeney C.S., Palmer B., McNeill D.M. and Krause D.O. (2001). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. Anim. Feed Sci. Technol., **91**: 83-93p.
92. 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. Anim. Res. Dev., **28**: 7-55p.
93. Menke K. H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. And Scheider W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gaz production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. J.Agric. Sci., **93**: 217-222p.
94. Moss A.R., Jouany J.P., et Newbold J. (2000). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. Ann. Zootech., **49**: 231-253p.
95. Nagaraja T.G., Tone G. et Reharka A.A., (1992). Moderation of ruminal fermentation by ciliate-protozoa in cattle fed a high grain diet. App. Envir Mic., **58**: 2410-2414p.



96. **Nguyen Ba Mui., Cu Xuan Dan. and Vu Duy Giang. (2001).** The effect of kinds of pineapple residue silage on its chemical composition, *in sacco* degradability and influence of its partial replacement of green grass in the goat diet on some characteristics of rumen fermentation. Proceeding-workshop on improved utilization of by-products for animal feeding in Vietnam-NUFU project.
97. **Nicolie J.A., Javanivic M., Zeremsk. (1987).** Application of modified *in vitro* procedure in the prediction of organic matter digestibility of feed stuffs for ruminants .Acta. Vetirenaria (Beograd). **37:** 3-12 p.
98. **Nocek J.E. and Russel J.B. (1988).** Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate available availability to microbial synthesis and milk production. J. Dairy Sci., **71:** 2070-2107p.
99. **Nollet L. and Verstracte W. (1996).** Gastro-enteric methane versus sulfate and volatile fatty acid production. **42:** 113-132p.
100. **Orskov E.R. et Mc Donald I., (1979).** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate passage .J. Agric. Sci. Camb., **92:** 499-503pp.
101. **Orskov E.R. et Ryle M., (1990).** Manipulation of rumen microorganismes. In: Energy nutrition in rumunants. Ed: Elsevier Science., 499-503p.
102. **Patra A.K., (2004).** Studies on inhibition of ciliate protozoa and stimulation of fibre degrading microbes in the rumen of buffalo by plant secondary metabolites Ph D thesis ,Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, Inde, p1-234.
103. **Patra A.K., Kamara D.N. et Agarwal N., (2006).** Effet of spices on rumen fermentation, methanogenesis and protozoa counts *in vitro* gaz production test .International Congress.Series. ,Inde, **1293:**176-179p.



- 104. Peer W.A., Brown D.E., Tague B.W. (2001).** Taiz L., Murphy A.S., Flavonoïd accumulation patterns of transparent testa mutants of arabidopsis, *Plant physio.* 536-548 p.
- 105. Pell, A.N., Woolston, T.K., Nelson, K.E., Schofield, P., (2000).** Tannins: biological activity and bacterial tolerance. In: Brooker, J.D. (Ed.), Tannins in Livestock and Human Nutrition, Proceedings of the International Workshop, Adelaide, Australia, May 31 June 2, 1999. ACIAR Proceedings 92 : 111–116. *skin in vivo*. *Int. J. Oncol.*, **9** : 801–809 p.
- 106. Polan C.E., Miller C.N. and Mc Gillard M.C. (1976).** Variable dietary protein and urea for intake and production in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, **59**: 1910-1914p.
- 107. Rachedi K., (2005).** Etude de la fermentesibilité *in vitro* de plantes présahariennes par la microflore ruminale d'ovin. Evaluation de la contribution spécifique des différentes fractions pariétales au pool des produits fermentaires. Thèse de magister en biochimie appliquée. Université Mentouri de Constantine, 82p.
- 108. Reinhold L., Harborne J. B. and Swain T. (1981).** Progress in Phytochemistry, **7**:198p.
- 109. Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O., Regerat F (1996).** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Méd. Nut*: 17-27p.
- 110. Ress S. B. and Harborne J. B. (1985).** *Phytochemistry*, **24**: 2225-2231p.
- 111. Ribéreau-Gayon P., (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod Paris, 254 p.
- 112. Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J.; Paganga, G. (1996).** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, **20** (7): 933-956p.



- 113. Robard K., Antolovich M., (1997).** Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. *Analyst*, 122, pp 11-34.
- 114. Rochette Ph., (2003).** Les sources agricoles de gaz à effet de serre (GES) au Canada. Agriculture et Agroalimentaire Canada, Sainte-Foy., p 1-4.
- 115. Russel J.B. and Rynchlik J.L. (2001).** Factors that alter rumen microbial ecology. *Science.*, **292**: 1119-1122p.
- 116. Rymer. C., Huntington. J. A., Givens. D. I., (1999).** Effects of inoculum's preparation method and concentration, method of inoculation and pre-soaking the substrate on the gas production profile of high temperature dried grass. *Animal feed science and technology*, **78**: 199-213pp.
- 117. Sang S., Lapsley K., Jeong W., Lachance P., Ho C., and Rosen R. (2002).** *J. Agric. Food Chem.* **50**: 2459-2463p.
- 118. Santoso B., Mwenya B., Sar C., Gamo Y., Kobayashi T., Morikawa R., Kimura K., Mizukoshi H. and Takahashi J. (2004).** Effects of supplementing galactooligosaccharides, *Yucca schidigera* or nisin on rumen methanogenesis, nitrogen and energy metabolism in sheep. *Livest. Prod. Sci.*, **91**: 209-217p.
- 119. Sautet A., (1995).** L'appareil digestif et ses adaptations. In : Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion, Editions INRA, p 183-222.
- 120. Sauvant D., (2002).** Physiologie comparée de la digestion et de la nutrition. Inst. Nation. Agronomique. Paris. Grignon, pp: 10-28.
- 121. Sauvant D., Dulphy S.P., Michalet-Doreau B., (1990).** Le concept d'indice de fibrosité des aliments des ruminants. *INRA Prod. Anim.*, **3(5)**: 309-318p.
- 122. SauvantD., (1993).** La production de méthane dans la biosphère: le rôle des animaux d'élevage. *Courrier de la Cellule Environnement, INRA.*, **18**: 67-70p.



- 123. Scot T.W., Cook L.J., Ferguson K.A., MC Donald I.W., Buchanan R.A. and Loftus Hills G. (1970).** Production of poly unsaturated milk fat in domestic ruminants. *Austr.J.Sci*, **32**: 194-208p.
- 124. Sliwinski B.J., Soliva C.R., Machmuller A. and Kreuzer M. (2002).** Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **101**: 101-114p.
- 125. Soltner D., (1999).** Alimentation des animaux domestiques. Sciences et techniques agricoles Tome I, 21 édition, 176 p.
- 126. Stewart CS., Duncan SH., Richardson AJ., Backwell C et Begbic R. (1992).** The inhibition of fungal cellulolysis by cell free preparations from *Ruminococci*. *FEMS. Microb. Lett*; **97**: 83-88 p.
- 127. Stewart CS, Bryant Mp (1988).** The rumen bacteria. In: Hobson PN, editors. The rumen microbial ecosystem. Elsevier Science Publisher, New York, 21-75. 527 p
- 128. Takahashi J., Miyagawa T., Kojima Y. and Umetsu K. (2000).** Effects of *Yucca schidigera* extract, probiotics, monensin and L-cysteine on rumen methanogenesis. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.*, **13**: 499-501p.
- 129. Takeda K., Kariuda M. and Itoi H. (1985).** *Phytochemistry*, **24**: 2251-2254p.
- 130. Teferedegne B., McIntosh F., Osuji P.O., Odenyo A., Wallace R.J. and Newbold C.J. (1999).** Influence of foliage from different accessions of the sub-tropical leguminous tree, *Sesbania sesban*, on ruminal protozoa in Ethiopian and Scottish sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **78**: 11-20.
- 131. Thivend P., Fonty G., Jouany J.-P., Durand M., Gouet P., (1985).** Le fermenteur rumen. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **25** (4B), 729-753pp.



- 132. Thomas P.C et Clapperton L. (1972).** Signification to the host of changes in fermentation activity. *Prod. Nutr. Soc;* pp. 31-165.
- 133. Tolera A., Said K. (1997).** Nutritive evaluation of some browses species. *Animal Feed Science and Technology*, **67**: 181-195p.
- 134. Ultee, A., M. H. J. Bennik, and R. Moezelaar. (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, **68** : 1561-1568p.
- 135. Ushida K., Tanaka H. et Kijima Y., (1989).** Effect of phenolic acids on gas and volatile fatty acid production by mixed rumen population with or without protozoa, *Jpn. J. Zootech. Sci.*, **60**: 1135-1142p.
- 136. Waghorn G.C. and McNabb W.C. (2003).** Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants, *Proc. Nutr. Soc.*, **62**: 383– 392p.
- 137. Wallace R.J., Arthaud L. and Newbold C.J. (1994).** Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**: 1762-1767p.
- 138. Wallace. R.J., (1996).** The proteolytic systems of ruminal microorganisms. *INRA. Elsevier.*, *45, suppl.*, 301-308 p.
- 139. Wang Y., McAllister T.A., Newbold C.J., Rode L.M., Cheeke P.R. and Cheng K.J. (1998).** Effect of *Yucca schidigera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in rumen simulation technique (RUSITEC). *Anim. Feed Sci. Technol.*, **74**: 143-153p.
- 140. Winkel B.F., (2001).** Flavonoids biosynthesis a colorful model for genetics biochemistry cell biology and biotechnology. *Plant physiol*: 485-493p.
- 141. Williams A.G., Coleman G.S. (1992).** *The Rumen Protozoa*. Springer.



142. Yaakoub F, (2006). Evaluation *in vitro* de la dégradation des principaux fourrages des zones arides. Thèse de magister en Nutrition. Université El-Hadj Lakhdar de Batna ,150p.

143. Yanagita k, Kamagata Y, Kawaharasaki M, Suzuki T, Nakamura Y, Minato H (2000). Phylogenetic analysis of methanogens in sheep rumen ecosystem and detection of Methanomicrobium mobile by Fluorescence In Situ Hybridization. Biosc.Biotechnol. Biochem., **64**: 1737-174.

Sites web:

<http://www.wikipedia.org/wiki/Quercetine>.



ANNEXES

**Annexe 1 : la composition de la salive artificielle selon Menke K et Steinguass IL., 1988.**

Solutions	Composition	Quantité
Solution A (Solution des micro-minéraux)	CaCl ₂ . 2H ₂ O	13.2g
	MnCl ₂ . 4 H ₂ O	10.0g
	CoCl ₂ . 6 H ₂ O	1.0g
	FeCl ₃ . 6 H ₂ O	8.0g
Solution B (Solution tampon)	Eau distillée	100ml
	NaHCO ₂	39.0g
Solution C (Solution des macro-minéraux)	Eau distillée	1000ml
	Na ₂ HPO ₄	5.7g
	KH ₂ PO ₄	6.2g
Solution D (Solution indicatrice du potentiel Redox)	MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0.6g
	Eau distillée	10000ml
Solution E (Solution réductrice)	Résazurine (C ₁₂ H ₆ NO ₄)	100mg
	Eau distillée	100ml
Solution E (Solution réductrice)	Na ₂ S. 9 H ₂ O	625.0
	L-Cystéines	625.0
	NaOH (1N)	4
	Eau distillée	95



Annexe 2 : Préparation de la salive artificielle selon Menke K et Steinguass IL., 1988.

Composant	Quantité (ml) pour 1000ml de SA
Solution A	0.12
Solution B	240.0
Solution C	240.0
Solution D	1.22
Solution E	95.0
Eau distillée	470.0



RESUMES



Résumé

Le méthane est un gaz produit en grande quantité par les animaux d'élevage suite à la dégradation de la ration alimentaire. Cette production représente une perte d'énergie estimée entre 2 à 12% de l'énergie contenue dans les aliments consommés par le ruminant. Si ces pertes d'énergie étaient réduites, il en résulterait une amélioration de la productivité de l'animal en lait et en viande. Par conséquent, la réduction de la production de méthane par les ruminants représente non seulement un intérêt environnemental à long terme mais également un intérêt économique à court terme.

Cette étude avait pour objectif d'étudier l'effet de la quercétine (flavonoïde trouvé dans différentes plantes pastorales) sur la production de méthane et sur la digestibilité ruminale *in-vitro* afin de répondre à une demande d'amélioration de la productivité des animaux et de protection de l'environnement.

La quercétine a été testée en utilisant cinq concentrations : 5 ; 10 ; 20 ; 30 et 50 mg/30ml. La technique standard de fermentation *in-vitro* a permis de retenir la production quantitative et qualitative des gaz fermentaires. L'étude de l'effet de la quercétine sur la digestibilité a été faite en dosant les restes de la matière sèche et la matière organique après 72 heures de fermentation en comparaison avec les témoins.

Les résultats de la fermentation *in-vitro* par le microbiote ruminal d'ovins révèlent que la quercétine pure a une capacité remarquable pour réduire la production du méthane en particulier avec la concentration de 50 mg/30ml.

Les coefficients de digestibilité apparente de la matière sèche et organique ont révélés que la quercétine n'affecte pas significativement la digestibilité ce qui reflète le pouvoir antiméthanogénique intéressant des flavonoïdes purifiés comme métabolite secondaire des plantes et des fourrages.

Mots clés:

Méthane, flavonoïdes, quercétine, fermentation *in vitro*, digestibilité.



Summary

Methane is a gas produced in great quantity by the livestock following the degradation of the food intake. This production represents a loss of energy estimated between 2 at 12% of the energy contained in food consumed by the ruminant. If these losses of energy were reduced, it would result an improvement from it from the productivity of the meat and milk animal. Consequently, the reduction of the production of methane by ruminants represents not only one environmental interest in the long run but also as short-term economic interest.

This study aimed to investigate the effect of the flavonoids case of quercetin (flavonoid found in various pastoral plants) on production of methane and of ruminal digestibility in order to answer a request improvement of the productivity of the animals and protection of environment.

Quercetin was tested by using five concentrations: 5; 10; 20; 30 and 50 mg/30ml. The standard technique *in-vitro* fermentation has made it possible to retain the quantitative and qualitative production gases. The study of the effect of quercetin on digestibility was made by measuring the residual dry matter and organic matter after 72 hours of fermentation in comparison with controls.

Results of *in-vitro* fermentation by the microbiote ruminal of sheep reveal that pure quercetin has a capacity of the reduction of the production of methane. But the most important result is that the pure quercetin proportioned with 50 mg/30ml. decreased methane production in vitro.

The coefficients of apparent digestibility of the matter dry and organic revealed that quercetin does not affect digestibility significantly what reflects the capacity antimethanogenic interesting of the flavonoids purify as secondary metabolite of plants and fodder.

Key words:

Methane, flavonoids, quercetin, *in-vitro* fermentation, digestibility.



الملخص

ينتج غاز الميثان بكمية كبيرة عند الماشية في أعقاب هضم النظام الغذائي. هناك فائدة في تخفيض إنتاج غاز الميثان عند المجترات لأنه يمثل ضياع لطاقة الحيوان بما يتراوح بين 2 حتى 12 % من الطاقة الواردة في المواد الغذائية المستهلكة لذا تخفيض هذه الخسائر الطاقوية سوف يؤدي إلى تحسين الإنتاجية من الحليب واللحوم الحيوانية ، لذلك خفض إنتاج الميثان من قبل الحيوانات المجترة ليس فقط منفعة بيئية على المدى الطويل ولكن أيضا مصلحة اقتصادية في الأجل القصير.

إن الهدف من هذه الدراسة هو معرفة مدى تأثير الكرسيتين (فلافونويد موجود في النباتات الرعوية المختلفة) على إنتاج الميثان وهضم النظام الغذائي في المخبر من أجل إجابة طلب تحسين إنتاجية الحيوان و حماية المحيط.

اختبرت الكرسيتين باستعمال خمسة تراكيز 5-10-20-30 و 50 ملغ/30 ملل تقنية التخمر المخبري قد مكنتنا من التعرف على الإنتاج الكمي والنوعي للغازات الناتجة عن التخمر، أما فيما يخص تأثيرات الكرسيتين على الهضومية فقد تمت دراستها عن طريق معاينة نواتج المادة الجافة والعضوية بعد 72 ساعة مقارنة مع الشواهد.

إن نتائج التخمر المخبري عن طريق ميكروبيوتا كرش الأغنام تظهر بأن الكرسيتين النقي لديه قدره في تخفيض كمية الميثان الناتج عن التخمر الميكروبي ولكن النتيجة الأكثر أهمية تركيز 50 ملغ/30 ملل.

وقد كشفت معاملات الهضم الظاهري للمادة الجافة والعضوية بأن الكرسيتين لم تؤثر تأثيرا كبيرا على الهضم مما يعكس أهمية نقاء الفلافونيدات كمستقلبات ثانوية مستخلصة من النباتات والأعلاف.

الكلمات المفتاحية :

الميثان ، الفلافونيدات ، الكرسيتين ، التخمر المخبري ، الهضم.



Nom: BOUSSAADA
Prénom: Amina

Date de soutenance: 03/07/2011

Titre: Etude *in-vitro* des flavonoïdes purifiés sur la méthanogenèse ruminale chez les ovins : cas de la quercetine.

Résumé :

Le méthane est un gaz produit en grande quantité par les animaux d'élevage suite à la dégradation de la ration alimentaire. Cette production représente une perte d'énergie estimée entre 2 à 12% de l'énergie contenue dans les aliments consommés par le ruminant. Si ces pertes d'énergie étaient réduites, il en résulterait une amélioration de la productivité de l'animal en lait et en viande. Par conséquent, la réduction de la production de méthane par les ruminants représente non seulement un intérêt environnemental à long terme mais également un intérêt économique à court terme.

Cette étude avait pour objectif d'étudier l'effet de la quercetine (flavonoïde trouvé dans différentes plantes pastorales) sur la production de méthane et sur la digestibilité ruminale *in-vitro* afin de répondre à une demande d'amélioration de la productivité des animaux et de protection de l'environnement.

La quercetine a été testée en utilisant cinq concentrations : 5 ; 10 ; 20 ; 30 et 50 mg/30ml. La technique standard de fermentation *in-vitro* a permis de retenir la production quantitative et qualitative des gaz fermentaires. L'étude de l'effet de la quercetine sur la digestibilité a été faite en dosant les restes de la matière sèche et la matière organique après 72 heures de fermentation en comparaison avec les témoins.

Les résultats de la fermentation *in-vitro* par le microbiote ruminal d'ovins révèlent que la quercetine pure a une capacité remarquable pour réduire la production du méthane en particulier avec la concentration de 50 mg/30ml.

Les coefficients de digestibilité apparente de la matière sèche et organique ont révélés que la quercetine n'affecte pas significativement la digestibilité ce qui reflète le pouvoir antiméthanogénique intéressant des flavonoïdes purifiés comme métabolite secondaire des plantes et des fourrages.

Mots clés:

Méthane, flavonoïdes, quercetine, fermentation *in vitro*, digestibilité.