



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : de microbiologie

قسم. الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes*

Intitulé :

---

**Effet de la source d'azote sur l'activité métabolique  
des principaux groupes bactériens du rumen de bovin :  
cas du bicarbonate d'ammonium et du nitrate de potassium**

---

Présenté par : ABLA Faiza  
et BOUCHAAR Hassiba

Le 30 juin 2016

Devant le Jury d'évaluation :

Président du jury : *KHELIFI Douadi* (Professeur- UFM Constantine).  
Encadreur : *HADDI Mohamed-Laid* (Professeur- UFM Constantine).  
Examineur : *KADEM Dhaou El Djabine* (Professeur- UFM Constantine).  
Examinatrice : *BENCHIHEUB Meriem* (MAA- UFM Constantine).

*Année universitaire 2015 - 2016*

## *Remerciements*

*Nous remercions tout d'abord Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné le courage et la volonté d'entamer ce mémoire et de le mener à terme.*

*Nous tenons à remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de juger notre travail*

*Professeur Khelifi D. pour avoir accepté de présider ce jury*

*Professeur Kadem D.E.D et Mme Benchiheub M. pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et les conseils du Professeur Haddi M. L.*

*Nous le remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant la rédaction de ce mémoire.*

*Nos sincères remerciements s'adressent à tous les enseignants du département de microbiologie qui ont participé à notre formation.*

*A toute la promotion de Microbiologie générale 2015-2016*

*Enfin, nos profonds remerciements s'adressent à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont participé à la réalisation de ce travail.*

*Faïza et Hassiba .....*



## *Dédicaces*

*Ce mémoire est le fruit de plusieurs mois de travail, de sérieux  
et de persévérance*

*Je le dédie d'abord à mes très chers grands parents pour leur  
gentillesse et leur tendresse*

*A celle qui nous a quitté très tôt et n'a pu voir ses enfants  
grandir et réussir*

*Celle à qui j'ai toujours une pensée dans les moments de joie  
comme de tristesse*

*A la mémoire de ma très chère maman Dalila*

*Que mon papa soit fier de moi*

*Qu'il puisse trouver dans ce modeste travail le témoignage de  
mon profond respect*

*A mon grand soutien dans la vie*

*Celui qui a toujours été à mes cotés*

*Qui m'a soutenue et encouragée, pour mener à terme ce travail*

*A mon grand frère Babí avec toute ma reconnaissance et ma  
gratitude*

*A mes sœurs Meriem, Karima et Khalida*

*A tous mes neveux et nièces de Walid à Sérine*

*Pour leurs encouragements*

*A mon compagnon Saïd*

*La personne avec qui je vais passer le reste de mes jours*

*Faiza .....*



## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude à  
ma mère « RAHIMA » et mon père « AHMED »*

*Pour l'éducation qu'ils m'ont prodiguée, avec tous  
Les moyens et au prix de tous les sacrifices  
qu'ils ont consenti à mon égard, pour le sens  
du devoir qu'ils  
mon m'enseigné depuis mon enfance.*

*A mes chères frères Lotfi, Mostafa, Abed alkader,  
Fatah.*

*A mes très chères sœurs, Lamyra, Someia, merci d'être  
toujours là, je vous aime .....*

*A tous ceux que je n'ai pas encore cités et qui comptent  
pour moi.*

*A tous mes collègues de la promotion 2016*

*Hassiba ..... *

## SOMMAIRE

Introduction .....	1
<b>Chapitre 1 : Recherche bibliographique</b>	
1. Le milieu ruminal .....	2
1.1. Le potentiel d'oxydo-réduction.....	2
1.2. Le pH .....	2
1.3. La température .....	3
1.4. Le teneur en eau .....	3
1.5. La pression osmotique.....	3
2. La flore ruminale.....	3
2.1. Les bactéries .....	4
2.1.1. La classification des bactéries selon leur répartition Dans le rumen.....	4
2.1.2. La classification des bactéries selon le substrat qu'elles dégradent .....	5
2.2. Les archaebactéries .....	11
2.3. Les champignons .....	11
2.4. Les protozoaires .....	11
2.5. Les virus .....	11
3. Le métabolisme ruminal.....	12
3.1. Le métabolisme énergétique.....	13
3.1.1. Les glucides cytoplasmiques.....	13
3.1.2. Les glucide partiiaux.....	15
3.1.3. Le mécanisme général de dégradation des polymères .....	19

3.2. Le métabolisme azote.....	21
3.1.1. Les sources alternatives d'azote .....	24

## **Chapitre 2 : matériels et méthode**

1. Inoculum et animal donneur .....	30
2. Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum.....	30
2.1. Mesure du pH.....	30
2.2. Mesure de la température .....	30
2.3. Mesure du potentiel d'oxydoréduction .....	30
3. Mesure de la teneur en matière sèche .....	31
4. Mesure de la teneur en matière minérale et organique.....	31
5. Analyse des caractéristiques microbiologiques de l'inoculum.....	32
6. Épuisement de l'azote et de l'énergie résiduels.....	34
7. Utilisation les sources d'azote comme source d'énergie .....	34
8. Évaluation de l'effet des sources d'azote sur les différents groupes bactériens du rumen.....	34
9. Sources d'azote utilisées.....	35
10. Sources d'énergie utilisées.....	35
11. Préparation des milieux d'incubation.....	35
11.1. Milieu d'épuisement.....	35
11.2. Milieu de fermentation.....	36
12. Incubation .....	38
12.1. Phase d'épuisement.....	38
12.2. Phase de fermentation.....	39
12.2.1. Utilisation des sources d'azote .....	39

12.2.2. Effet des sources d'azote sur les différents groupes bactériennes.....	39
12.2.3. Effet des sources d'azote sur les bactéries cellulolytique .....	40
13. Activité métabolique sur la flore ruminale bactériennes .....	40
14. Mesure du pH après fermentation.....	40
15. Elaboration des donnés.....	40

### **Chapitre 3 : Résultats et discision**

1. Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum.....	41
2. Analyse des caractéristiques microbiologiques de l'inoculum.....	42
3. Épuisement de l'azote et de l'énergie résiduels.....	42
4. Utilisation des sources d'azote comme source d'énergie.....	44
5. Effet des sources d'azote inorganique sur les principaux groupes bactériens du rumen.....	47
5.1. Effet du bicarbonate d'ammonium.....	47
5.2. Effet du nitrate de potassium.....	49
6. Effet des sources d'azote organique sur les principaux groupes bactériens du rumen.....	51
6.1. Effet du glutamate du sodium.....	51
6.2. Effet de l'extrait de levure.....	54
7. Effet des différentes sources d'azote sur les bactéries cellulolytiques du rumen.....	56
Conclusion .....	62
Références bibliographique	
Résumé	

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Caractéristiques des principales espèces cellulolytiques du rumen .....	6
<b>Tableau 2</b> : Caractéristiques des principales espèces pectinolytiques du rumen.....	7
<b>Tableau 3</b> : Caractéristiques des principales espèces amylolytiques du rumen.....	8
<b>Tableau 4</b> : Caractéristiques des principales bactéries fermentant les sucres simples du rumen.....	9
<b>Tableau 5</b> : Caractéristiques des principales bactéries lipolytiques.....	9
<b>Tableau 6</b> : Caractéristiques des principales bactéries méthanogènes.....	10
<b>Tableau 7</b> : Concentration, toxicité des sources alternatives d'azote .....	24
<b>Tableau 8</b> : Niveau de la toxicité du nitrate de potassium dans l'eau .....	25
<b>Tableau 9</b> : Composition de l'extrait de levure .....	28
<b>Tableau 10</b> : Coloration de Gram selon Kopeloff .....	33
<b>Tableau 11</b> : Composition du milieu d'épuisement.....	35
<b>Tableau 12</b> : Composition du milieu de fermentation 1 avec les différentes sources d'azote.....	37
<b>Tableau 13</b> : Composition du milieu de fermentation 2 avec les différentes sources d'énergie.....	37
<b>Tableau 14</b> : Composition du milieu de fermentation 3 avec les différentes sources d'azote.....	38
<b>Tableau 15</b> : Caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum.....	41



<b>Tableau 16 :</b> Volumes de gaz produit durant les phases d'épuisements des différents essais.....	43
<b>Tableau 17 :</b> Caractéristiques cinétiques de l'utilisation des sources d'azote comme source d'énergies .....	45
<b>Tableau 18 :</b> pH finaux après fermentation des sources d'azote .....	46
<b>Tableau 19 :</b> Caractéristiques cinétiques de l'effet du bicarbonate d'ammonium sur les différents groupes bactériens du rumen .....	48
<b>Tableau 20 :</b> pH finaux après fermentation des sources d'énergie en présence du bicarbonate d'ammonium.....	49
<b>Tableau 21 :</b> Caractéristiques cinétiques de l'effet du nitrate de potassium sur les différents groupes bactériens du rumen.....	50
<b>Tableau 22 :</b> pH finaux après fermentation des sources d'énergie en présence du nitrate de potassium .....	51
<b>Tableau 23 :</b> Caractéristiques cinétiques de l'effet du glutamate de sodium sur les différents groupes bactériens du rumen.....	52
<b>Tableau 24 :</b> pH finaux après fermentation des sources d'énergie en présence du glutamate de sodium.....	53
<b>Tableau 25 :</b> Caractéristiques cinétiques de l'effet de l'extrait de levure sur les différents groupes bactériens du rumen.....	55
<b>Tableau 26 :</b> pH finaux après fermentation des sources d'énergie en présence de l'extrait de levure.....	56

**Tableau 27 :** Caractéristiques cinétiques de l'effet des sources d'azote sur les bactéries cellulolytiques du rumen.....57

**Tableau 28 :** pH finaux après fermentation de la cellulose en présence de différentes sources d'azote.....58

**Tableau 29 :** Tableau récapitulatif des volumes de gaz produits par les différents groupes bactériens du rumen durant la fermentation des différentes sources d'énergie en présence des différentes sources d'azote.....58

**Tableau 30 :** Tableau récapitulatif des temps de latence mis par les différents groupes bactériens du rumen pour fermenter les différentes sources d'énergie en présence des différentes sources d'azote.....59

**Tableau 31 :** Tableau récapitulatif des pentes obtenues après fermentation des différentes sources d'énergie en présence des différentes sources d'azote par les groupes bactériens du rumen .....60

**Tableau 32 :** Tableau récapitulatif des pH finaux après fermentation les différentes sources d'énergie en présence des différentes sources d'azote par les groupes bactériens du rumen .....60

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Composition des aliments .....	12
<b>Figure 2</b> : Structure chimique de l'amidon .....	14
<b>Figure 3</b> : Mode d'action de $\alpha$ -amylase, de la $\beta$ -amylase et de la maltase.....	14
<b>Figure 4</b> : Arrangement spatial des polymères de la cellule végétale.....	15
<b>Figure 5</b> : Structure chimique de la cellulose.....	16
<b>Figure 6</b> : Mécanisme de dégradation de la cellulose par <i>Fibrobacter succinogenes</i> .....	17
<b>Figure 7</b> : Structure chimique de l'hémicellulose.....	18
<b>Figure 8</b> : Structure chimique de la pectine.....	19
<b>Figure 9</b> : Voies du métabolisme des glucides dans le rumen.....	20
<b>Figure 10</b> : Digestion des matières azotées chez les ruminants.....	23
<b>Figure 11</b> : Structure chimique du bicarbonate d'ammonium .....	24
<b>Figure 12</b> : Structure chimique de L-acide glutamique .....	25
<b>Figure 13</b> : Structure chimique du nitrate de potassium.....	25
<b>Figure 14</b> : Métabolisme d'utilisation et de dégradation du nitrate et du nitrite.....	27
<b>Figure 15</b> : Dégradation des protéines et leurs produits finaux dans le rumen .....	28
<b>Figure 16</b> : Appareil de mesure du potentiel d'oxydoréduction.....	30
<b>Figure 17</b> : Etapes de la réduction du milieu d'épuisement ou de fermentation.....	36

<b>Figure 18</b> : Appareil de mesure du gaz <i>in vitro</i> .....	39
<b>Figure 19</b> : Seringue de transfert de l'inoculum et des milieux d'incubation aux flacons d'incubation.....	39
<b>Figure 20</b> : Observation microscopique du liquide ruminal tel quel.....	42
<b>Figure 21</b> : Observation microscopique du liquide ruminal filtré .....	42
<b>Figure 22</b> : Courbes des phases d'épuisements des différents essais.....	43
<b>Figure 23</b> : Courbes de l'utilisation des sources d'azote comme source d'énergie.....	44
<b>Figure 24</b> : Effet du bicarbonate d'ammonium comme source d'azote sur les différents groupes bactériens du rumen.....	47
<b>Figure 25</b> : Effet du nitrate de potassium comme source d'azote sur les différents groupes bactériens du rumen.....	49
<b>Figure 26</b> : Effet du glutamate de sodium comme source d'azote sur les différents groupes bactériens du rumen.....	52
<b>Figure 27</b> : Effet de l'extrait de levure comme source d'azote sur les différents groupes bactériens du rumen.....	54
<b>Figure 28</b> : Effet des sources d'azote sur les bactéries cellulolytiques du rumen.....	56

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**AA** : Acide aminé

**AGV** : acide gras volatil

**ANP** : azote non protéique

**LRF** : liquide ruminal filtré

**LRTQ** : liquide ruminal tel quel

**MADR** : ministère de l'agriculture et du développement rural

**MF** : matière fraîche

**MM** : matière minérale

**MS** : matière sèche

**ppt** : partie par trillion

**rH** : potentiel d'oxydoréduction

# **Introduction**

## **Introduction**

En Algérie, le manque de ressources fourragères constitue un véritable obstacle dans l'alimentation animale. Ce qui se traduit par un déficit fourrager qui varie de 22 à plus de 50%, selon les années. Les statistiques du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR) montrent que la superficie cultivée en fourrage a nettement régressé elle est passée de plus de 0,5 million d'hectares en 1990, à moins de 300 000 hectares en 2003 (Djebbara, 2008).

A cette indisponibilité s'ajoute la mauvaise qualité du fourrage qui constitue une contrainte de taille pour l'élevage bovin qui ne représente que 6% de l'effectif global. L'élevage caprin représente 13 % et les ovins prédominent avec 80 %. La majeure partie du fourrage (70%) est composée par des espèces céréalières (orge, avoine), la luzerne et le sorgho n'occupent que très peu de surfaces (Senoussi, 2008).

La distribution des fourrages se fait selon la disponibilité au niveau de l'exploitation, mais pas selon les besoins des animaux, qui reçoivent des rations énergétiques notamment en hiver ou il y a un manque. Ces rations sont constituées de 65% de concentré qui coûte de plus en plus cher.

Il est nécessaire de chercher à combler le déficit, améliorer la qualité nutritionnelle et réduire les coûts, ceci par l'intégration des sous produits de l'industrie agro-alimentaire pour une meilleure production de produits, laitiers, viandes, qui représentent les sources de protéine animale.

Les protéines microbiennes sont issues des fermentations microbiennes des glucides, lipides, et matières azotées contenus dans l'alimentation (foins, grains, divers fourrages). En effet, les ruminants ne possèdent pas d'enzymes au niveau du rumen, mais ils obtiennent leur énergie, vitamines et protéines à partir de leur symbiose avec les micro-organismes (bactérie, champignon et protozoaire) qu'ils abritent.

La flore ruminale peut utiliser l'azote sous différentes formes : protéique, aminique et non protéique. Le fait le plus intéressant est qu'elle peut aussi utiliser des formes inorganiques de l'azote pour synthétiser des acides aminés et des protéines microbiennes.

Dans ce travail nous avons étudié l'effet des différentes sources d'azote organiques (extrait de levure, glutamate de sodium) et inorganiques (bicarbonate d'ammonium, nitrate de potassium) sur l'activité métabolique des principaux groupes bactériens du rumen de bovin à savoir les groupes cellulolytiques, amylolytiques, xylanolytiques, pectinolytiques et protéolytiques.

# **Chapitre 1**

## **Etude bibliographique**



## 1. Le milieu ruminal

Les ruminants (bovins, ovins et caprins) sont des polygastriques qui ont la particularité d'avoir un système digestif composé de trois pré-estomacs : rumen, réseau, feuillet suivis de la caillette qui est le véritable estomac (Cuvelier et *al.*, 2015). Cette configuration particulière permet au ruminant d'effectuer

- Une prédigestion microbienne dans le rumen, qui est le principal compartiment où, au moins 60 % des aliments sont digérés (Jouany, 1994). L'aliment va subir Un brassage via la motricité du rumen. Une fermentation microbienne, et un broyage poussé via la rumination.
- Une digestion enzymatique au niveau de la caillette, qui est le seul réservoir sécrétoire. Ce processus permettra une utilisation plus poussée des fibres présentes dans la ration que les monogastriques ne peuvent pas dégrader (Cuvelier et *al.*, 2015). L'environnement ruminal est déterminé par un ensemble de paramètres physico-chimiques dans les principaux sont le potentiel rédox, la température, le pH, la teneur en eau et la pression osmotique.

### 1.1. Le potentiel d'oxydo-réduction

Le rumen est un milieu anaérobie réducteur toujours négatif (-150 à -250 mV). Cette valeur augmente dans les heures suivant le repas (avec l'entrée d'oxygène pendant le repas et la rumination) et diminue ensuite. En conditions physiologiques, le potentiel d'oxydo-réduction est rapidement corrigé par une partie du microbiote ruminal aérobie facultatif qui utilise le peu d'oxygène disponible. La consommation du dioxygène est si rapide que sa pénétration dans la masse digestive ne dépasse pas 0.5 cm (Dusart, 2014).

### 1.2. Le pH

Le pH a un rôle déterminant dans la sélection des microorganismes et dans l'orientation des fermentations, il est généralement compris entre 5,5 et 7,3. Cette marge est cependant un peu large. Dans le rumen en fonctionnement il apparait des acides gras volatils (AGV), et il est normal que la réaction soit légèrement acide (par exemple de 6 à 6,8). Autour de ces valeurs le pH peut varier sans qu'il y ait parallèlement de troubles, mais cela n'est pas pour autant la normalité. Les causes de variation les plus fréquentes du pH sont les fluctuations alimentaires, le pH baisse dans la période postprandiale et s'élève pendant le jeûne.

Les paramètres qui influencent le pH sont, pour les acides : les AGV et l'acide lactique produits par les fermentations, et pour les bases : les bicarbonates et les phosphates de la salive ainsi que l'ammoniac venant de la protéolyse ou de l'uréolyse (Belbis, 2007).

### **1.3. La température**

Le rumen à une température constante de 39 à 40°C qui est correspond à environ 1°C au dessus de la température corporelle bovine. Elle peut atteindre les 41°C lorsque les fermentations sont très intenses mais aussi chuter de plusieurs degrés après l'ingestion de grandes quantités d'eau froide de 5 à 10 °C pour une à deux heures (Jarrige et *al.*, 1995).

### **1.4. La teneur en eau**

Elle est comprise entre 85 et 90 %, elle est apportée par les aliments, l'eau et la salive. (Belbis, 2007). Ceci se traduit par une matière sèche du contenu ruminal comprise entre 10 % et 15 %

### **1.5. La pression osmotique**

Elle est proche de celle du sang, et varie dans un grand intervalle de 200 à 400 mosm/l.

Dans le rumen règnent des conditions physico-chimiques très particulières. Qui permettent le développement d'un microbiote anaérobie très actif, dont les principaux constituants sont les bactéries et les protozoaires (Jarrige et *al.*, 1995).

## **2. La flore ruminale**

La micro-population du rumen se caractérise par son extrême diversité car l'on y trouve un important nombre de bactéries, de protozoaires, de champignons et de bactériophages (Briki et Debab, 2009).

L'action des micro-organismes a une importance toute particulière puisqu'ils sont les premiers à dégrader les aliments dans le rumen, précédant ainsi l'action des enzymes digestives de l'hôte. La micro-population ruminale dégrade 60 à 90 % des aliments digestibles au niveau de l'intestin et de la caillette et assure notamment la transformation des polysaccharides pariétaux des végétaux en composés assimilables par l'animal. Le rumen d'un adulte contient environ  $10^6$  protozoaires et  $10^{12}$  cellules bactériennes par millilitre, ce qui correspond à environ 50% de la biomasse microbienne.

La colonisation du tractus digestif des ruminants par les bactéries est rapide. Dès le premier jour de la naissance de l'animal, les premières bactéries s'installent *Escherichia coli*, *Streptococcus sp.* ...etc. Alors que les bactéries cellulolytiques apparaissent au 4<sup>ème</sup> jour chez 75 % des jeunes ruminants (Fonty et al., 1987).

### **2.1. Les bactéries**

La population bactérienne ruminale présente des activités enzymatiques variées. Elle est composée essentiellement des bactéries anaérobies strictes non sporulées mais il existe également des anaérobies facultatives qui représentent  $10^7$ - $10^8$  cellules bactériennes/ml du jus ruminal. La taille des bactéries du rumen est généralement comprise entre 0,5 et 10  $\mu$ m. La majorité sont des Gram négatif. Elles sont classées selon leur répartition dans le rumen et selon le substrat qu'elles dégradent (Briki et Debab, 2009).

#### **2.1.1. La classification des bactéries selon leur répartition dans le rumen**

##### **➤ Les bactéries libres**

Les bactéries libres dans le jus de rumen sont entourées par une structure fibreuse, polyholiosidique (glycocalyx) (Cheng et al., 1977). Ce glycocalyx pourrait avoir un rôle protecteur contre les bactériophages ou d'autres agents antibactériens.

Lorsque l'on considère la cellule bactérienne avec son glycocalyx, on peut distinguer plusieurs centaines de types morphologiques différents dans le rumen (Ogimoto and Imai, 1981).

##### **➤ Les bactéries attachées aux particules alimentaires**

Ces bactéries jouent un rôle très important dans la dégradation des fibres végétales puisque 75% de la population bactérienne est attachée aux fibres alimentaires grâce au glycocalyx (Cheng et Costerton, 1980).

L'adhésion de la bactérie aux parois cellulaires semble être la première étape du processus de dégradation. Les principales espèces bactériennes s'attachant de la sorte sont les bactéries cellulolytiques telles que *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* (Chesson and Forsberg, 1988).

### ➤ Les bactéries adhérentes à la paroi du rumen

Ces bactéries sont fixées sur l'épithélium stratifié par l'intermédiaire d'un glycocalyx polyholosidique qui présente les caractéristiques d'un polymère anionique (Mead and Jones, 1981). Ce sont essentiellement des diplocoques, des coques et des bacilles Gram positif et anaérobies facultatifs caractérisés par leur forte activité protéolytique et uréolytique (Dehority, 2001). Ces bactéries jouent un rôle très important dans l'hydrolyse de l'urée qui diffuse à travers la paroi du rumen (Cheng et Costerton, 1980), La dégradation des cellules épithéliales (Dinsdale et al., 1980) et l'élimination de l'oxygène qui diffuse à travers la paroi du rumen depuis la voie sanguine (Faye et al., 1980).

### ➤ Les bactéries adhérentes aux protozoaires

Ces bactéries représentent environ 1 à 10 % de la flore totale du rumen. Elles sont principalement constituées de *Streptococcus bovis*, *Ruminococcus albus* (Beauchemin .2003) et des bactéries méthanogènes *Methanotherix thermophila* (Krumholz et al. 1983).

## 2.1.2. La classification des bactéries selon le substrat qu'elles dégradent

### ➤ Les bactéries cellulolytiques

La plupart de ces bactéries sont des Gram positif. Elles forment une communauté majeure ( $10^9$  cellule/ml) caractérisée par son aptitude spécifique à hydrolyser la cellulose purifiée et la cellulose des fourrages.

Les bactéries cellulolytiques apparaissent dans le rumen trois à quatre jours après la naissance de l'animal, alors que cet organe n'est pas encore fonctionnel. Leur implantation n'est donc pas conditionnée par la consommation d'aliments solides (Stewart et Bryant, 1988).

Les bactéries cellulolytiques sont classées selon la forme et la présence ou l'absence de spores en trois groupes (Tableau 1).

- **Les coques :** elles occupent une grande partie de la communauté bactérienne dans le liquide ruminal. On trouve principalement *Ruminococcus albus*, et *Ruminococcus flavefaciens* ce sont des Grams positif qui sont capables de fermenter la cellulose et le xylose (Forsberg et al., 1997).

- **Les bacilles sporulés :** ce sont des bactéries Gram positif comme *Clostridium lockheadii* et *longisporum sp.*
- **Les bacilles non sporulés :** ce sont des Gram négatif tel que *Fibrobacter succinogenes* ou positif tel que *Eubacterium cellulosolvens*.

**Tableau 1:** Caractéristiques des principales espèces cellulolytiques du rumen

<b>Espèces</b>	<b>Gram</b>	<b>Forme</b>	<b>Les produits de fermentation</b>
<i>Prevotella succinogenes</i>	-	Bacille	Succinate, acétate, formiate
<i>Ruminococcus flavifaciens</i>	+	Cocci	Acétate, lactate, formiate, éthanol
<i>Ruminococcus albus</i>	+	Cocci	Acétate, lactate, formiate, éthanol
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	-	Bacille incurvé	Acétate, lactate, formiate, succinate, butyrate
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	-	Bacille	Acétate, formiate, succinate
<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	+	Bacille irrégulières	Acétate, lactate, formiate, succinate, butyrate, propionate
<i>Clostridium lockheadii</i>	+	Bacille (spore)	Acétate, formiate, buturate, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>

### ➤ Les bactéries hémicellulolytiques

La fonction hémicellulolytique est plus largement distribuée dans la flore bactérienne que la fonction cellulolytique (Dehority, 1991). L'hémicellulose est dégradée par toutes les bactéries cellulolytiques. On distingue trois catégories de bactéries hémicellulolytiques.

- **Les espèces qui possèdent une activité dépolymérase et une activité glycosidasique.**

Celles-ci sont capables d'hydrolyser la chaîne principale de l'hémicellulose et de couper les chaînes latérales tout en utilisant les oligosaccharides et les oses libérés (Tiret, 2001). Parmi ces espèces on trouve *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Prevotella ruminicola*, *Ruminococcus albus*, *Eubacterium xylanophilus* (Krause et al., 2003).

- **Les espèces qui possèdent différentes activités glycosidasiques :**

Ce sont des bactéries qui peuvent utiliser les produits d'hydrolyse mais qui sont dépourvues d'activité dépolymérase comme *Megasphaera elsdenii*, *Ruminobacter*

*amylophilus*, *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas ruminatum* (Stewart and Bryant, 1988).

➤ **Les bactéries pectinolytiques**

Certaines souches de bactéries cellulolytiques (tableau 2) sont également pectinolytiques comme *Prevotella succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens* et *Lachnospira multiparus* (Stewart an Bryant, 1988).

Les enzymes pectinolytiques sont divisés en 2 principaux groupes : les pectines estérases qui catalysent la dégradation du méthanol et les enzymes de dépolymérisation qui sont soit des hydrolases, soit des lyases (Cheng *et al.*, 1976).

**Tableau 2:** Caractéristiques des principales espèces pectinolytiques du rumen

<b>Espèces</b>	<b>Gram</b>	<b>Forme</b>	<b>Les produits de fermentation</b>
<i>Prevotella ruminicola</i>	-	Bacille	Acétate, formiate, succinate
<i>Lachnospira multiparus</i>	+	Bacille incurvé	Acétate, formiate, lactate, éthanol
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	-	Bacille incurvé ou hélicoïdal	Acétate, formiate, lactate, succinate
<i>Treponema bryantii</i>	-	Bacille hélicoïdal	Acétate, formiate, succinate
<i>Streptococcus bovis</i>	+	Cocci sphériques ou ovoïdes	Acétate, formiate, lactate

➤ **Les bactéries amylolytiques**

Elles sont très tolérantes à l'acidité du milieu (tableau 3). *Prevotella amylophilus*, *Succinimonas amyloptica*, et *Streptococcus bovis* (Gram+) sont les bactéries dominantes dans la dégradation de l'amidon (Euzéby, 2006)

**Tableau 3 :** Caractéristiques des principales espèces amylolytiques du rumen

<b>Espèces</b>	<b>Gram</b>	<b>Forme</b>	<b>Le produit de fermentation</b>
<i>Prevotella amylophilus</i>	–	Bacille	Acétate, succinate, propionate
<i>Succinimonas amylolytica</i>	–	Bacille court droit	Acétate, succinate, propionate
<i>Succinivibrio dextrinosolvans</i>	–	Bacille incurvé ou hélicoïdal	Acétate, succinate, formiate lactate
<i>Selenomonas ruminantium</i>	–	Bacille incurvé en forme de croissant	Acétate, succinate, propionate, lactate
<i>Veillonella alcalescens</i>	–	Cocci	Acétate, succinate, propionate

➤ **Les bactéries protéolytiques**

Ces bactéries n'utilisent pas les protéines comme principale source d'énergie, ou même, dans certains cas, comme source principale d'azote. Environ 30 à 50 % des espèces bactériennes du rumen présentent une activité protéolytique associée aux cellules mais cette fonction n'est pas dominante (Bourghoud, 1984). *Butyrivibrio fibrisolvans* (Tableau 1) et *Prevotella ruminicola* (Tableau 2) sont les espèces les plus actives selon Wallace et Cotta (1988).

➤ **Les bactéries fermentant les sucres simples**

Toutes les bactéries qui fermentent les carbohydrates complexes peuvent fermenter quelques sucres simples. Les plus représentatives sont *Eubacterium ruminantium* et *Fusobacterium necrophorum* qui fermentent la xylose, le glucose, le fructose, le galactose et le saccharose.

Quelques bactéries cellulolytiques, telles que *Ruminococcus flavefaciens*, ne peuvent pas hydrolyser le glucose mais peuvent hydrolyser le cellobiose (un disaccharide formé de deux glucose lié en  $\beta$  (1-4) des. Il existe aussi des espèces qui sont encore plus spécialisées comme *Anaerovibrio lipolytica* qui n'hydrolyse que les lipides et ne fermente que le glycérol et le fructose (Stewart and Bryant, 1988).

Les lactobacilles, telles que *Lactobacillus vitulinus* et *L. ruminis* (Tableau 4) ont été identifiées comme étant les fermenteurs des sucres dans le rumen (Goad et al., 1998).

**Tableau 04 :** Caractéristiques des principales bactéries fermentant les sucres simples du rumen

<b>Espèces</b>	<b>Gram</b>	<b>Forme</b>	<b>Les produits de fermentation</b>
<i>Treponema bryantii</i>	–	Bacille hélicoïdale	Acétate, succinate, formiate
<i>Lactobacillus vitulinus</i>	+	Bacille long régulier ou coccobacille	D-lactate, acétate
<i>Lactobacillus ruminis</i>	+	Bacille long régulier ou coccobacille	D-lactate, acétate

➤ **Les bactéries lipolytiques**

Ce sont des bactéries très spécialisées. Elles hydrolysent les lipides alimentaires et produisent du glycérol qui est rapidement fermenté en AGV et en acides gras libres. *Anaerovibrio lipolytica* qui est l'espèce la plus importante, n'hydrolyse que les lipides et ne fermente que le glycérol (Tableau 05). C'est la bactérie la mieux connue pour son activité lipolytique (Thivend et al., 1985).

**Tableau 05 :** Caractéristiques des principales bactéries lipolytiques

<b>Espèces</b>	<b>gram</b>	<b>Forme</b>	<b>Les produits de fermentation</b>
<i>Anaerovibrio lipolytica</i>	–	Bacille incurvé ou spiralé	Acétate, propionate
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	–	Bacille	Formaite, acétate, succinate
<i>Treponema bryantii</i>	–	Bacille hélicoïdal	Formaite, acétate, succinate
<i>Ruminococcus albus</i>	+	Cocci	Acétate, éthanol, (formiate lactate)

➤ **Les bactéries méthanogènes (archaeobacteriaceae)**

Les méthanogènes sont des membres du domaine de archaea. Il s'agit des bactéries anaérobies strictes, représentant environ 4% des micro-organismes des ruminants (Yanagita et al., 2000). Elles peuvent être aisément distinguées des autres organismes car



elles produisent toutes du méthane comme principale produit de fermentation (tableau 6). Pour les méthanogène en citer *Methanobacterium formicum*, *Methanobrevibacter ruminantium*.

Elles sont difficiles à isoler en culture pure. Ces bactéries nécessitent un potentiel d'oxydoréduction de l'ordre de -350 mV et sont très sensibles à l'oxygène. Parmi ces espèces *Methanobacterium ruminantium* est la principale bactérie qui produit le méthane à partir du formiate et d'hydrogène. *Methanobactrium sohnigii* et *Methanobacterium formicum* utilisent l'acétate, le propionate et le butyrate comme substrat (Tiret, 2001. Euzéby. 2006).

**Tableau 06 : Caractéristiques des principales bactéries méthanogènes**

<b>Espèces</b>	<b>Gram</b>	<b>Forme</b>	<b>Produits de fermentation (à partir de H<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub> ou du formiate)</b>
<i>Methanobacterium formicum</i>	+	Bacille long (filament)	CH <sub>4</sub>
<i>Methanobacterium ruminantium</i>	+	Bacille ovale, coccoïde, court	CH <sub>4</sub>
<i>Methanomicrobium mobile</i>	-	Bacille court incurver	CH <sub>4</sub>
<i>Methanosarcina barkerii</i>		Cellules sphériques irrégulières	CH <sub>4</sub>

➤ **Les bactéries uréolytiques**

Ces bactéries productrices d'ammoniaque par l'hydrolyse de l'urée. Elles jouent un rôle important dans le métabolisme de l'azote (Tiret, 2001) et représentent 5 % des bactéries isolées du rumen.

Les principales espèces de cette flore sont *Succinivibrio dextrinosolvens* (Tableau 03), *Prevotella ruminicola* (Tableau 02) et *Ruminococcus bromii*.

### 2.2. Les archaeobactéries

Les archaea dans le rumen sont des microorganismes méthanogènes, ils représentent environ 4% du microbiote ruminal et peuvent être distingués des autres microorganismes par la production de méthane (CH<sub>4</sub>) comme principal produit de fermentation (Khenaka, 2011).

### 2.3. Les champignons

Les champignons du rumen sont des eucaryotes anaérobies stricts (Tiret, 2001). Ils participent à la fermentation de la cellulose en acides gras volatils (AGV) et jouent également un rôle dans la dégradation des autres composés pariétaux végétaux comme les hémicelluloses et les pectines.

### 2.4. Les protozoaires

Par rapport aux bactéries, les protozoaires sont 10<sup>4</sup> fois moins nombreux et 20 à 100 fois plus grands en taille. Les plus importants en nombres sont les ciliés. On distingue deux groupes : Les holotriches et les entodiniomorphes.

Les entodiniomorphes sont capables d'ingérer les particules solides de petites tailles (les grains l'amidon, les chloroplastes, les fibres cellulosiques) et continuellement les bactéries.

Les protozoaires sont en concurrence avec les bactéries car ils participent spécifiquement au métabolisme des glucides. Ils s'attaquent ainsi à tous les constituants des parois des cellules végétales (Jouany, 2000).

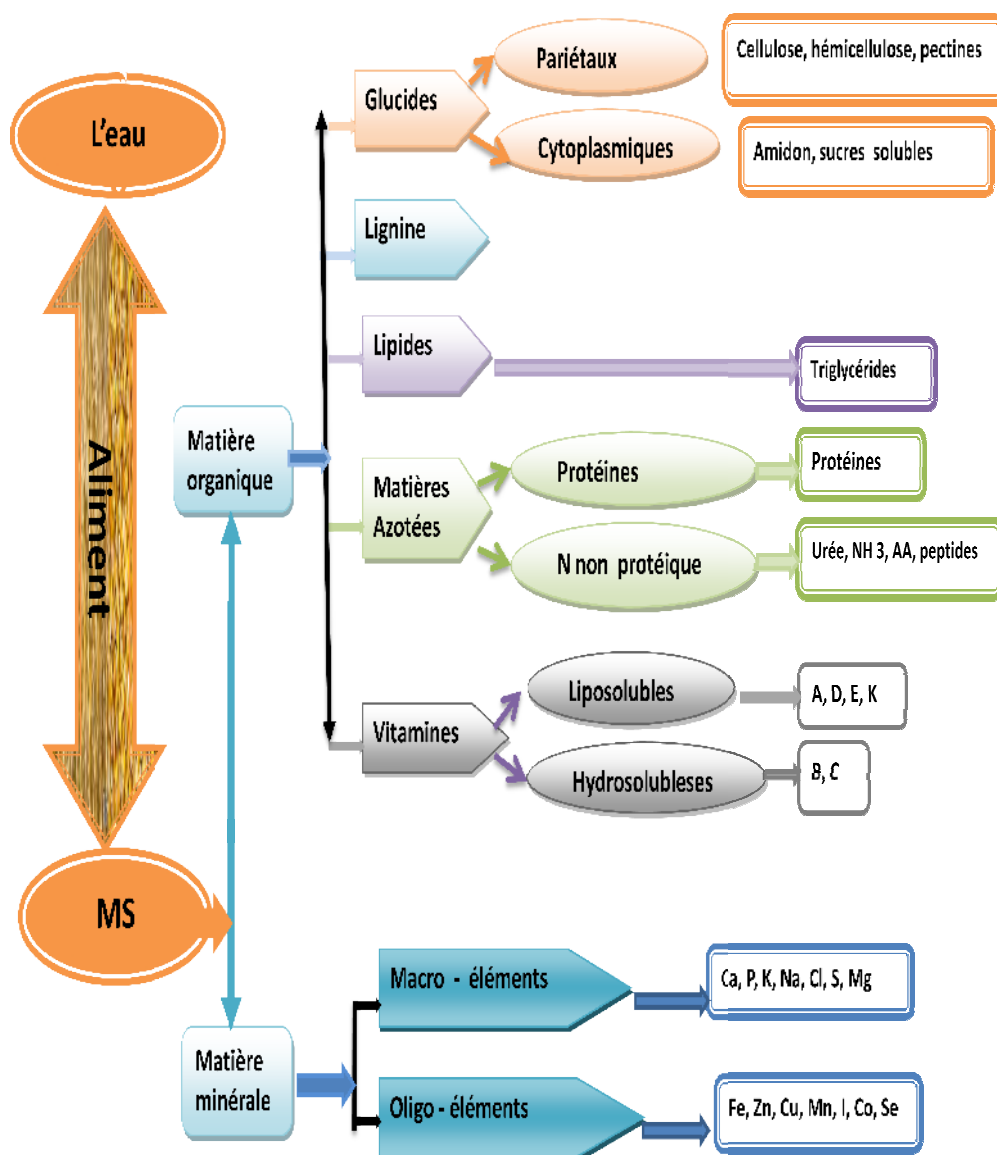
### 2.5. Les virus

Cent-vingt cinq types morphologiques de bactériophages ont été observés dans le rumen. Leur rôle parmi la population microbienne n'est pas bien connu, bien qu'ils lysent *Streptococcus bovis* et *Bifidobacterium thermophilus* in vitro (Briki et Debab 2009).

Le rumen est donc un fermenteur présentant des conditions physico-chimiques particulières qui permettent la multiplication d'un microbiote anaérobie. Il permet ainsi aux ruminants de tirer partie des fibres végétale (Dusart, 2014). Nous allons maintenant nous intéresser au processus de dégradation des principaux aliments (glucides, lipides, protéines).

### 3. Le métabolisme ruminal

Les aliments distribués aux bovins sont composés d'eau et de divers nutriments : glucides, lipides, matières azotées, vitamines et minéraux ainsi que des substances totalement dépourvues de valeur nutritive telles que la lignine (figure1).



**Figure 1** : Composition des aliments (Cuvelier, 2015).

La dégradation ruminale nécessite la colonisation du bol alimentaire par les microorganismes libres dans le rumen. La phase d'adhésion initiale débute 10 minutes après l'arrivée du substrat dans le rumen (Koike *et al.*, 2003). Il s'en suit une augmentation du nombre de bactéries attachées ainsi que la prolifération des bactéries ramenées par l'aliment.

L'adhésion des microorganismes est sous l'influence de plusieurs facteurs liés aux bactéries (âge, état de leur enveloppe, phénomène de compétition), à l'environnement ruminal (température, pH, taux d'oxygène) et au substrat (surface, teneur en parois végétales, taux d'hydratation, charge ionique) (Boye, 2014).

Certains protozoaires font de même. Cependant, en général ils ingèrent des petites particules alimentaires en suspension. Les champignons utilisent leurs rhizoïdes pour pénétrer en profondeur les fragments végétaux, ils colonisent préférentiellement les tissus lignifiés (Dusart, 2014).

### **3.1. Le métabolisme énergétique**

On distingue deux types de glucides selon leur localisation au sein des tissus végétaux

#### **3.1.1 Les glucides cytoplasmiques**

Les glucides cytoplasmiques comprennent les sucres solubles (fructose, saccharose) et les polysides de réserve (tel que l'amidon).

L'amidon est la principale réserve de glucide dans les végétaux. Il est stocké dans des organes tels que les grains, les tubercules caulinaires et les racines. (figure 3) L'amidon est un polyholoside constitué de fractions variables d'amylose (polymère de glucose entre 500 et 20 000 molécules liées par des liaisons  $\alpha$  (1-4)) et d'amylopectine (polymère de glucose formé par des liaisons  $\alpha$  (1-4) et  $\alpha$  (1-6), une structure proche de celle du glycogène)

Les amidons rapides sont partiellement dégradés dans le rumen par les amylases salivaires et bactériennes (Jouany *et al.*, 1995). Les amidons lents sont dégradés au niveau de l'intestin (Rey, 2012).

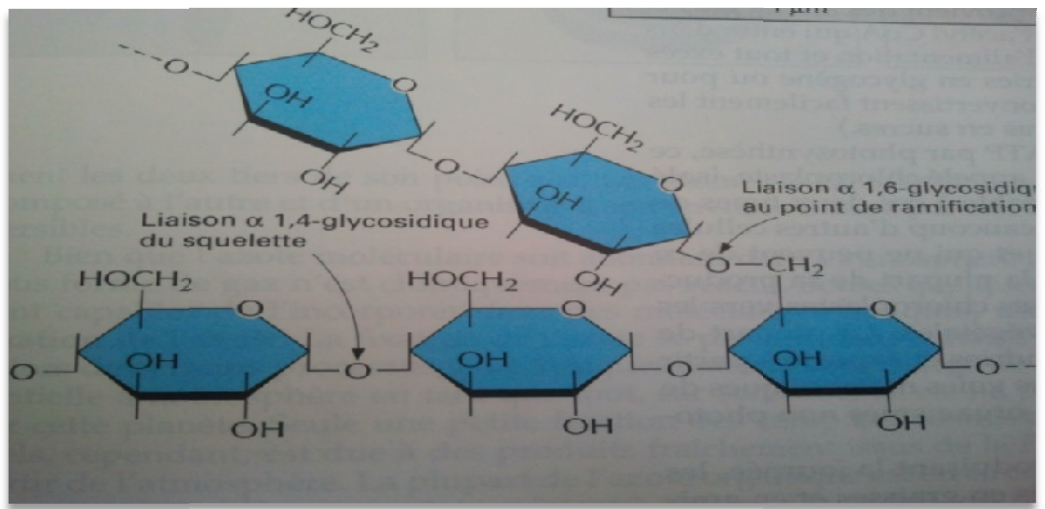


Figure 2 : Structure chimique de l'amidon (Alberts *et al.*, 1988).

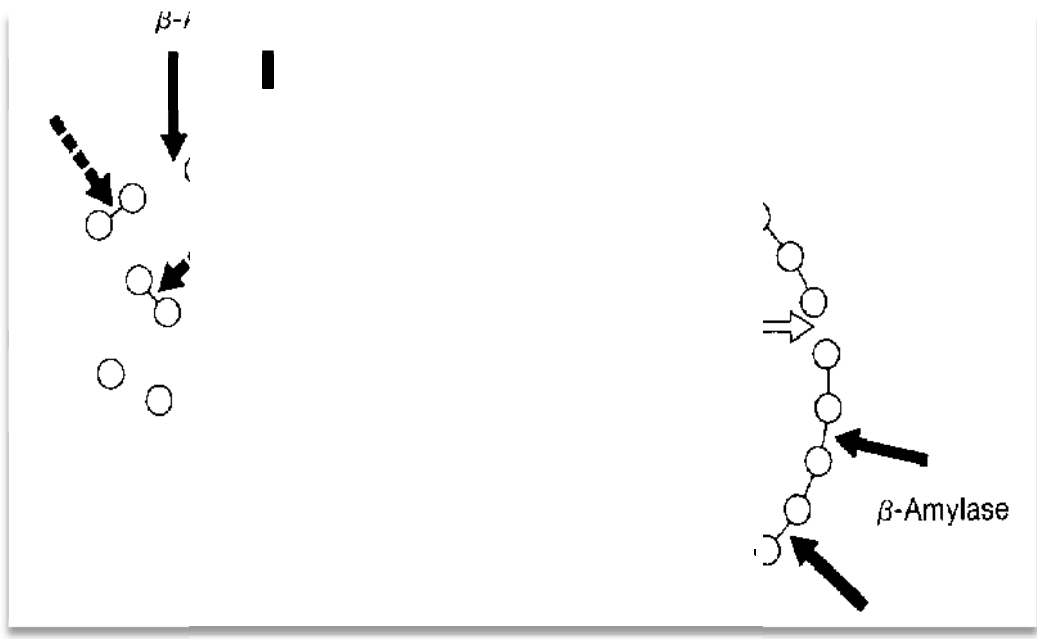
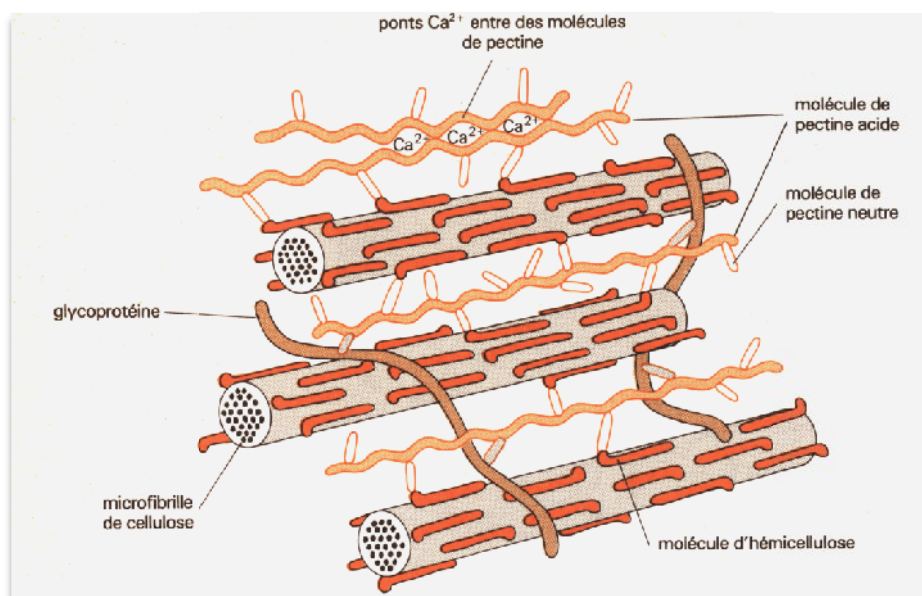


Figure 3: Mode d'action de l' $\alpha$ -amylase, de la  $\beta$ -amylase et de la maltase sur une chaîne d'amidon (Alberts *et al.*, 1988).

### 3.1.2 Les glucides pariétaux

La paroi pectocellulosique est un élément de structure cellulaire qui protège chaque cellule végétale. La Figure 4 montre comment les deux constituants essentiels de la paroi primaire c'est à dire les fibres et la matrice Sont liées. Les molécules d'hémicellulose (xyloglucannes) sont liées par des liaisons hydrogène à la surface des microfibrilles de cellulose.

Certaines de ces molécules d'hémicellulose sont liées à leur tour à des molécules de pectine acide (des rhamnogalacturonanes) par de courtes molécules de pectine neutre (des arabinogalactanes). Les glycoprotéines de la paroi sont attachées aux molécules de pectine (Alberts *et al.*, 2012).



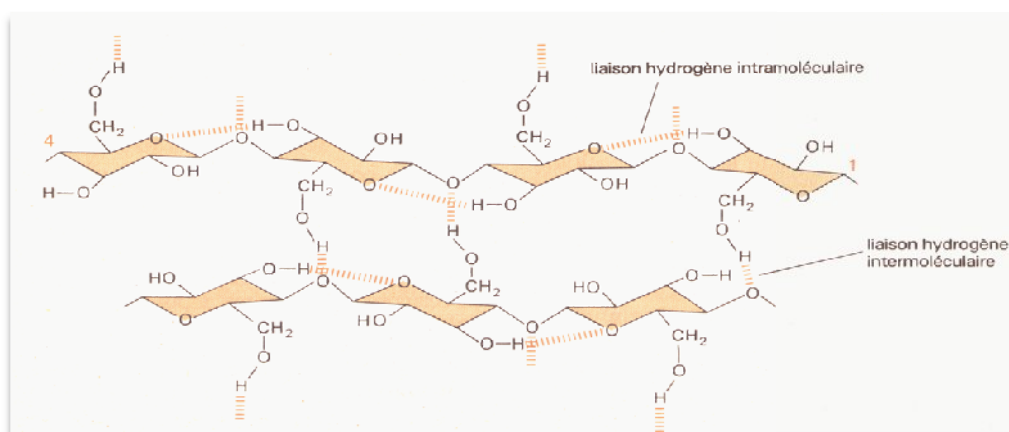
**Figure 4 :** Arrangement spatial des polymères de la cellule végétale (Alberts *et al.*, 1988).

#### ➤ La cellulose

Un constituant principal de la paroi végétale, il s'agit d'un polymère de glucose avec des liaisons  $\beta$  (1-4). Les différentes chaînes linéaires de cellulose sont associées entre elles par des liaisons hydrogènes formant des microfibrilles (figure 6) de cellulose très résistantes à la dégradation (Jarrige *et al.*, 1995). Sa structure cristalline et insoluble limite l'accessibilité aux enzymes qui doivent se fixer au préalable sur les microfibrilles.

Les enzymes responsables de l'hydrolyse de la cellulose sont des cellulases c'est un phénomène pluri-enzymatique coordonné (figure 5 et 6).

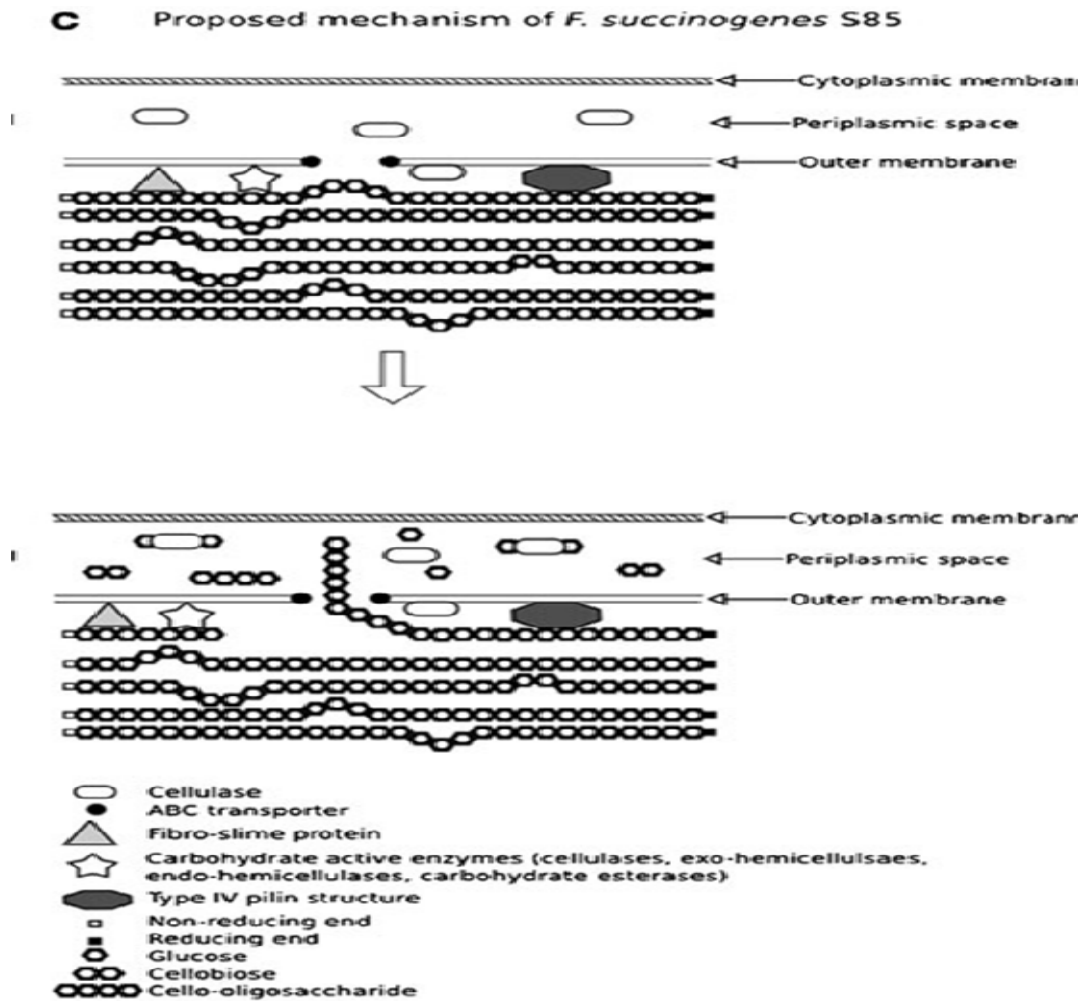
- Les endoglucanases : attaquent les liaisons osidiques situées à l'intérieur des chaînes.
- Les exoglucanase : ne peuvent se fixer qu'à l'extrémité C4 de chaque chaîne. Elles rompent les liaisons osidiques en produisant des motifs cellulobioses successifs.
- Les  $\beta$ -glucosidases : catalysent l'hydrolyse des liaisons osidique du cellulobiose produisant des  $\beta$ -glucose (Reis *et al.*, 2006).



**Figure 5 :** Structure chimique de la cellulose (Alberts *et al.*, 1988).

### • Mécanisme de la dégradation de la cellulose

Le mécanisme de dégradation de la cellulose (Figure 6) par la bactérie ruminale *F. succinogenes* se base sur l'attachement de la bactérie au substrat, ce qui se fait par les protéines et des structures piline de type IV attachées à la membrane extérieure de la cellule bactérienne. Les fibres de cellulose sont coupées par des enzymes carbohydate-actives en chaînes individuelles. Les fragments de cellulose sont transportés à travers la membrane externe par l'intermédiaire d'un système de transport ABC. Les données actuelles suggèrent que la dégradation des chaînes de la cellulose se produit dans l'espace périplasmique (Emmer *et al.*, 2012).



**Figure 6 :** Mécanisme de dégradation de la cellulose par *Fibrobacter succinogenes* (Emmer et al., 2012).

### ➤ L'hémicellulose

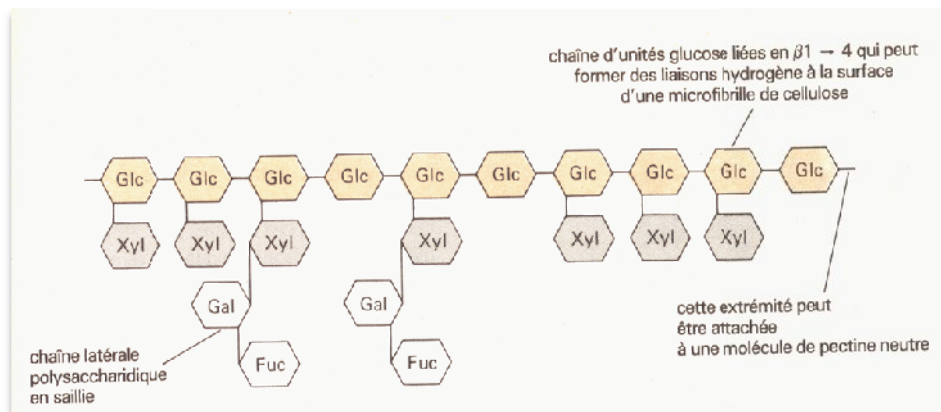
L'hémicellulose liées Systématiquement avec la cellulose et enchevêtrées pour constituer la base de paroi végétale ; les hémicelluloses sont moins résistantes à l'hydrolyse que les celluloses et ont une composition beaucoup plus variée (Dusart, 2014). Leur hydrolyse peut libérer (figure7).

- 3 hexoses : D-glucose, D-galactose, D-mannose
- 2 pentoses : D-xylose, L-arabinose
- L'acide uronique : acide-glucuronique.



Les hémicelluloses se différencient de la cellulose par la présence simultanée de liaisons  $\beta$  (1-4),  $\beta$  (1-3) et  $\alpha$  (1-6) (Dusart, 2014).

Les enzymes responsables de l'hydrolyse de l'hémicellulose sont des endoxylanases, exoxylanases et  $\beta$ -xylosidases (Forano *et al.*, 1996). Les xylanases sont retrouvées chez un grand nombre d'espèces bactériennes, les champignons et les protozoaires sécrètent également des hémicellulases et des cellulases (Dusart, 2014).



**Figure 7 :** Structure chimique de l'hémicellulose (Alberts *et al.*, 1988).

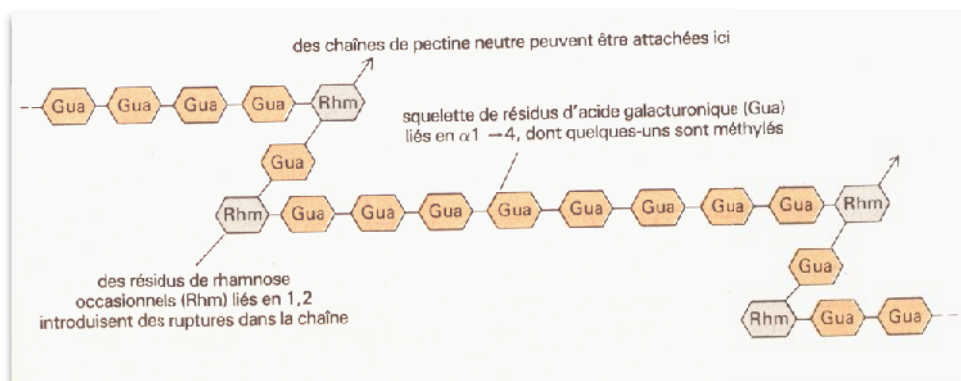
### ➤ La lignine

La lignine est un polymère aromatique complexe. Elle contribue à la rigidité des parois cellulaires, et ainsi au port érigé des végétaux supérieurs terrestres. La teneur en lignine est un facteur limitant de la dégradation des parois végétales car celle-ci n'est plus digestible. Sa teneur augmente avec l'âge de la plante et son développement. L'ensemble cellulose-hémicellulose-lignine constitue les fibres dites insolubles (Jarrige *et al.*, 1995).

### ➤ La pectine

Ce sont des polymères d'acides uroniques et d'oses, principalement d'acide  $\alpha$  galacturonique et de rhamnose liés par des liaisons  $\alpha$  (1-4) (figure 8). Leur hydrolyse par les microorganismes du rumen est donc rapide (Grenet *et al.*, 1991).

Les pectines sont hydrolysées par des enzymes extracellulaires. Ils ont été identifiés chez les bactéries (qui génèrent des dépolymérase), chez les protozoaires mais pas chez les champignons (Dusart, 2014).



**Figure 8 :** Structure chimique de la pectine (Alberts *et al.*, 1988)

### 3.1.3. Le mécanisme général de dégradation des polymères

La dégradation ruminale commence par l'hydrolyse des polymères glucidiques en oses à 5 ou 6 atomes de carbone grâce aux enzymes synthétisées par les bactéries du rumen (Boye, 2014).

Ces microorganismes vont ensuite fermenter ces produits par les voies de la glycolyse (transformation du glucose en pyruvate et en ATP) et les voies des pentoses phosphates (transformation des xylozes phosphates en pyruvate).

Selon le type de régime alimentaire, le pyruvate est catabolisé en AGV, en acide lactique et en gaz (dioxyde de carbone dihydrogène et méthane) par les voies acétate, butyrate et/ou propionate (Rey, 2012).

Les principaux AGV sont l'acide acétique (C2) l'acide propionique (C3) acide butyrique (C4). Ils permettent de synthétiser d'ATP nécessaire pour l'entretien, la croissance de l'hôte. (Boye, 2014). Ils répondent à environ 70% des besoins en énergie des ruminants (Bergman, 1990) et sont absorbés pour la plupart au niveau de la paroi ruminale.

Les proportions d'AGV dépendent de la nature de la ration (Figure 9). Une augmentation des teneurs en fibres provoque une augmentation des C2 ruminants car les

bactéries fibrolytiques utilisent plutôt la voie du C2. Une forte teneur en amidon (forte proportion de céréales dans la ration) va favoriser la production, de C3, au détriment de celle du C2. La présence des sucres solubles contenus dans des aliments tels que les betteraves, va augmenter la proportion de C4 (Grenet *et al.*, 1991).

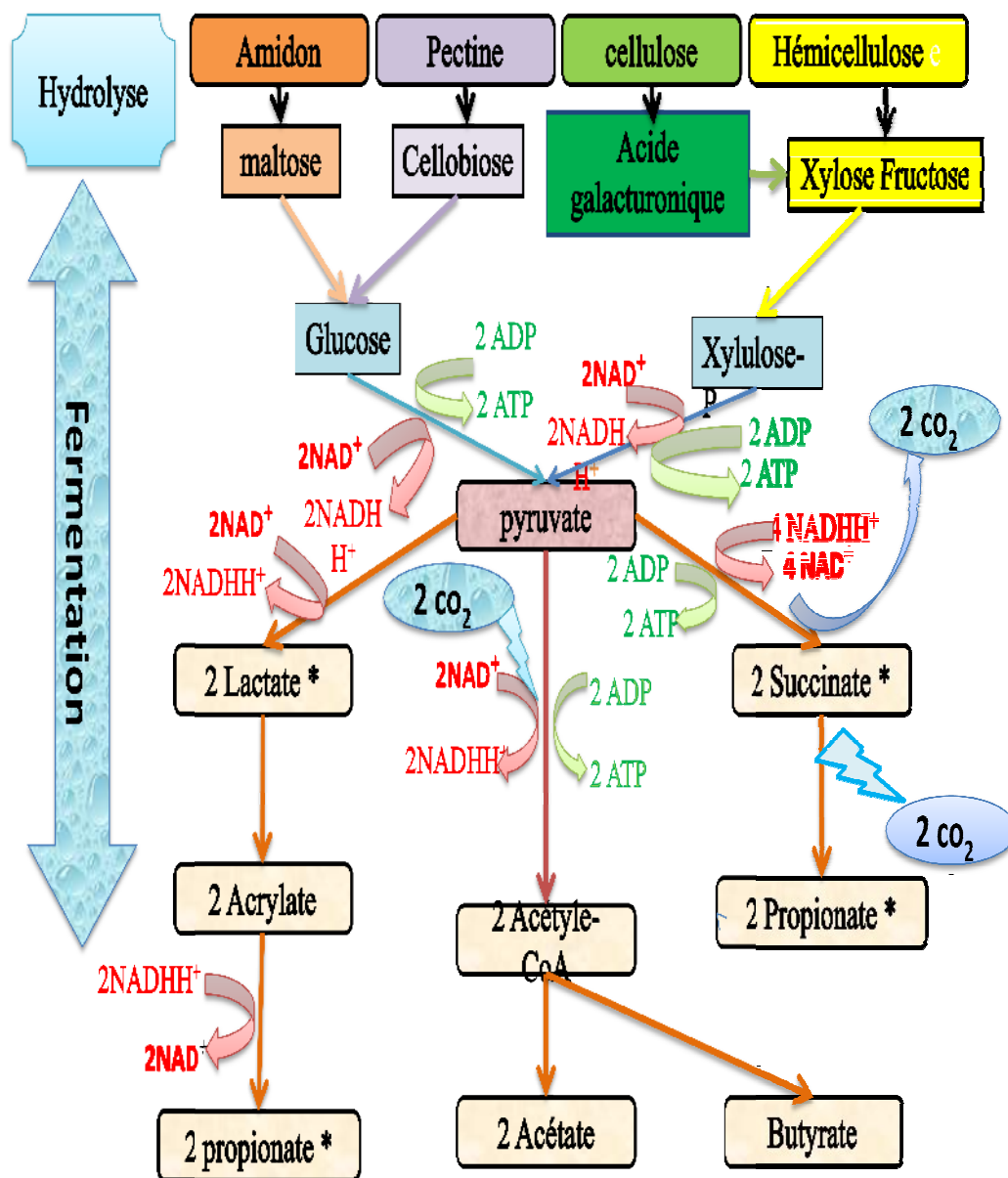


Figure 9 : Voies du métabolisme des glucides dans le rumen (Popova, 2011).

### 3.2. Le métabolisme azoté

Les matières azotées alimentaires peuvent être séparées en deux catégories :

- Les protéines qui peuvent être solubles ou non.
- L'azote non protéique (ANP).

L'ANP regroupe des amides et des acides aminés libres (50% environ), ainsi que des bases azotées, des amines,  $\text{NH}_3$ , de l'urée et des nitrites (Dusart, 2014). Les protéines ingérées par l'animal sont dégradées par le microbiote ruminal, particulièrement par les bactéries et les protozoaires. Les bactéries ruminales ont une forte activité protéolytique par rapport aux protozoaires car cette activité est présente au niveau de leur paroi cellulaire à l'inverse des protozoaires dont l'activité est intracellulaire (Rey, 2012). Les champignons anaérobies interviennent dans une moindre mesure (Dusart, 2014).

La première étape du métabolisme azote résulte de l'activité des protéases bactériennes, celles-ci étant localisées sur la face externe des membranes bactériennes (figure 10) l'attachement précède la protéolyse (Jouany, 1995).

Les enzymes bactériens (protéase, peptidase) agissent directement sur les protéines solubles pour produire des peptides et des acides aminés, alors que les protozoaires ingèrent les protéines insolubles et les bactéries elles mêmes (Boye, 2014).

Ces acides aminés présents dans le rumen sont désaminés majoritairement par les protozoaires pour former l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) et des squelettes carbonés dont des AGV (Rey, 2012), alors que l'ANP est directement transformé en  $\text{NH}_3$ .

Les acides nucléiques représentent 5 à 10% de l'azote présent dans la ration des ruminants, ils sont rapidement dégradés et peuvent être utilisés par les microorganismes comme source d'énergie et d'azote (Dusart, 2014).

L'activité uréolytique de certaines bactéries participe aussi à la production d'ammoniac à partir d'urée alimentaire ou endogène (Rey, 2012).

La deuxième étape est une synthèse protéique des microorganismes, elle dépend de leur densité, de leur taux de croissance et du rendement avec lequel ils utilisent les substrats et l'énergie dont ils disposent (Boye, 2014).

Seule une petite partie des acides aminés est directement incorporée dans les protéines microbiennes, alors que la majorité est synthétisée à partir du  $\text{NH}_3$ . Il peut y avoir un délai

de 8 à 9 heures entre la dégradation d'une protéine et la synthèse microbienne qui s'en suit. Ces protéines microbiennes couvrent entre 60 à 70% de l'apport protéique des ruminants (Demeyer and Fievez, 2000).

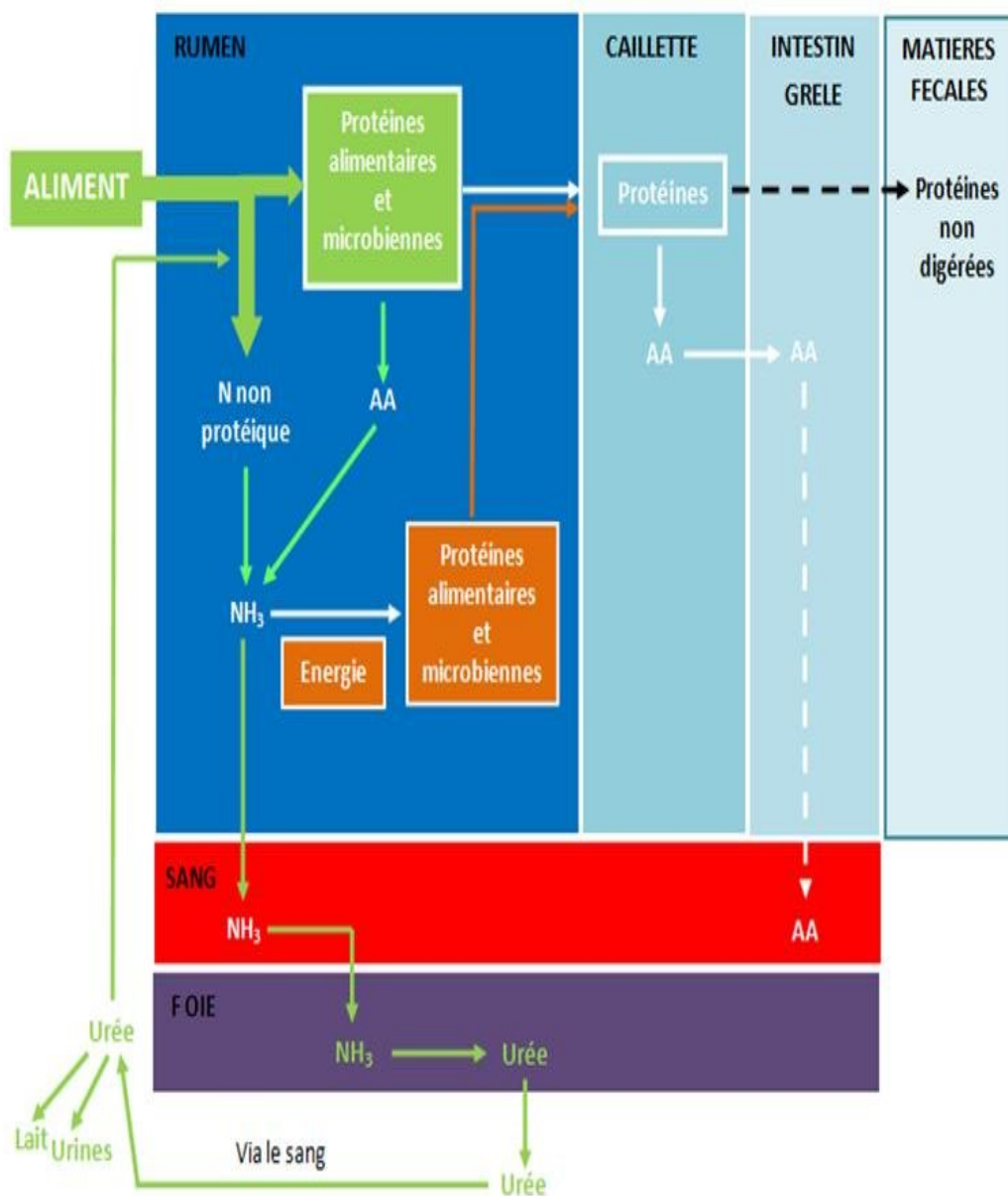
Le devenir de ces protéines microbiennes :

- Une partie de la population et leurs protéines sont dégradée dans le rumen.
- Une partie reste libre dans le liquide ruminal
- Une dernière partie est accrochée aux particules alimentaires.

Une portion des bactéries libre et fixée aux particules quittes le rumen et passe dans la caillette où elles subissent une digestion enzymatique. (Cuvelier et *al.*, 2015) .

Quand la production de  $\text{NH}_3$  est supérieure à son utilisation, elle sera transformé par le foie en urée, qui sera alors recyclé par la salive ou la paroi du rumen ce qui est essentiel lorsque les animaux consomment des aliments pauvres en protéine ou en azote dégradable (Sauvant et *al.*, 2006).

C'est principalement la dégradation des glucides qui fournit l'énergie nécessaire à cette synthèse protéique (Figure 10).



**Figure 10 :** Digestion des matières azotées chez les ruminants (Cuvelier *et al.*, 2015).

### 3.2.1 Les sources alternatives d'azote

Les besoins des microorganismes du rumen en azote ammoniacale aminique, ou bien peptidique peuvent être apportés par la ration alimentaire. Il ya une évidence que les acides aminés mais aussi les peptides stimulent la croissance microbienne. Les sources alternatives d'azote étudiées sont : le bicarbonate d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), Le glutamate de sodium (Na- Glutamate), le nitrate de potassium ( $\text{KNO}_3$ ) et l'extrait de levure (tableau 1).

**Tableau 7** : Concentration, toxicité des sources alternatives d'azote.

milieux	Concentrations utilisées dans nos milieux en g/l	toxicité
Bicarbonate d'ammonium	1,25	Non toxique
Na-glutamate	2,67	Non toxique
Nitrate de potassium	1,53	toxique
Extrait de levure	1,76	Non toxique

#### ➤ Le bicarbonate d'ammonium

Le bicarbonate de l'ammonium est une poudre blanche, qui se dissout entièrement dans l'eau, qu'il rend alcaline, de masse molaire :  $79,0553 \pm 0,0023$  g/mol contenant : 15,19 % C, 6,37 % H, 17,72 % N et 60,71 % O (Figure 11) ( Loliger, 2000).

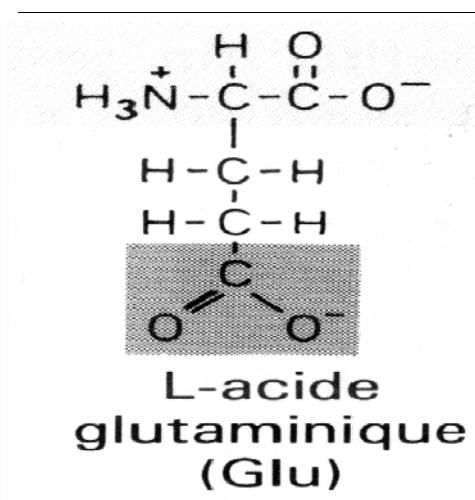


**Figure 11** : Structure chimique du bicarbonate d'ammonium (Loliger, 2000).

➤ **Le glutamate de sodium**

L'acide glutamique ou sous forme anionique glutamate, est l'un des 22 acides aminés. Il est caractérisé par la présence d'un groupe carboxyle –COOH à l'extrémité de sa chaîne latérale, ce qui en fait un résidu acide chargé négativement dans les protéines. NH<sub>2</sub>-R-COOH. R : la chaîne latérale (Figure12).

La masse molaire de l'acide glutamique est de 147,1293 ± 0,006 g/mol avec 40,82 % C, 6,17 % H, 9,52 % N et 43,5 % O avec pH 7,4. (Loliger, 2000).



**Figure 12** : Structure chimique de L-acide glutamique (Alberts *et al.*, 1988).

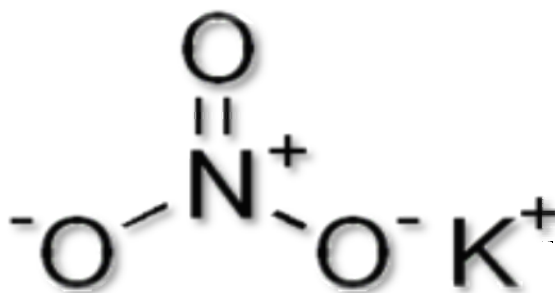
➤ **Le nitrate de potassium**

Le nitrate de potassium est un corps chimique ionique anhydre (Figure13) de pH (6 – 8), composé d'anion nitrate et de cation potassium de masse molaire : 101,1032 ± 0,0012 g/mol contenant 38,67 % K , 13,85 % N et 47,47 % O (Eli , 1957) .

**Tableau 8** : Niveau de la toxicité du nitrate de potassium dans l'eau

<b>KNO<sub>3</sub> dans l'eau (PPT)</b>	<b>Commentaire</b>
0 à 69	Sans danger
70 à 209	Douteux
210 à 349	toxicité risquée
700 à 1,050	Toxique
plus de 1,050	Toxicité aigüe mortelle





**Figure 13 :** Structure chimique du nitrate de potassium ( Loliger, 2000).

Le schéma global du métabolisme du nitrate dans le rumen est établi dans la (figure 14). Les deux réductions du nitrite, assimilatoire qui produit de l'ammoniaque, et non assimilatoire ont été mis en évidence dans les parties du rumen.

En incubation avec le digesta ruminal bovin *in vitro*, la réduction du nitrate assimilatoire était prédominante, sans dénitrification du  $\text{N}_2$ , mais avec utilisation de  $\text{N}_2\text{O}$ , qui a eu lieu à partir de l'addition du nitrite. La réduction de la séquence à partir du  $\text{NO}_3$  au  $\text{NH}_4$  dépend de l'équilibre des activités enzymatiques. Le C résulte de l'utilisation des composants intermédiaires comme le  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}$ , ou  $\text{NO}_2$ . Normalement la réduction du nitrite en ammoniaque est beaucoup plus lente que la réduction des nitrates en nitrite ce qui conduit à une utilisation de nitrite. Bien qu'une quantité dangereuse de nitrite puisse s'utiliser lorsqu'un régime alimentaire riche en nitrate.

Plusieurs facteurs majeurs influencent la toxicité du nitrite dérivé du nitrate, la haute concentration en nitrate dans le régime alimentaire, le taux de consommation de fourrage, les faibles taux de réduction de nitrite en ammoniaque dans le rumen, et le faible taux de passage dans le rumen, qui conduit à une rétention plus longue de nitrate ou de nitrite dans le rumen. Les études *in vivo* ont été menées prudemment en augmentant le contenu du nitrate dans l'alimentation graduellement pendant plusieurs semaines pour permettre à la microflore du rumen de s'adapter et d'augmenter le métabolisme du nitrite.

Ces taux élevés de réduction de nitrite sont d'une grande importance afin de prendre plus de précautions dans le cas d'une alimentation enrichie en nitrate.

Il peut être spéculé que le nitrite malgré le nitrate peut être un meilleur composant à utiliser pour entraîner cette adaptation, puisque le nitrate en lui-même va augmenter par une réduction élevée de nitrate, mais on a été incapable de trouver une évidence publiée que le nitrite a été utilisé de cette manière (Yang *et al.*, 2016).

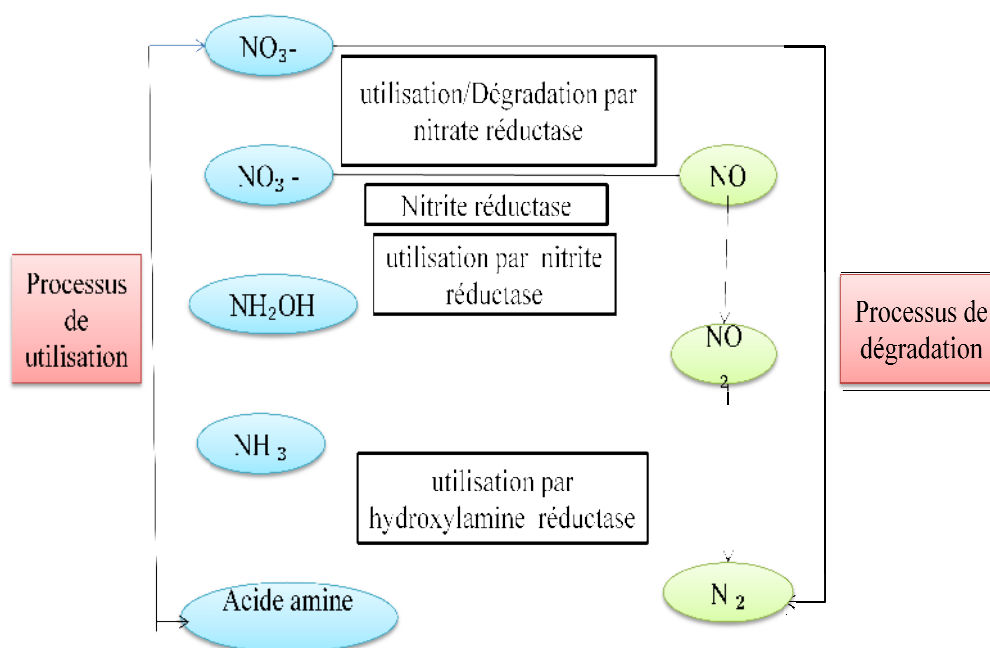


Figure 14 : Métabolisme du nitrate et du nitrite (Yang et *al.*, 2016).

➤ **L'extrait de levure**

Les protéines (acides aminés et peptides) constituent le composé majeur des extraits de levure et représentent de 50 à 70 % de la matière sèche du produit (tableau 10). Les levures probiotiques sont actuellement acceptées et largement utilisées pour l'affouragement animal.

Le but principal pour l'usage de tels additifs dans les régimes des ruminants c'est d'empêcher, la perturbation de la flore ruminale. Particulièrement, lorsque la ration est associée aux concentrés de haute teneur en énergie, afin de soutenir un système de production intensif et élevée en lait et viande (Russel et *al.*, 1986).

Tableau 9 : Composition de l'extrait de levure

Extrait de levure	Composition	
	Protéine totale.....	62-73.8 %
	Azote total.....	10-11.8 %
	Azote aminique.....	4.5-5.8 %
	Cendres à part le chlorure.....	11.5-16 .0%
	Chlorure de sodium.....	moins de 0.5 %
	Moisissure.....	moins de 0.6 %
	pH (2%).....	6.8-7.2%

• Métabolisme des protéines et des acides aminés intérieurs

Dans le rumen, il ya deux types de protéines, les protéines non dégradables qui sont protégées, où recouvert de lignine ce qui bloque l'accès aux enzymes, et les protéines dégradables qui sont hydrolysées par des protéases attachées à la surface des bactéries en acides aminés et peptides (figure 15). Dans la cellule bactérienne, une partie des acides aminés est désaminée par une désaminase donnant de l'ammoniac, d'ATP, des AGV, et du CO<sub>2</sub>. Cet ammoniac sert à la synthèse des protéines microbiennes. L'autre partie des acides aminés est directement incorporée dans les protéines microbiennes. Quant aux peptides ils sont hydrolysés par des protéases en acides aminés et suivent le même processus de dégradation précédant.

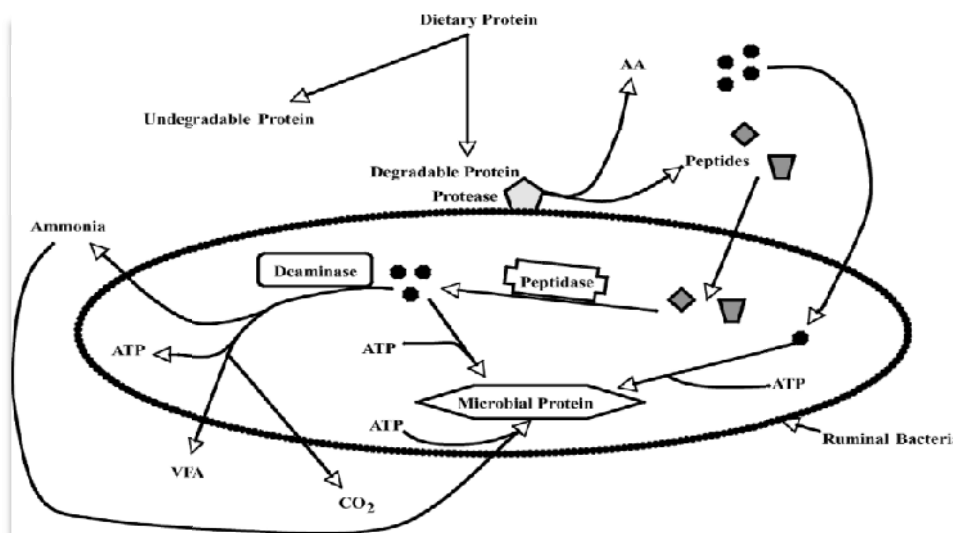


Figure 15 : Dégradation des protéines et leurs produits finaux dans le rumen. (Bach *et al.*, 2005).

## Objectif du travail

Notre travail consiste à étudier *in vitro* l'effet des différentes sources d'azote inorganique : bicarbonate d'ammonium, nitrate de potassium et organique : glutamate de sodium, extrait de levure sur l'activité métabolique de dégradation de la cellulose par les bactéries cellulolytiques, la pectine par les pectinolytiques, l'amidon par les amylolytiques, le xylan par les xylanolytiques et la caséine par les protéolytiques. Cette activité métabolique est déterminée par la mesure du volume de gaz dégagé au cours de la dégradation de chaque source d'énergie.

# **Chapitre 2**

## **Matériel et méthodes**

## 1. Inoculum et animal donneur

Le liquide ruminal a été recueilli juste après l'abattage de bovins à l'abattoir municipal d'El Khroub puis transporté au laboratoire dans des thermos aseptisés. Au laboratoire, l'inoculum est filtré sur deux couches de mousseline et le filtrat obtenu est utilisé dans le reste des expériences.

## 2. Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum

Dès l'arrivée du contenu ruminal, l'aspect, l'odeur et la texture de l'inoculum sont examinés. Le pH, la température et le potentiel d'oxydoréduction sont ensuite mesurés.

### 2.1. Mesure du pH

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre portable à électrode préalablement étalonné (unités pH).

### 2.2. Mesure de la température

La température est mesurée à l'aide d'un thermomètre à mercure (exprimée en °C).

### 2.3. Mesure du potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel rédox est mesuré grâce à un couple d'électrodes, une de référence et l'autre de mesure (figure 16). La valeur positive indique que le milieu est oxydant, la valeur négative indique que le milieu est réducteur (exprimé en mV).



**Figure 16 :** Appareil de mesure du potentiel d'oxydoréduction

### 3. Mesure de la teneur en matière sèche

Dans des creusets tarés au préalable, une quantité du liquide ruminal frais et homogénéisé est pesée, puis placée dans une étuve maintenue à 105°C. Après 24h les creusets sont mis dans un dessiccateur muni d'agent déshydratant pendant au moins 30 minutes pour les refroidir dans une atmosphère sèche. Une deuxième pesée est alors effectuée. Pour chaque échantillon, trois répliques ont été effectuées.

- Expression des résultats

La teneur en matière sèche (MS) est calculée comme suit :  $MS = (P_1 - P_0)$ ,

$\%MS = 100 \times MS / MF$ , elle est exprimée en g/100g de matière fraîche.

$P_0$  = la tare du creuset

$P_1$  = poids sec + tare

MF = prise d'essai en matière fraîche

Le taux d'humidité est calculé comme étant le complément à 100 de la MS.

### 4. Mesure de la teneur en matière minérale et organique

La matière sèche est placée dans un four à moufle réglé à 550°C pendant 12h. La perte de poids correspond à la matière organique et le reste représente la matière minérale.

- Expression des résultats

La teneur en matière minérale (MM) est calculée comme suit :  $MM = P_2 - P_0$ ,

$\%MM = 100 \times MM / MS$ , elle est exprimée en g/100g de matière sèche.

$P_0$  = la tare

$P_2$  = poids sec + tare

MS = matière sèche

La matière organique est calculée comme étant le complément à 100 de la MM.

## **5. Analyse des caractéristiques microbiologiques de l'inoculum**

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

- 1- Frottis du liquide ruminal tel quel (LRTQ) dès son arrivée au laboratoire.
- 2- Frottis du liquide ruminal filtré (LRF) à travers deux couches de mousseline.
- 3- Frottis après incubation des mélanges (LRF) avec les différents milieux.

Le dépôt est étalé en fine couche sur une lame à l'aide d'une pipette Pasteur puis séché sur le bec bunsen pour le fixer. Il est par la suite soumis à la coloration de Gram des anaérobies selon Kopeloff (tableau 1) pour voir les différentes formes bactériennes existant et leur Gram. Tous les frottis ont été effectués en deux répliques.

Une analyse morphologique est faite en balayant cinq champs microscopiques au grossissement (10x100). Les bactéries Gram négatif apparaissent roses tandis que les bactéries Gram positif sont bleu foncé /violet.

Le type de Gram (+/-), le pourcentage de chaque forme, le nombre de bactérie ayant une forme particulière est défini par rapport au nombre total de bactéries présentes par champ.



**Tableau 10** : Coloration de Gram selon kopeloff

<b>Réactifs utilisés :</b>	<b>Procédure de coloration :</b>
<p><b>Cristal violet alcalin :</b></p> <p><b>Solution A</b> : 10 g de cristal violet dans 1000 ml d'eau distillée.</p> <p><b>Solution B</b> : 50 g de NaHCO<sub>3</sub> dans 1000 ml d'eau distillée.</p>	<p>1-On fait agir le cristal violet (solution A) sur la préparation et on ajoute 5 gouttes de la solution B pendant 30 sec.</p> <p>2-On rince à l'eau de robinet pendant 2 à 3 sec.</p>
<p><b>Solution iodo-iodurée :</b></p> <p>4g de NaOH dans 25 ml d'eau distillée, on ajoute 20 g d'iode et 1g de KI, on les dissout on ajoute graduellement 975 ml d'eau distillée en agitant correctement à chaque ajout.</p>	<p>3-On couvre avec la solution du mordant (KI+I) pendant 60 sec.</p> <p>4-On rince à l'eau de robinet pendant 2 à 3 sec.</p> <p>5-On éponge l'eau avec un buvard propre.</p>
<p><b>solution de mélange décolorant :</b></p> <p>On mélange 300 ml d'acétone à 700 ml d'alcool éthylique à 95%.</p>	<p>6-On décolore au maximum pendant 15-20 sec.</p> <p>7-On rince à l'eau immédiatement.</p> <p>8-On éponge l'eau en excès.</p>
<p><b>solution de contre –colorant :</b></p> <p>On ajoute de l'alcool à 95% pour dissoudre complètement 20g de safranine ; ensuite on complète à 1000 ml avec de l'eau distillée</p>	<p>9-On recouvre avec la solution de contre-colorant pendant 20 sec.</p> <p>10-On rince puis on sèche avant d'examiner le résultat.</p>

## **6. Épuisement de l'azote et de l'énergie résiduels**

Le liquide ruminal contient inévitablement des débris végétaux qui sont source d'énergie et d'azote. Dans le but de réduire le plus possible cet apport, le liquide ruminal est d'abord filtré puis un épuisement de l'énergie et de l'azote selon le protocole de Cone et *al.*, (2004) est réalisé.

Ce dernier consiste à épuiser l'azote et l'énergie résiduels de l'inoculum dans un milieu tamponné au bicarbonate de sodium. L'incubation anaérobie à 39°C dure 5 à 6 heures et la production de gaz est suivie.

La fin de l'épuisement est estimée par l'apparition d'un plateau dans la courbe de production de gaz.

## **7. Utilisation des sources d'azote comme source d'énergie**

Pour déterminer si les sources d'azote sont également utilisées comme source d'énergie par les bactéries du rumen, à la fin de l'épuisement chaque source d'azote est ajoutée séparément. Il s'agit du bicarbonate d'ammonium, du Na-glutamate, du nitrate de potassium et de l'extrait de levure. Les sources d'azote sont additionnées à raison de 222,52 mg/l d'azote dans des milieux tamponnés au bicarbonate de sodium. L'incubation anaérobie à 39° dure 24 heures.

## **8. Évaluation de l'effet des sources d'azote sur les différents groupes bactériens du rumen**

Pour évaluer l'effet de chaque source d'azote sur l'activité métabolique des principaux groupes bactériens du rumen (cellulolytiques, amylolytiques, protéolytiques, pectinolytiques et hemicellulolytiques), un épuisement, suivi d'un ajout d'une seule source d'azote au milieu tamponné au bicarbonate de sodium est réalisé. Chaque source d'azote est ensuite testée en combinaison avec différentes sources d'énergie (cellulose, amidon, pectine, xylane ou caseine) pour favoriser un seul groupe bactérien à la fois (sélection par le substrat). L'incubation anaérobie à 39°C dure 48 heures.

Ce test permet de déterminer la source d'azote qui stimule le plus l'activité métabolique de chaque groupe bactérien du rumen.

## 9. Sources d'azote utilisées

Les sources alternatives d'azote utilisées sont :

- Le bicarbonate d'ammonium ((NH<sub>4</sub>) HCO<sub>3</sub>, MM : 79.06 g, 17.72 % N)
- Le glutamate de sodium (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>NNaO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, MM : 187.13 g, 9,52% N)
- Le nitrate de potassium (KNO<sub>3</sub>, MM : 101.10 g, 85% N)
- L'extrait de levure (11% N, pH à 25°C 6,8-7,2)

## 10. Les sources d'énergie utilisées

Les sources d'énergies utilisées sont sous forme de polymères :

- Cellulose : polymère de glucose avec des liaisons β (1-4).
- Amidon : polymère de glucose lié soit par des liaisons α (1-4) amylose, ou par des liaisons α (1-4) et α (1-6) amylopectine.
- Pectine : polymères d'acides uroniques et d'oses, principalement d'acide α galacturonique et de rhamnose liés par des liaisons α (1-4).
- Xylane : polymères de résidus de xylose liés en β (1-4)
- Caséine : polymère d'α acide aminée lié par des liaisons peptides (C-N)

## 11. Préparation des milieux d'incubation

### 11.1 Milieu d'épuisement

Le milieu d'épuisement comportant le tampon bicarbonate est préparé selon la fiche consignée dans le (tableau 2).

**Tableau 11** : Composition du milieu d'épuisement

	<b>Composition et concentration/litre</b>
<b>Milieu d'épuisement</b>	NaHCO <sub>3</sub> ..... 10g/l
	Eau distillé..... 960 ml
	Résazurine..... 1,24 ml
	<b>Solution réductrice :</b>
	NaOH ..... 8 ml
	Na <sub>2</sub> S ..... 0, 4g
	Eau distillé..... 40ml

Le milieu est constitué de 960 ml d'eau distillée stérile, 10 g de bicarbonate d'ammonium et 1,24 ml de résazurine, puis stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes pour chasser le maximum d'O<sub>2</sub>. Ensuite, il est refroidi dans un bain-marie réglé à 39°C avec barbotage sous flux continu de CO<sub>2</sub>.

La solution réductrice est préparée avec 0,4g Na<sub>2</sub>S, 8 ml NaOH, 40 ml d'eau distillée stérile, puis rajoutée au milieu juste après la stérilisation. La réduction est suivie par le virage de l'indicateur du potentiel d'oxydoréduction (résazurine) du bleu au rose avant de devenir incolore (figure 17). Le pH est ensuite ajusté à 6,80 avec du HCl 5N ou du NaOH 5N.



**Figure 17** : Etapes de la réduction du milieu d'épuisement ou de fermentation

### 11.2. Milieu de fermentation

Les milieux de fermentations sont préparés selon la fiche consignée dans les tableaux 12, 13 et 14. La préparation est réalisée de la même manière que pour le milieu d'épuisement.

**Tableau 12 :** Composition du milieu de fermentation1 avec les différentes sources d’azote

	Composition et concentration/litre			
	<b>Milieu de fermentation 1</b>	NaHCO <sub>3</sub> ..... 10 g/l		
Eau distillé.....960 ml				
Résazurine..... 1,24 ml				
<b>1-Solution réductrice :</b>				
NaOH .....8 ml				
Na <sub>2</sub> S.....0,4 g				
Eau distillé.....40 ml				
<b>Sources d’azote</b>	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	Na-glutamate	KNO <sub>3</sub>	Extrait de levure
	1256.0 mg/l	2972.81 mg/l	1606.1 mg/l	2022.9 mg/l

**Tableau 13 :** Composition du milieu de fermentation 2 avec les différentes sources d’énergie

	Composition et concentration			
	<b>Milieu de fermentation 2</b>	<b>Milieu A</b>	<b>Milieu B</b>	<b>Milieu C</b>
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> 1256.0 mg/l		Na-glutamate 2972.81 mg/l	KNO <sub>3</sub> 1606.1 mg/l	Extrait de levure 2022.9 mg/l
NaHCO <sub>3</sub> ..... 10g/l				
Eau distillé..... 960 ml				
Résazurine..... 1.24 ml				
<b>Solution réductrice</b>				
NaOH..... 8 ml				
Na <sub>2</sub> S..... 0.4 g				
Eau distillé..... 40 ml				
<b>Sources d’énergie</b>	Cellulose..... 10g/l			
	Amidon..... 10g/l			
	Pectine..... 10g/l			
	Xylane..... 10g/l			
	Caséine..... 10g/l			

**Tableau 14** : Composition du milieu de fermentation 3 avec les différentes sources d'azote

Milieu de fermentation 3	Composition et concentration			
	NaHCO <sub>3</sub> .....	10 g/l		
Eau distillé.....	960 ml			
Résazurine.....	1,24 ml			
Cellulose.....	10 g/l			
1-Solution réductrice :				
NaOH .....	8 ml			
Na <sub>2</sub> S .....	0,4 g			
Eau distillé.....	40 ml			
Sources d'azote	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	Na-glutamate	KNO <sub>3</sub>	Extrait de levure
	1256.0 mg/l	2972.81 mg/l	1606.1 mg/l	2022.9 mg/l

## 12. Incubation

### 12.1. Phase d'épuisement

L'incubation de la phase d'épuisement est réalisée de la même façon dans toutes les expériences.

Douze flacons stériles de 250 ml fermés avec des bouchons aseptisés, sont reliés aux canaux de l'appareil de mesure de la production de gaz (figure 18) puis placés dans un bain-marie réglé à 39°C. Un flux continu de CO<sub>2</sub> est injecté dans chaque flacon pour assurer l'anaérobiose durant tous les transferts. Quinze millilitres du milieu d'épuisement sont transférés avec une seringue stérile (figure 19) dans les 12 flacons, suivis de 15 ml du liquide ruminal filtré, soit un taux d'inoculation de 50% afin d'avoir la majorité des microorganismes. L'incubation dure 5 à 6 heures.



**Figure 18 :** Appareil de mesure du gaz  
*in vitro*



**Figure 19 :** Seringue de transfert de l'inoculum et  
des milieux d'incubation aux flacons  
d'incubation

## 12.2. Phase de fermentation

Chaque phase d'épuisement, est suivie d'une fermentation réalisée comme suit

### 12.2.1 Utilisation des sources d'azote comme source d'énergie

Les quatre sources d'azote préalablement pesées, sont rajoutées dans les 8 premiers flacons, chacune à raison de deux répliques. Les 4 autres servent de blanc. Cent vingt millilitres du milieu de fermentation 1 sont ensuite transférés à l'aide d'une seringue stérile dans tous les flacons, l'inoculum constitue ainsi 10 % du volume final et l'incubation dure 24h.

### 12.2.2. Effet des sources d'azotes sur les différents groupes bactériens

Les cinq sources d'énergies pesées auparavant, sont additionnées au contenu des 10 premiers flacons, chacune à raison de deux répliques. Les 2 autres servent de blanc. Cent vingt millilitres du milieu de fermentation 2 contenant soit du bicarbonate d'ammonium soit du Na-glutamate soit du nitrate de potassium ou de l'extrait de levure sont enfin transférés, grâce à une seringue stérile dans les 12 flacons l'inoculum constitue ainsi 10 % du volume final et l'incubation dure 48 à 72h.

### **12.2.3. Effet des sources d'azote sur les bactéries cellulolytiques**

La cellulose pesée précédemment est ajoutée dans les 10 premiers flacons, les 2 autres servent de blanc sans source d'énergie. Les quarts sources d'azote préalablement pesées, sont ensuite rajoutées dans les 8 premiers flacons, chacune à raison de deux répliques. Les 4 autres servent de blanc ne contenant pas de source d'azote. Cent vingt millilitres du milieu de fermentation 3 sont ensuite transférés à l'aide d'une seringue stérile dans tous les flacons, l'inoculum constitue ainsi 10 % du volume final et l'incubation dure 24h.

### **13. Activité métabolique de la flore ruminale**

L'activité métabolique se traduit par un dégagement de gaz ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ). Ce gaz est capté par un appareil de mesure de production de gaz en anaérobiose, il accumule une quantité de 0.33 ml de gaz et la libère en émettant un spot lumineux. Ce signal est suivi dans le temps.

#### **Expression des résultats**

L'activité métabolique de la flore ruminale en présence des sources d'azotes est exprimée en ml de gaz / 222 mg d'azote par litre de milieu. L'activité métabolique des différents groupes bactériens en présence des sources d'énergie et exprimée en ml de gaz / g MS / 222 mg d'azote par litre de milieu.

### **14. Mesure du pH après fermentation**

Le pH final après 48h de fermentation est mesuré à l'aide d'un pH mètre portable à électrode en verre préalablement étalonné.

### **15. Elaboration des données**

Le dispositif informatique de l'appareil de mesure du gaz étant en panne, nous avons enregistré tous les spots émis lors de l'incubation. Par la suite, nous avons visualisé les différents enregistrements et pris les temps exacts à chaque fois qu'un spot est émis. Enfin on a reporté les temps sur un tableur Excel puis tracé la courbe volume de gaz en fonction des temps d'émission.



# **Chapitre 3**

## **Résultats et discussion**

## 1. Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum

Les différents liquides ruminiaux proviennent d'animaux élevés dans l'objectif de l'engraissement ou de la production laitière dont les poids varient entre 300 et 600 kg. La couleur du liquide ruminal est jaunâtre quand l'alimentation est riche en maïs ou verdâtre quand l'alimentation est riche en herbe, paille ou foin. La texture est soit liquide ou solide, pailleuse ou granuleuse, avec une odeur désagréable à piquante due aux produits de la fermentation ruminale en particulier les acides gras volatils.

**Tableau 15** : Caractéristiques physico-chimiques du contenu ruminal prélevé après abattage.

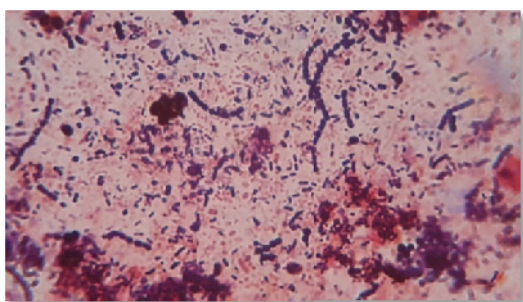
Essais	pH LRTQ	rH (- mV)	Température °C	MS	MM	MO
1	5,78	220	36	11,67	7	92,99
2	5,22	210	34	16,57	9,11	90,89
3	5,13			19,25	10,13	89,87
4	4,95		26	11,25	12,06	87,94
5				16,30	11,05	88,94
Minimum	4,95	220	26	11,25	7	87,94
Max	5,78	210	36	19,25	12,06	92,99
Moyenne	5,27	215	32	15,01	9,87	90,13
Ecart-type	0.36	7,07	5,29	3,34	1.94	1.94

Le pH des liquides ruminiaux varient d'un minimum de 4,95 à un maximum de 7,34 avec une moyenne de 5,75 et un écart-type de 0,9 (tableau 15). Le rH varie d'un minimum de (-310 mV) à un maximum (-210 mV) avec une moyenne de 193,3 et un écart type de 37,8. La température varie d'un minimum de 26 °C à un maximum 36 °C avec une moyenne de 31,75 et un écart-type de 4,3. La matière sèche (MS) varie d'un minimum de 11,25 (g/100 g de matière fraîche) à un maximum 57,07 avec une moyenne de 22.02, et un écart-type de 17.4. La matière minérale (MM) varie d'un minimum de 6.51 à un maximum de 12.06 avec une moyenne de 9.31, et un écart-type de 2.2. La matière organique (MO) varie d'un minimum de 87,94 à un maximum 93,49 avec une moyenne de 90,69 et un écart-type de 2,2.

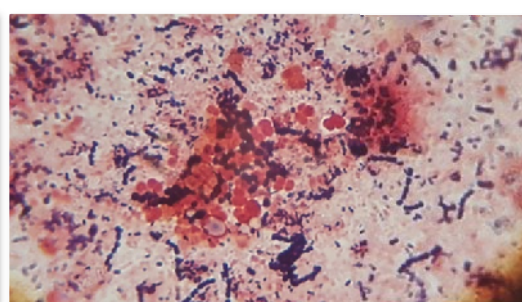
## 2. Analyse des caractéristiques microbiologique de l'inoculum

La coloration de Gram des différents inocula tel quel, et l'observation microscopiques ont permis d'analyser la microflore ruminale (figure 20). Dans cette dernière les bactéries Gram négatif s'avère dominantes par rapport aux Gram positif et ce dans tous les essais. Les bactéries présentes ont essentiellement trois formes : cocci, bacille et vibron avec un pourcentage et un mode de regroupement différent dans chaque essai.

Après la filtration, l'observation microscopique des Gram présente la même dominance avec une diminution de la charge microbienne car la filtration retient la majorité des particules alimentaires sur lesquelles sont attachés les microorganismes (figure 21).



**Figure 20** : Observation microscopique du liquide ruminal tel quel

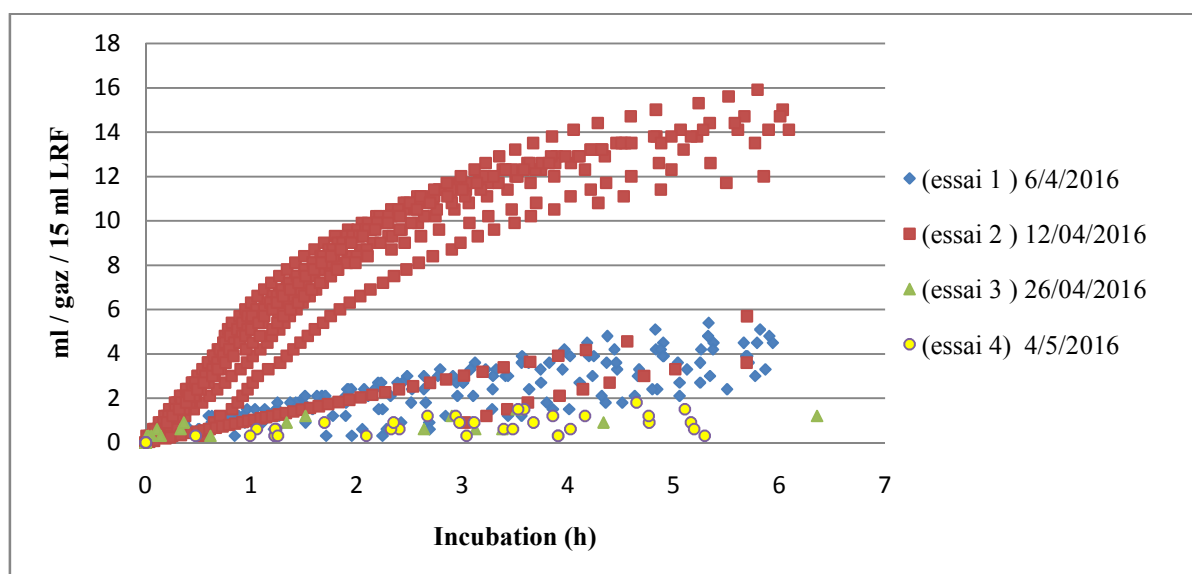


**Figure 21** : Observation microscopique du liquide ruminal filtré

## 3. Épuisement de l'azote et de l'énergie résiduels

Durant la phase d'épuisement, la flore ruminale utilise l'énergie et l'azote apportés par le contenu ruminal filtré. Ces apports résiduels sont métabolisés en protéines et en ATP ce qui se traduit par la production de gaz. Cet épuisement d'azote et d'énergie va être utilisé pour déterminer l'effet d'une source d'azote ou d'énergie, ou les deux à la fois sur la flore ruminale sans interférence avec l'apport du contenu ruminal filtré.

Les courbes de la figure 22 montrent qu'au bout de 5-6 h d'incubation le plateau de production de gaz est atteint. Ceci s'explique par l'épuisement de l'énergie et de l'azote résiduels. Les témoins des différentes fermentations confirment nos résultats, ils ne présentent aucune activité métabolique et donne des courbes plates. Les cinq à six heures d'incubation suffisent, au-delà les cellules sans azote et sans énergie vont alors rentrer en phase d'autolyse.



**Figure 22 :** Courbes des phases d'épuisements des différents essais

Les volumes de gaz produit varient d'un inoculum à l'autre, les inocula jaunâtres riches en amidon s'épuisent en donnant des volumes maximum de 5,4-15,9 ml, les inocula verdâtres riches en herbes, foin et pailles s'épuisent en ne donnant que 1,5-1.8 ml de gaz (tableau 16). Cette différence est due au type de l'alimentation de l'animal et à la phase digestive au moment de l'abattage (début de digestion, rumination, fin de digestion).

**Tableau 16 :** Volumes de gaz produits durant les phases d'épuisements des différents essais

N°essai	Couleur de l'inoculum	Durée (h)	Volume minimum (ml)	Volume maximum (ml)
1	Jaunâtre	5	2,4	5,4
2	Jaunâtre	6	3,6	15,9
3	Verdâtre	7	0,6	1,5
4	Verdâtre	5	0,3	1,8
5	Verdâtre	6	0,3	1,5
6	Jaunâtre	6	0,6	1,5

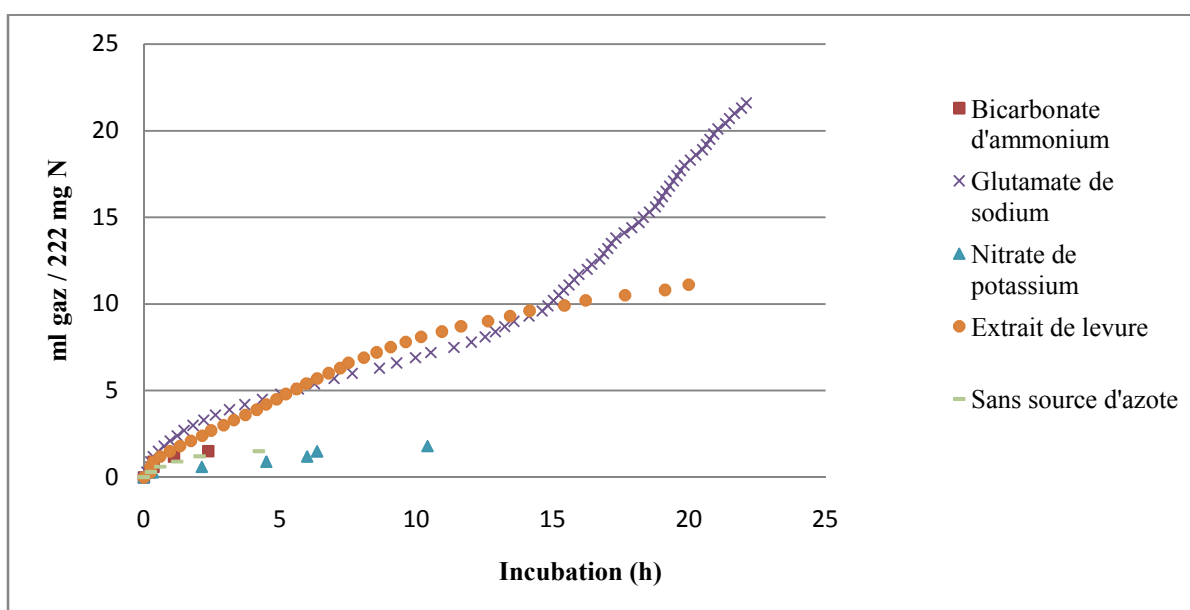
Cette production de gaz est comparable à celle obtenue par Cone et *al.* (2014), dans leur étude. En effet, ils ont effectué un épuisement avec ajout de sucre (glucose, xylose, amidon) et ont obtenus 15 ml de gaz. Vu qu'on ne contrôle pas nos inocula, parfois ils sont riches en énergie et produisent 15 ml de gaz. Si on épuise avec ajout de sucres le gaz

produit attend 30 ml et nécessitera un temps d'incubation plus long, et parfois les inocula sont riches en fibres et s'épuisent rapidement, l'équilibre c'est de garder les 5-6 h d'incubation et d'épuiser sans ajout de sucres.

#### 4. Utilisation des sources d'azote comme source d'énergie

Dans la phase de fermentation, l'inoculum additionné au milieu tamponné a été enrichi par les différentes sources d'azote, afin de déterminer si ces dernières sont également utilisées comme sources d'énergie par la flore ruminale.

Au bout de 5 h d'épuisement la flore ruminale a produit 5 ml de gaz, on suppose que l'énergie et l'azote résiduels sont métabolisés. Durant la phase de fermentation le glutamate de sodium a donné le meilleur résultat et a produit le plus grand volume de gaz avec 21,06 ml, suivi de l'extrait de levure qui a progressé de manière régulière et a produit 11,01 ml de gaz (figure 23).



**Figure 23** : Courbes de l'utilisation des sources d'azote comme source d'énergie

Ces résultats semblent logique et attendus car l'extrait de levure est composé de nombreuses substances, particulièrement des protéines et des peptides qui sont lents à l'utilisation, contrairement au glutamate de sodium qui est un acide aminé prêt à être utilisé directement par les cellules, ou dégradé et utilisé comme source d'azote.

Le nitrate de potassium et le bicarbonate d'ammonium ont produit très peu de gaz : 1.8 et 1.5 ml respectivement (tableau 17). Il se pourrait que ces deux sources d'azote sont difficilement, voir pas, utilisés par la flore ruminale.

**Tableau 17** : Caractéristiques cinétiques de l'utilisation des sources d'azote comme source d'énergies

Sources d'azote	Temps de latence (h)	Pente	Volume max (ml)
Glutamate de sodium	0,1	Moyenne	21,6
Extrait de levure	0,24	Moyenne	11,1
Nitrate de potassium	0,33	Très faible	1,8
Sans source d'azote	0,25	Très faible	1,5

Contrairement aux sources inorganiques d'azote, les sources organiques (glutamate et extrait de levure) sont hydrolysés pour donner du carbone, de l'ATP et de l'azote, les microorganismes préfèrent ainsi l'utilisation de ce type de molécules vu leur contenu énergétique. Ainsi, leur utilisation est rapide d'où la forte production de gaz. Dans le cas du nitrate de potassium, ce dernier se dissocie en  $K^+ + NO_3^-$  alors que la dissociation du bicarbonate d'ammonium donne  $NH_4^+$  utilisé comme source d'azote et  $HCO_3^-$  utilisé comme source de carbone. Le métabolisme de ces deux éléments ne produit pas d'ATP et donc ne se présente pas comme une source d'énergie ce qui explique leur faible utilisation et donc la très faible production de gaz.

Après 22 h de fermentation le milieu contenant le bicarbonate n'a presque pas produit de gaz, son pH final est de 7,04 (tableau 18). Cette valeur neutre est due à la lyse cellulaire. Le milieu contenant le nitrate de potassium s'est comporté de la même manière, le pH mesuré est de 6,97. Ces deux éléments azotés ont déjà été décrits comme des apports énergétiquement faibles pour la flore ruminale.

**Tableau 18** : pH finaux après fermentation des sources d'azote seules

Sources d'azote	pH initial	pH final	$\Delta$ pH
Bicarbonate d'ammonium	6,80	7,04	0,24
Glutamate de sodium		6,89	0,18
Nitrater de potassium		6,97	0,09
Extrait levure		7,07	0,27
Sans source d'azote		7,08	0,28
Sans source d'azote		7,00	0,2

La production maximale de gaz a été observée dans le milieu contenant le glutamate de sodium. Il est remarquable que le pH final, qui est de 6,89 dans ce cas là ; n'a pas beaucoup varié par rapport au pH initial. Le glutamate de sodium étant une très bonne source d'azote et d'énergie, a permis une croissance optimale de la flore ruminale, la lyse cellulaire n'a donc pas eu lieu et le milieu a gardé son pH initial. Le milieu contenant l'extrait de levure est aussi considéré comme un milieu favorable au développement de la flore ruminale. Cependant, une augmentation du pH est observée (de 6,80 à 7,02). Cette variation n'est pas due à la lyse cellulaire par manque d'apport énergétique mais, à la production d'ammoniac qui est un sous-produit de la dégradation des protéines de l'extrait de levure et qui a ainsi élevé le pH. Les milieux sans source d'azote n'ont pas produit de gaz, leurs pH finaux sont de 7,07 et 7, ils ont augmenté par rapport au pH initial à cause de la lyse cellulaire.

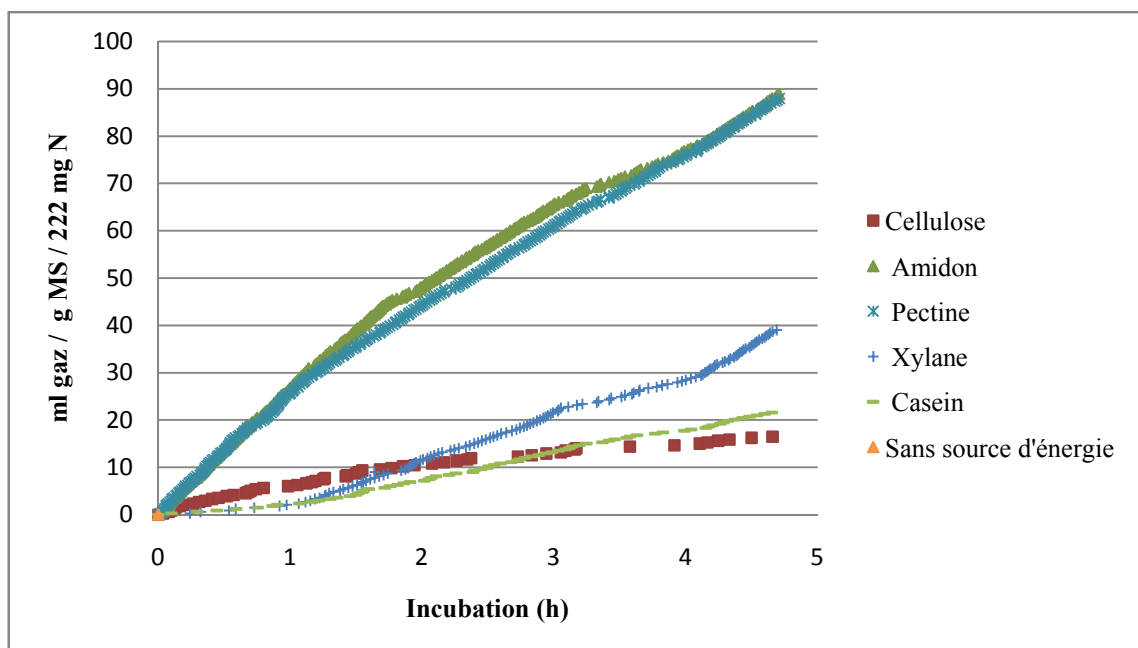
## 5. Effet des sources d'azote inorganique sur les principaux groupes bactériens du rumen

Dans la phase de fermentation, l'inoculum est additionné au milieu tamponné contenant l'une des sources d'azote organique ou inorganique à tester. Ce mélange est ensuite enrichi par les différentes sources d'énergie afin d'évaluer l'effet de la source d'azote sur chaque groupe bactérien étudié.

Dans tout ce qui suit, notre étude est basée sur l'hypothèse qu'après la phase de l'épuisement, l'inoculum ne contient aucune source d'énergie ni source d'azote. Par conséquent la production de gaz dérivera de ce qui sera ajouté comme source d'azote et source d'énergie.

### 5.1. Effet du bicarbonate d'ammonium

La production de gaz indique la capacité d'un groupe bactérien donné à utiliser l'une des sources d'azote ou d'énergie. Ainsi, dans le cas du bicarbonate d'ammonium, il est clair que les groupes amylolytiques et pectinolytiques sont les plus stimulés avec une production de gaz maximale de 86,4 et 87,9 ml respectivement pour une durée d'incubation de 5 h (à cause d'une panne d'électricité). Ces groupes bactériens commencent directement la fermentation sans aucun temps de latence (figure 24).



**Figure 24 :** Effet du bicarbonate d'ammonium comme source d'azote sur les différents groupes bactériens du rumen



Les xylanolytiques se montrent également capables d'utiliser le bicarbonate d'ammonium sans aucun temps de latence, mais avec un volume de gaz produit nettement plus faible par rapport aux amylolytiques et aux pectinolytiques (39 ml). Les groupes proteolytiques et cellulolytiques présentent la plus faible production de gaz avec 21,6 et 16,5 ml respectivement (tableau 19).

**Tableau 19 :** Caractéristiques cinétiques de l'effet du bicarbonate d'ammonium sur les différents groupes bactériens du rumen

Sources d'azote et source d'énergie	Temps de latence	Pente	Volume max
Bicarbonate d'ammonium + cellulose	0,04	Faible	30,4
Bicarbonate d'ammonium + amidon	0,02	Forte	333,7
Bicarbonate d'ammonium + pectine	0,01	Forte	350,8
Bicarbonate d'ammonium + xylane	0,04	Faible	277,3
Bicarbonate d'ammonium + caséine	0,14	Faible	211,9
Bicarbonate d'ammonium sans source d'énergie	19,1	Indécelable	11,7

Le blanc, composé de l'inoculum, du milieu tamponné et du bicarbonate d'ammonium ne contient aucune source d'énergie. La production de gaz est presque nulle. Ceci confirme nos résultats précédents que le bicarbonate d'ammonium n'est pas utilisé comme source d'énergie, et que l'épuisement de l'azote et de l'énergie résiduel est total.

Nous pouvons ainsi conclure que le bicarbonate d'ammonium est une source d'azote qui stimule la croissance microbienne et la synthèse des protéines microbiennes chez les bactéries amylolytiques et pectinolytiques. Ainsi, une alimentation riche en amidon et en pectine permet une meilleure utilisation du bicarbonate d'ammonium qu'une alimentation riche en hémicellulose, en caséine ou cellulose.

Les pH finaux des milieux contenant la cellulose, le xylane, et le blanc (sans source d'énergie) ont augmentés comparés au pH initial (tableau 20).

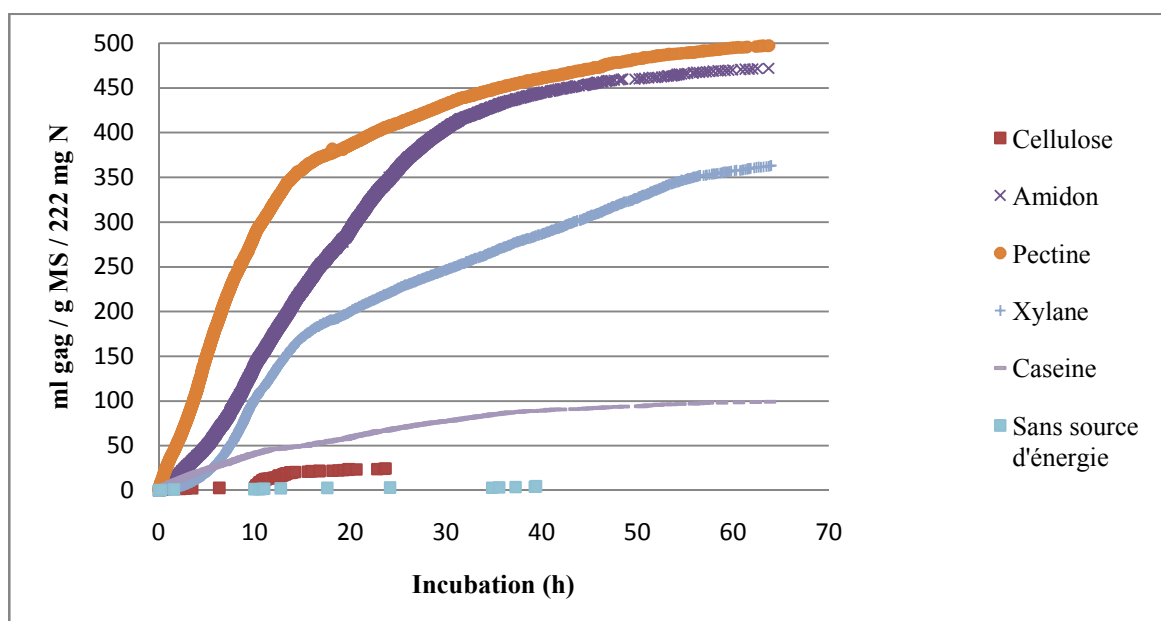
Tandis que les milieux avec l'amidon, la pectine, et la caséine leurs pH finaux n'ont pas vraiment varié.

**Tableau 20** : pH finaux après fermentation des sources d'énergie en présence du bicarbonate d'ammonium

Sources d'azote et sources d'énergie	pH initial	pH final	$\Delta$ pH
Bicarbonate d'ammonium + cellulose	6,83	7,02	-0,19
Bicarbonate d'ammonium + amidon		6,55	0,28
Bicarbonate d'ammonium + pectine		6,74	0,09
Bicarbonate d'ammonium + xylane		7,22	-0,39
Bicarbonate d'ammonium + caséine		6,9	-0,07
Bicarbonate d'ammonium sans source d'énergie		7,02	-0,19

### 5.2.Effet du nitrate de potassium

Durant la phase de fermentation, les pectinolytiques et les amylolytiques sont les groupes bactériens qui utilisent le mieux le nitrate de potassium comme source d'azote, sans temps de latence. Le volume de gaz maximal est produit par les pectinolytiques 497,4 ml suivi par les amylolytiques 491,9 ml (figure 25).



**Figure 25** : Effet du nitrate de potassium comme source d'azote sur les différents groupes bactériens du rumen

Quant aux xylanolytiques, ce groupe bactérien utilise également le nitrate de potassium sans avoir besoin d'un temps de latence, et produisent 358,8 ml de gaz. Suivis des proteolytiques qui utilisent faiblement le nitrate de potassium, sans temps de latence donnant que 99 ml de gaz (tableau 21).

**Tableau 21** : Caractéristiques cinétiques de l'effet du nitrate de potassium sur les différents groupes bactériens du rumen

Sources d'azote et sources d'énergie	Temps de latence	Pente	Volume max
Nitrate de potassium + cellulose	0,08	Indécelable	24,6
Nitrate de potassium + amidon	0,03	Forte	471,9
Nitrate de potassium + pectine	0,01	Très forte	497,4
Nitrate de potassium + xylane	0,18	Forte	363
Nitrate de potassium + caséine	0,02	Très faible	99
Nitrate de potassium sans source d'énergie	0,1	Indécelable	5,5

Les cellulolytiques n'utilisent presque pas le nitrate de potassium comme source d'azote. Bien au contraire, cette source d'azote semble inhibe leur activité métabolique ne donnant que 24,6 ml de gaz.

Le blanc sans source d'énergie avec le nitrate de potassium a produit 5,5 ml de gaz, sans temps de latence. Comme déjà décrit, le nitrate de potassium n'est pas utilisé comme source d'énergie (figure 23), cette infime production peut être due au peu d'énergie résiduelle restante qui a permis son utilisation. On ne dispose pas d'analyse qui nous permet de dire si réellement tout l'azote et l'énergie résiduels ont été métabolisés.

Le nitrate de potassium est donc une source d'azote qui ne favorise pas la croissance microbienne des cellulolytiques, qui est le groupe le plus important étant donné l'abondance de la cellulose dans les végétaux, qui constituent l'intégralité de l'alimentation du bétail en Algérie. Par ailleurs, les pectinolytiques, les amilolytiques et les xylanolytiques arrivent à l'utiliser malgré sa toxicité.

Après 68 h de fermentation, le pH final des milieux ayant produit le volume de gaz le plus important, à savoir l'amidon, la pectine et le xylane n'a pas vraiment varié par rapport au pH initial.

**Tableau 22** : pH finaux après fermentation des sources d'énergie en présence du nitrate de potassium

Sources d'azote et sources d'énergie	pH initial	pH final	$\Delta$ pH
Nitrate de potassium + cellulose	6,81	6,91	-0,73
Nitrate de potassium + amidon		6,78	0,03
Nitrate de potassium + pectine		6,89	-0,08
Nitrate de potassium + xylane		6,85	-0,08
Nitrate de potassium + caséine		6,91	-0,1
Nitrate de potassium sans source d'énergie		6,97	-0,16

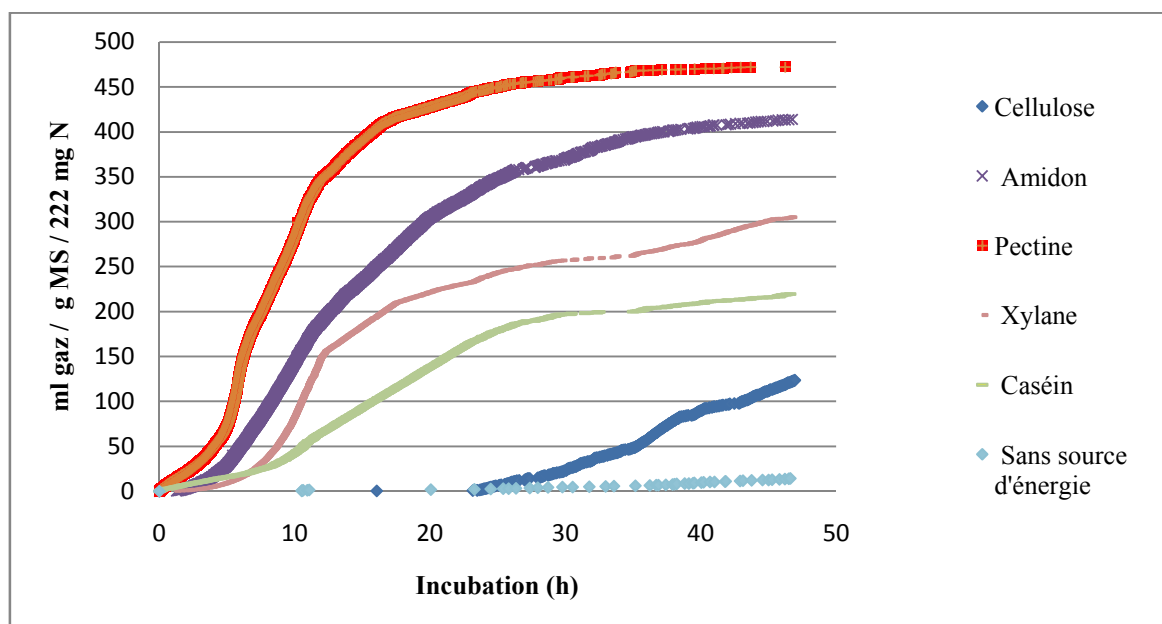
Après 68 h de fermentation, le pH final des milieux ayant produit le volume de gaz le plus important, à savoir l'amidon, la pectine et le xylan n'a pas vraiment varié par rapport au pH initial.

Ceux avec la cellulose, la caséine et le blanc (avec le nitrate de potassium) ont produit peu de gaz, et leurs pH finaux ont légèrement augmentés (tableau 22), à cause de la lyse cellulaire.

## 6. Effet des sources d'azote organique sur les principaux groupes bactériens du rumen

### 6.1. Effet du glutamate de sodium

Les pectinolytiques sont le groupe bactérien qui utilise le mieux le glutamate de sodium comme source d'azote. La production de gaz démarre rapidement, sans temps de latence et attend un volume maximum de 452,1 ml (figure 26).



**Figure 26 :** Effet du glutamate de sodium comme source d'azote sur les différents groupes bactériens du rumen

Les amylolytiques l'utilisent aussi sans avoir besoin d'un temps de latence, ils produisent 414 ml de gaz. Les xylanolytiques et les proteolytiques utilisent également le glutamate de sodium sans temps de latence. Ils produisent un volume de gaz de 305 et 219,3 ml respectivement (tableau 23), ce qui est clairement plus bas que ce que produisent les deux groupes bactériens précédents.

**Tableau 23 :** Caractéristiques cinétiques de l'effet du glutamate de sodium sur les différents groupes bactériens du rumen

Sources d'azote et sources d'énergie	Temps de latence (h)	Pente	Volume max (ml)
Glutamate de sodium cellulose +	16,06	Très faible	123,6
Glutamate de sodium amidon +	1,27	Forte	414
Glutamate de sodium pectine +	0,03	Très forte	472,2
Glutamate de sodium xylane +	2,2	Forte	311,1
Glutamate de sodium + caséine	0,04	Faible	219,3
Glutamate de sodium sans source d'énergie	10,53	Indécelable	14,1

Contrairement aux autres groupes bactériens, les cellulolytiques démarrent avec un temps de latence de 16.6 h et produisent un volume de gaz minimal de 117,6 ml. Le glutamate de sodium ne semble pas représenter une source d'azote stimulante pour la croissance des cellulolytiques.

Le blanc sans source d'énergie avec le glutamate de sodium a produit 14,1 ml de gaz avec un temps de latence de 10,53 h, ce qui confirme le résultat précédent (figure 23) que le glutamate de sodium est utilisé aussi comme source d'énergie.

Le glutamate de sodium est une source d'azote qui stimule la croissance microbienne, ainsi que la synthèse des protéines microbiennes chez les bactéries pectinolytiques, amylolytiques, xylanolytiques et protéolytiques, mais faiblement chez les cellulolytiques. De ce fait, une alimentation riche en pectine, amidon, xylan, ou caséine permet une bonne utilisation du glutamate de sodium s'il est additionné comme source alternative d'azote.

Après 48 h de fermentation, le pH final des milieux additionnés soit d'amidon, de pectine, de xylane ou de cellulose a baissé par rapport au pH initial (tableau 24).

**Tableau 24 :** pH finaux après fermentation des sources d'énergie en présence du glutamate de sodium

Sources d'azote et sources d'énergie	pH initial	pH final	$\Delta$ pH
Glutamate de sodium + cellulose	6,88	5,8	1,08
Glutamate de sodium + amidon		4,66	2,22
Glutamate de sodium + pectine		5,34	1,54
Glutamate de sodium + xylane		5,45	1,43
Glutamate de sodium + Caséine		6,63	1,43
Glutamate de sodium Sans source d'énergie		6,53	0,35

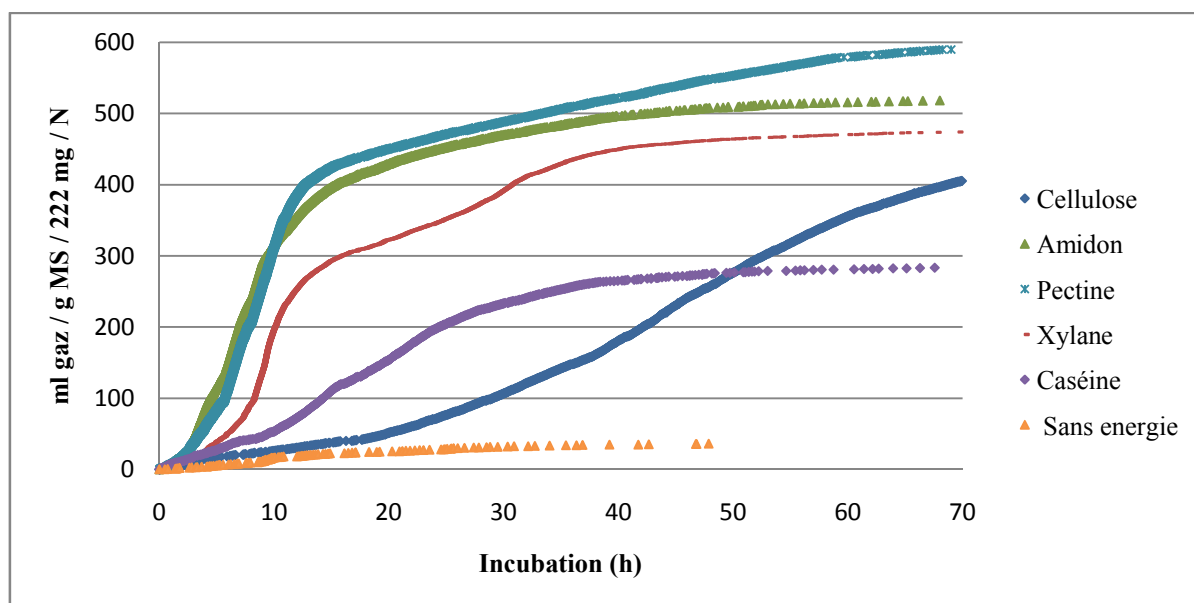
En effet, la dégradation des polymères libère du gaz et des acides gras volatils (AGV). Selon Boye, (2014), le taux des AGV dépend du type de l'alimentation ainsi l'acide acétique est majoritaire en présence des fibres, et l'acide butyrique est majoritaire en présence de l'amidon ce qui acidifie le milieu.

Le pH du milieu avec la caséine, ainsi que celui du blanc (milieu sans source d'énergie avec du glutamate de sodium) n'a pas beaucoup changé de 6,88 à 6,63-6,53

respectivement, puisque la dégradation de la caséine ne produit pas d'AGV ce qui évite la chute de pH. D'autre part, le glutamate de sodium utilisé également comme source d'énergie a permis une croissance microbienne. La phase de la lyse cellulaire n'est encore pas atteinte ce qui a préservé le pH du milieu.

## 6.2. Effet de l'extrait de levure

L'extrait de levure a également favorisé les pectinolytiques et les amylolytiques. Aucun temps de latence n'a été observé et les volumes de gaz obtenus correspondent respectivement à 606,6 et 517,8 ml (figure 27).



**Figure 27 :** Effet de l'extrait de levure comme source d'azote sur les différents groupes bactériens du rumen

Les xylanolytiques semblent aussi bien utiliser l'extrait de levure mais avec une vitesse de production moyenne donnant un volume de 473,7 ml de gaz. Les protéolytiques et les cellulolytiques l'utilisent faiblement sans temps de latence donnant des volumes de gaz de 283,2 ml pour les protéolytiques et de 411,9 ml pour les cellulolytiques (tableau 25). Ces deux groupes bactériens utilisent l'extrait de levure mieux que les trois autres sources d'azote (glutamate de sodium, bicarbonate d'ammonium, nitrate de potassium).

**Tableau 25 :** Caractéristiques cinétiques de l'effet de l'extrait de levure sur les différents groupes bactériens du rumen

Sources d'énergie et source d'azote	Temps de latence	Pente	Volume max
Cellulose+ extrait de levure	0,1	Moyenne	411,9
Amidon + extrait de levure	0,04	Très forte	517,8
Pectine + extrait de levure	0,01	Très forte	606,6
Xylane + extrait de levure	0,36	Très forte	473,7
Casein + extrait de levure	0,02	Faible	283,2
Sans source d'énergie+ extrait de levure	12,17	Indécelable	36

Le blanc sans source d'énergie avec l'extrait de levure n'a produit que 36 ml de gaz, ce qui confirme le résultat précédent que l'extrait de levure est utilisé aussi comme source d'énergie (Figure 23).

Ainsi, l'extrait de levure s'avère être une source d'azote qui stimule les principaux groupes bactéries du rumen, quelle que soit la source d'énergie fournies.

Après 72 h de fermentation, les milieux qui ont produit le maximum de gaz, ce sont acidifiés le plus par rapport au pH initial (tableau 26). Ceci peut être du à la libération des AGV issus de la dégradation respective de l'amidon, la pectine, la cellulose et le xylane.

Le milieu contenant la caséine et le blanc avec l'extrait de levure ont gardés des pH finaux proches du pH initial (6,21-6,62) car leurs dégradations ne produit pas d'AGV mais de l'ammoniac.

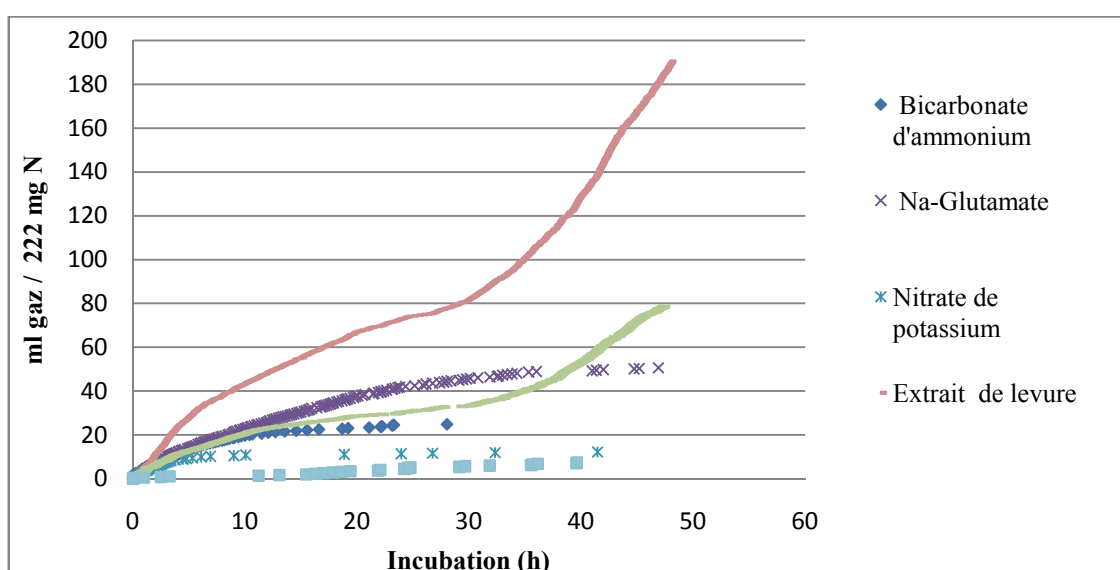


**Tableau 26 :** pH finaux après fermentation des sources d'énergie en présence d'extrait de levure

Sources d'énergie et source d'azote	pH initial	pH final	$\Delta$ pH
Cellulose + extrait de levure	6,69	5,83	0,86
Amidon + extrait de levure		5,25	1,44
Pectine + extrait de levure		5,70	0,99
Xylane + extrait de levure		5,84	0,85
Caséine + extrait de levure		6,21	0,85
Sans source d'énergie + extrait de levure		6,62	-0,41

## 7. Effet des différentes sources d'azote sur les bactéries cellulolytiques du rumen

Etant donné que les cellulolytiques sont le groupe bactérien le plus important du rumen, et le plus délicat à manipuler, un essai a été réalisé spécialement pour voir l'utilisation des quatre sources d'azote par les cellulolytiques. On observe que ces derniers sont fortement stimulés par l'extrait de levure qui leur apporte les facteurs de croissance dont ils ont besoin (que les autres sources d'azote ne fournissent pas), ils l'utilisent comme source d'azote, sans temps de latence (figure 28), donnant un volume de gaz maximum de 190,5 ml.



**Figure 28 :** Effet des sources d'azote sur les bactéries cellulolytiques du rumen

Quand la source d'azote est le glutamate de sodium, les cellulolytiques sont moins stimulés donnant seulement 50,7 ml de gaz.

Le nitrate de potassium et le bicarbonate d'ammonium quant à eux ne sont que faiblement utilisés par les cellulolytiques, et ne produisent que 12,5-24,9 ml de gaz respectivement. A comparé avec le milieu sans source d'azote avec la cellulose ou ils produisent 78,6 ml de gaz (tableau 27), les cellulolytiques semblent être inhibés en leur présence.

**Tableau 27** : Caractéristiques cinétiques de l'effet des sources d'azote sur les bacteries cellulolytiques du rumen

Sources d'énergie et sources d'azote	Temps de latence	Pente	Volume max
Cellulose + bicarbonate	0,1	Faible	24,9
Cellulose + glutamate de sodium	0,05	Faible	50,7
Cellulose + nitrate de potassium	0,03	Très faible	12,3
Cellulose + extrait de levure	0,02	Moyenne	190,5
Sans source d'azote + cellulose	0,01	Faible	78,6
Sans source d'azote - sans cellulose	0,05	indécelable	7,5

Le milieu sans source d'azote et sans source d'énergie a produit 7,5 ml de gaz, cette production peu être dû aux résidus d'énergie qui ne se sont pas totalement métabolisés dans la phase d'épuisement.

Nous pouvons en déduire que les sources d'azote organiques semblent favoriser l'activité métabolique des cellulolytiques alors que les sources d'azote inorganiques stimule moins leurs croissances.

Le tableau 28 montre clairement que les pH finaux des milieux testés n'ont pratiquement pas changé par rapport au pH initial, La faible production de gaz a permis de garder un pH stable.

**Tableau 28** : pH finaux après fermentation de la cellulose en présence des sources d'azote

Sources d'énergie et sources d'azote	pH initial	pH final	$\Delta$ pH
Cellulose + bicarbonate d'ammonium	6,74	6,98	-0,24
Cellulose + glutamate de sodium		6,89	-0,15
Cellulose + nitrate de potassium		6,96	-0,22
Cellulose + extrait de levure		6,70	0,04
Cellulose + sans source d'azote		6,73	0,01
Sans cellulose + sans source d'azote		6,91	-0,17

**Tableau 29** : Tableau récapitulatif des volumes de gaz produits par les différents groupes bactériens du rumen durant la fermentation des différentes sources d'énergie en présence des différentes sources d'azote

Sources d'azote	Sources d'énergies					Sans énergie (témoin)
	Cellulose	Amidon	Pectine	Xylane	Caséine	
Bicarbonate d'ammonium	22,9	333,7	350,8	277,3	211,9	11,7
Nitrate de potassium	24,6	471,9	497,4	363	99	5,5
Glutamate du sodium	123,6	414	472,2	311,1	219,3	14,1
Extrait de levure	411,9	517,8	606,6	473,7	283,2	36

Les volumes de gaz produits par les cellulolytiques varient d'un minimum de 22,9 ml avec le bicarbonate d'ammonium comme source d'azote à un maximum de 411,9 ml avec l'extrait de levure, passant par des volumes intermédiaires de 24 ml avec le nitrate de potassium à 123,6 ml avec le glutamate de sodium (tableau 29). Les amylolytiques ont produits un volume minimum de 333,7 ml avec le bicarbonate d'ammonium, et un volume maximum avec de 517,8 ml avec l'extrait de levure, ayant des volumes intermédiaires de 414-471,9 ml respectivement avec le glutamate de sodium et le nitrate de potassium. Les pectinolytiques ont produits un volume minimum de 350,8 ml avec le bicarbonate d'ammonium, et un volume maximum avec de 606,6 ml avec l'extrait de levure, ayant des volumes intermédiaires de 472,2-497,4 ml respectivement avec le glutamate de sodium et

le nitrate de potassium. . Les xylanolytiques ont produits un volume minimum de 277,3 ml avec le bicarbonate d'ammonium, et un volume maximum avec de 473,7 ml avec l'extrait de levure, ayant des volumes intermédiaires de 311,1-363 ml respectivement avec le glutamate de sodium et le nitrate de potassium. . Les pectinolytiques ont produits un volume minimum de 350,8 ml avec le bicarbonate d'ammonium, et un volume maximum avec de 606,6 ml avec l'extrait de levure, ayant des volumes intermédiaires de 472.2-497,4 ml respectivement avec le glutamate de sodium et le nitrate de potassium. . Les protéolytiques ont produits un volume minimum de 99 ml avec le nitrate de potassium, et un volume maximum avec de 283,2 ml avec l'extrait de levure, ayant des volumes intermédiaires de 211,9-219,3 ml respectivement avec le bicarbonate d'ammonium et le glutamate de sodium. Le milieu sans source d'azote a produit un volume minimum de 5,5 ml avec le nitrate de potassium, et un volume maximum avec de 36 ml avec l'extrait de levure, ayant des volumes intermédiaires de 11,7-14,1ml respectivement avec le bicarbonate d'ammonium et le glutamate de sodium.

**Tableau 30 :** Tableau récapitulatif des temps de latence mis par les différents groupes bactériens du rumen pour fermenter les différentes sources d'énergie en présence des différentes sources d'azote

Sources d'azote	Sources d'énergies					Sans énergie (témoin)
	Cellulose	Amidon	Pectine	Xylane	Caséine	
Bicarbonate d'ammonium	0,03	0,02	0,01	0,04	0,14	19,1
Nitrate de potassium	0,08	0,03	0,01	0,18	0,02	0,1
Glutamate du sodium	16,06	1,27	0,03	2,2	0,04	10,53
Extrait de levure	0,1	0,04	0,01	0,36	0,02	12,17

Les temps de latence obtenus par les cellulolytiques varient d'un minimum de 0,03 h avec le bicarbonate d'ammonium à un maximum de 16,06 h avec le glutamate de sodium, ayant des valeurs intermédiaires de 0,08 h avec le nitrate de potassium et 0,1 h avec l'extrait de levure. Pour les amylolytiques ils varient d'un minimum de 0,02 h avec le bicarbonate d'ammonium à un maximum de 1,27 h avec le glutamate de sodium, ayant des valeurs intermédiaires de 0,03 h avec le nitrate de potassium et 0,04 h avec l'extrait de levure. Pour les pectinolytiques ils varient d'un minimum de 0,01 h avec le bicarbonate d'ammonium, le nitrate de potassium et l'extrait de levure à un maximum de 0.03 h avec

le glutamate de sodium. Pour les xylanolytiques ils varient d'un minimum de 0,04 h avec le bicarbonate d'ammonium à un maximum de 2,2 h avec le glutamate de sodium, ayant des valeurs intermédiaires de 0,18 h avec le nitrate de potassium et 0,36 h avec l'extrait de levure. Pour les protéolytiques ils varient d'un minimum de 0,02 h avec le nitrate de potassium et l'extrait de levure à un maximum de 0,14 h avec le bicarbonate d'ammonium, ayant une valeur intermédiaire de 0,04 h avec le glutamate de sodium. Le temps de latence du milieu sans source d'azote varie d'un minimum de 0,1 h avec le nitrate de potassium, à un maximum de 19,1 h avec le bicarbonate d'ammonium ayant des valeurs intermédiaires de 10,53 h avec le glutamate de sodium et 12,17 h avec l'extrait de levure.

**Tableau 31 :** Tableau récapitulatif des pentes obtenues après fermentation des différentes sources d'énergie en présence des différentes sources d'azote par les groupes bactériens du rumen

Sources d'azote	Source d'énergie					
	Cellulose	Amidon	Pectine	Xylane	Caséine	Sans énergie (témoin)
Bicarbonate d'ammonium	Faible	Forte	Forte	Faible	Faible	Indécelable
Nitrate de potassium	indécelable	Forte	très forte	Forte	Très faible	Indécelable
Glutamate du sodium	Très faible	Forte	très forte	Forte	Faible	Indécelable
Extrait de levure	Moyenne	Très forte	Très forte	Très forte	Faible	Indécelable

Les pentes de production de gaz observées, varient chez les cellulolytiques d'indécelable avec le nitrate de potassium à très forte avec le glutamate de sodium. Chez les amylolytiques elles varient de très forte avec l'extrait de levure à forte avec le bicarbonate de sodium, le nitrate de potassium et le glutamate de sodium. Chez les pectinolytiques elles varient de très forte avec l'extrait de levure le nitrate de potassium et le glutamate de sodium à forte avec le bicarbonate d'ammonium. Chez les xylanolytiques elles varient de faible avec le bicarbonate d'ammonium à très forte avec l'extrait de levure. Chez les protéolytiques elle varie de faible avec le bicarbonate d'ammonium, le glutamate de sodium et l'extrait de levure. Le milieu sans énergie présente une pente indécelable.

**Tableau 32 :** Tableau récapitulatif des pH finaux mesurés après fermentation des différentes sources d'énergie en présence des différentes sources d'azote

Sources d'azote	source d'énergie					Sans énergie (témoin)
	Cellulose	Amidon	Pectine	Xylane	Caséine	
Bicarbonate d'ammonium	7,02	6,55	6,74	7,22	6,9	7,02
Nitrate de potassium	6,91	6,78	6,89	6,85	6,91	6,97
Glutamate du sodium	5,8	4,66	5,34	5,45	6,63	6,53
Extrait de levure	5,83	5,25	5,7	5,84	6,21	6,62

Les pH finaux obtenus après fermentation, varient chez les cellulolytiques d'un minimum de 5,8 avec le glutamate de sodium et l'extrait de levure comme source d'azote à un maximum de 7,02 avec le bicarbonate d'ammonium. Chez les amylolytiques, ils varient d'un minimum de 4,66 avec le glutamate de sodium à un maximum de 6,78 avec le nitrate de potassium. Des valeurs intermédiaires de 5,25 sont obtenues avec l'extrait de levure et 6,55 avec le bicarbonate d'ammonium. Chez les pectinolytiques le pH varie d'un minimum de 5,34 avec le glutamate de sodium à un maximum de 6,89 avec le nitrate de potassium avec des valeurs intermédiaires de 5,7 avec l'extrait de levure et 6,74 avec le bicarbonate d'ammonium. Chez les xylanolytiques il varie d'un minimum de 5,45 avec le glutamate de sodium à un maximum de 7,22 avec le bicarbonate d'ammonium avec des valeurs intermédiaires de 5,84 avec l'extrait de levure et 6,85 avec le nitrate de potassium. Et enfin avec les protéolytiques, le pH des varie d'un minimum de 6,21 avec l'extrait de levure à un maximum de 6,9 avec le bicarbonate d'ammonium, le nitrate de potassium avec une valeur intermédiaire de 6,63 avec le glutamate de sodium. Le milieu sans source d'azote présente des pH qui varient d'un minimum de 6,53 avec le glutamate de sodium à un maximum de 7.02 avec le bicarbonate d'ammonium et des valeurs intermédiaires de 6,62 avec l'extrait de levure et 6,97 avec le nitrate de potassium.

# **Conclusion**

### Conclusion

A la lumière des résultats obtenus dans notre étude, nous pouvons conclure que les différents groupes bactériens du rumen dégradent rapidement les polymères végétaux notamment la pectine, l'amidon et l'hémicellulose et se procurent instantanément l'énergie dont ils ont besoin pour l'utilisation des différentes sources d'azote. Inversement, les espèces bactériennes utilisant la cellulose et la caséine, obtiennent plus lentement leur énergie à partir de ces deux polymères. Ceci est dû à la complexité de dégradation de ces deux polymères. De ce fait, les cellulolytiques et les protéolytiques ont plus de difficulté à utiliser les sources d'azote inorganique, ce qui se reflète sur le volume de gaz produit ainsi que le pH final obtenu après fermentation.

D'autres part nous avons constaté que les sources d'azote exercent des effets stimulants différents selon leur nature. Ainsi, les sources d'azote organique stimulent plus l'activité métabolique des microorganismes du rumen que les sources inorganiques.

Pour les premières, l'extrait de levure apparaît avoir plus d'effet que le glutamate de sodium, en particulier sur les cellulolytiques qui ont produit des volumes de gaz plus élevés qu'avec les autres sources d'azote. Alors que pour les sources d'azote inorganique, l'effet du bicarbonate d'ammonium est plus important que celui du nitrate de potassium. Ce dernier semble avoir même un effet inhibiteur sur l'activité métabolique des microorganismes, en particulier chez les groupes cellulolytique et protéolytique.

Ce travail constitue une première approche pour étudier les combinaisons possibles entre source d'azote et source d'énergie les mieux utilisées par la microflore ruminale. Il doit être complété par des études *in vivo* afin de bien cerner ces effets sur l'animal hôte.



# Références

# **Références bibliographiques**

1. **Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. and Walter P., 1986.** Biologie Moléculaire de la cellule. Flammarion. Paris. 4: pp 114-1204.
2. **Bach A., Calsamiglia S. and Stern M. D. 2005.** Nitrogen Metabolism in the Rumen. *American Dairy Science Association*.88: pp 9-21.
3. **Belbis G. H. 2007.** Flore du rumen : origine, évaluation, composition, conséquences physiopathologique. Thèse de doctorat vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort. Pp 17-135.
4. **Bonnefont C. 2008.** Le potentiel redox et le milieu ruminal. Mémoire de master. Ecole nationale de vétérinaire. Toulouse. Pp 25.
5. **Bourghoud N. 1984.** Etude comparative de la flore du rumen de deux types d'agneaux algériens. Thèse de Magistère en biochimie appliquée. Université de Constantine.
6. **Boy M. 2014.** Etude *in sacco* de la dégradation ruminal des fibres et des matières azotées de fourrages fertilisés avec du fumier traité ou non par les bacteriolit. Thèse de doctorat. Université Toulouse. Pp 119.
7. **Briki K. and Debab S. 2009.** Etude microbiologique de la microflore ruminale des ovins, Méthanogènes et additifs alimentaires. Mémoire en ligne. Université Mohamed Boudiaf, MSila Algérie.
8. **Cheng K. J., Akin D. E. and Costerton J. W. 1977.** Rumen bacteria: interaction with particulate dietary components and response to dietary variation. *Fed. Proc* 36: pp 193-197.
9. **Cheng K. J., Hironaka R., Jones G. A., Nicas T. and Costerton J. W. 1976.** Frothy feedlot bloat in cattle: production of extracellular polysaccharides and development of viscosity in cultures of *Streptococcus bovis*. *Canadian journal of microbiology* 22: pp 450-459.
10. **Cheng K. J. and Costerton J. W. 1980.** Adherent rumen bacteria-their role in the digestion of plant material, urea and epithelial cells. In: Ruchebusch Y, Tyivend P, editors. Digestive physiology and metabolism in ruminants. Pp 227-250.
11. **Chesson A. and Forsberg C. W. 1988.** Polysaccharide Degradation by Rumen Microorganisms. In: Hobson PN, editors. The rumen microbial ecosystem. *Elsevier Science Publisher* 2: pp 251-527.
12. **Cuvelir C., Dufrasne I. and Dehority B. A. 2014.** Livret de l'agriculture. L'alimentation de la vache laitière : Aliments, calculs de ration, indicateurs d'évaluation des déséquilibres de la ration et pathologies d'origine nutritionnelle. Pp 105.

13. **Dehority B. A. 1991.** Effects of microbial synergism on fibre digestion in the rumen. *Proceedings of the Nutrition Society* 50 : pp 419-439.
14. **Dehority B. A. and Tirabasso P. A. 2001.** Effect of feeding frequency on bacterial and fungal concentrations, pH, and other parameters in the rumen. *Journal of animal sciences* 79: pp 2908-2912.
15. **Demeyer D. and Fievez V. 2000.** Ruminants et environnement: la méthanogènes. *Annales de Zootechnie. Pp* 49, 95-112.
16. **Dinsdale D., Cheng K. J., Wallace R.J. and Goodlad R.A. 1980.** Digestion of epithelial tissues of the rumen wall by adherent bacteria in infused and conventionally fed sheep. *Applied and environmental microbiology* 39. pp 1059-1066.
17. **Djebbara M. 2008.** Durabilité et polyptique de l'élevage en Algérie. Le cas du bovin laitier. Colloque international « Développement durable des productions animales : enjeux, évaluation et perspectives », Alger.
18. **Dusart C. 2014.** La digestion ruminale : Mise en place d'un modèle d'étude in vitro à long terme en cultures batch. These de doctorates. Université Paul-Sabatier Toulouse. Pp 114.
19. **Eli S. and Freeman. 1957.** The Kinetics of the Thermal Decomposition of Potassium Nitrate and of the Reaction between Potassium Nitrite and Oxygen. *Journal of the American chemical society* 79 (4). pp 838-842.
20. **Emma Ransom-jones, David L., Jones, Alan J., McCarthy and James E. McDonald. 2012.** The fibrobacteres an important Phylum of cellulose-Degrading Bacteria. *Springer science microbial* 63: pp 267-281.
21. **Euzéby J. P. 2006.** Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire [en-ligne], [<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/garde.html>]).
22. **Fay J. P., Cheng K. J. and Hanna M. R. 1980.** *In vitro* digestion of bloat-safe and bloat-causing legumes by rumen microorganism's gas and foam production. *Journal of dairy Science* 63: pp 1273-1281.
23. **Fonty G., Gouet P., Jouany J. P. and Senaud J. 1987.** Establishment of the microflora and anaerobic fungi in the rumen of lambs. *Journal of General microbiology* 133: pp 1835-1843.
24. **Fonty G., Jouany G. P., Forano E. and Gouet P. 1995.** L'écosystème microbien du reticulo rumen. In : Nutrition des ruminants domestiques. Ingestion et digestion. INRA Editions Paris. Pp 299-347.
25. **Forsberg C. W., Cheng K. J. and White B. A. 1997.** Polysaccharide degradation in the rumen and large intestine. In: RI Mackie and BA White Eds. *Gastrointestinal Microbiology*, Chapman and Hall. New York. Pp 319-379. 676.

26. **Goad D. W., Goad C.L. and Nagaraja T.G. 1998.** Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. *Journal of animal science* 76 : pp 234-241.
27. **Grenet E. and Besle J. 1991.** Microbes and fibre degradation, in Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion. Edition Quac. Pp 107-129.
28. **Jarrige R., Grenet E., Demarquilly C. and Besle. 1995.** Les constituants de l'appareil végétatif des plants fourragers. In : Nutrition des ruminants Domestiques: Ingestion et Digestion. INRA Edition Quae. Pp 25-81.
29. **Jouany J. P. 1994.** Les fermentations dans le rumen et leur optimisation. INRA Productions animales. *Archive-ouverts.fr* 7 (3): pp 207-225.
30. **Jouany J. P. 2000.** La digestion chez les camélidés : comparaison avec les ruminants. *INRA Production animales* 13 : pp 165-176.
31. **Khenaka K. 2011.** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogènes ruminale chez l'ovin. Biotechnologies microbiennes. Université Mentouri Constantine. Pp 13.
32. **Koike S. P., Kobayashi Y. and Tanaka K. 2003.** Kinetics of *in sacco* fiber-attachment of representative ruminal cellulolytic bacteria monitored by competitive. *PCR. Journal of dairy Science* 86: pp 1429-1435.
33. **Krause D. O., Denman S.E., Mackie R.I., Morrison M., Rae A. L., Attwood G. T. and Sweeney C. S. 2003.** Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology and genomics. *FEMS Microbiology. Rev:* 27 pp 663-693.
34. **Krumholz L. R., Forsberg C. W. and Veira D.M. 1983.** Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa. *Canadian journal of Microbiology* 29: pp 676.
35. **Loliger J., 2000.** Function and importance of Glutamate and bicarbonate d'ammonium for Savory Foods. *Journal of Nutrition, vol. 130*, no 4s Suppl: 915s-920s.
36. **Mead L. J. and Jones G. A. 1981.** Isolation and presumptive identification of adherent epithelial bacteria (Epimural bacteria) from the ovine rumen. *Environ Microbial: 41*, pp 1020-1028.
37. **Ogimoto K. and Lmai S. 1981.** Atlas of rumen microbiology. Japanese Society Press. Tokyo. Pp 231.
38. **Povova M. 2011.** Structure et activité de la communauté des Archeae méthanogènes du rumen en relation avec la production de méthane par les ruminants. Thèse doctorat. Université Blaise Pascal Toulouse. Pp 264.

- 39. Reis D., Vian B. and Bajon C. 2006.** Le monde des fibres. Edition Belin, Paris. Pp 17-334.
- 40. Rey M. 2012.** Implantation du microbiote et mise en place des fonctions du rumen chez le veau de race laitière et l'effet de la supplémentation en levures vivantes. Thèse de doctorat, Université INP Toulouse. Pp 323.
- 41. Russel L., Jones R. and Stewa G. 1986.** The genetic modification of brewer's yeast and other microbial yeast strains. Dans: *Biotechnology and Food*. Labwa, Noyés Publications, Park Ridge, NI, Etats-Unis. Pp 172.
- 42. Sauvant D., Giger-Reverdin S. et Meschy F. 2006.** Le contrôle de l'acidose ruminal latente. *INRA Productions Animales (19)2*, pp 69-78.
- 43. Senoussi A. 2008.** Caractérisation de l'élevage bovin laitier dans le Sahara : situation et perspectives de développement. Cas de région de Guerra- colloque international : Développement durable des productions animales : enjeux, évaluation et perspective.
- 44. Stewart C. S. and Bryant M. P. 1988.** The rumen bacteria. In Hobson PN, editors. *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Science Publisher, New York 2: pp 21-527.
- 45. Thivend P. G., Fonty J. P., Jouany M. D. and Gouet P. H. 1985.** Le fermenteur rumen. *Reproduction Nutrition Développement*. Pp 729-753.
- 46. Tiret L. 2001.** Physiologie de la digestion. Polycopié, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Physiologie et Thérapeutique. Pp 69.
- 47. Yanagita K., Kamagata Y., Kawaharasaki M., Suzuki T., Nakamura Y. and Minato H. 2000.** Phylogenetic analysis of methanogens in sheep rumen ecosystem and detection of methanomicrobium mobile by Fluorescence in Situ Hybridization. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry: 64(8)*, pp 1737-1742.
- 48. Yang C., Rooke J. A., Cabeza I. and Wallace R. J. 2016.** Nitrate and Inhibition of Ruminal Methanogenesis: Microbial Ecology, Obstacles, and Opportunities for Lowering Methane Emissions from Ruminant Livestock. *Front Microbiol 7*: pp 1-132.

# Résumé

## Résumé

Le rumen, organe spécifique de ces ruminants, est l'un des milieux les plus riches en microorganismes. Ces derniers sont le principal agent de dégradation de tous les constituants végétaux consommés. Notre étude s'intéresse aux groupes bactériens impliqués dans ce processus dans l'objectif d'améliorer leur fonctionnement ce qui se répercute positivement sur la santé de l'animal.

Pour atteindre cet objectif, une étude bactériologique d'un échantillon ruminal bovin a été réalisée. Les principaux groupes bactériens ont été stimulés par l'ajout de différentes sources d'énergie (amidon, cellulose, pectine..) combinées à différentes sources d'azote organique et inorganique.

Les résultats obtenus montrent clairement que les groupes bactériens du rumen qui dégradent rapidement les polymères végétaux tels que la pectine, l'amidon et l'hémicellulose, se procurent rapidement de l'énergie qui leur permet d'utiliser les différentes sources d'azote. Les groupes bactériens qui dégradent la cellulose et les protéines obtiennent plus lentement l'énergie à cause des difficultés de la dégradation de la cellulose et des protéines et présentent donc plus de difficulté à utiliser les différentes sources d'azote inorganiques. Les sources d'azote organiques stimulent plus l'activité métabolique des microorganismes du rumen que les sources inorganiques. L'extrait de levure stimule plus que le glutamate de sodium et le bicarbonate d'ammonium plus que le nitrate de potassium qui présente même une inhibition de l'activité métabolique en particulier chez le groupe des cellulolytiques et des protéolytiques.



## Abstract

The significance of ruminants in human life is one of the main sources of food (meat and milk), improves their lifestyle, particularly in power proves one of the concerns of researchers in veterinary and biological sciences. Rumen specific body of these animals is one of the richest environments in microorganisms. These are the main agent of degradation of all consumed plant constituents. Our study focuses on the bacterial groups involved in this process with the aim of improving their functioning which positively affects the health of the animal.

To achieve this goal, a bacteriological study of a bovine rumen sample was performed. The major bacterial groups were stimulated by the addition of different sources of energy (starch, cellulose, pectin ...) combined various organic and organic nitrogen sources was tested.

The results clearly show that the bacterial groups rumen rapidly degrade plant polymers such as pectin, starch and hemicellulose quickly provide energy that allows them to use different sources of nitrogen. The bacterial groups that degrade cellulose and proteins get slower energy because of the difficulties of the degradation of cellulose and proteins and therefore have more difficulty using different inorganic nitrogen sources. Organic nitrogen sources stimulate more metabolic activity of ruminal microorganisms that inorganic sources. Yeast extract stimulates more as sodium glutamate and ammonium bicarbonate over potassium nitrate which has the same inhibition of metabolic activity especially in the group of cellulolytic and proteolytic.

## ملخص

أهمية المجترات في حياة الإنسان هي واحدة من أهم مصادر الغذاء (اللحوم والحليب)، وتحسين أسلوب حياتهم، ولا سيما في المقدرات. يثبت واحدة من اهتمامات الباحثون في العلوم البيطرية والبيولوجية. الكرش هيئة محددة من هذه الحيوانات هي واحدة من أغنى البيئات في الكائنات الحية الدقيقة. هذه هي الوكيل الرئيسي لتدهور جميع المكونات النباتية المستهلكة. دراستنا تركز على المجموعات البكتيرية تشارك في هذه العملية بهدف تحسين أدائها مما يؤثر إيجابيا على صحة الحيوان.

ولتحقيق هذا الهدف، تم إجراء دراسة الجرثومية من عينة كرش. تم تحفز المجموعات البكتيرية الرئيسية عن طريق إضافة مصادر مختلفة من الطاقة (النشا والسليولوز والبكتين ..) جنبا إلى جنب تم اختبار العديد من مصادر النيتروجين العضوية لعضوية.

تظهر النتائج بوضوح أن المجموعات البكتيرية كرش تتحلل بسرعة الوحدات لنباتية مثل البكتين والنشا وهيميسيلولوز بسرعة توفير الطاقة التي تتيح لهم استخدام مصادر مختلفة من النيتروجين. المجموعات البكتيرية التي تحطم السليولوز والبروتينات للحصول على الطاقة بسبب صعوبات تهد يم السليولوز والبروتينات، وبالتالي صعوبة في استخدام مختلف مصادر النيتروجين بصفة بطيئة غير العضوية. تحفز مصادر النيتروجين العضوي النشاط الأيضي للكائنات الدقيقة كرش بصفة اكبر من المصادر غير العضوية. خلاصة الخميرة تحفز أكثر من الغلوتامات الصوديوم وبيكربونات الأمونيوم أكثر من نترات البوتاسيوم والذي له دور في تثبيط النشاط الأيضي بصفة خاصة في مجموعة. سيليلوتيك من وبروتوليتيك

Effet de la source d'azote sur l'activité métabolique des principaux groupes bactériens du rumen de bovin  
cas : bicarbonate d'ammonium et du nitrate de potassium

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Général et  
Biologie Moléculaire des Microorganismes

Vue l'importance des ruminants dans la vie humaine étant l'une des principales sources d'alimentation (viande et lait), l'amélioration de leur mode de vie, notamment en matière d'alimentation s'avère l'une des préoccupations des chercheurs en sciences vétérinaires et en biologie. Le rumen, organe spécifique de ces animaux, est l'un des milieux les plus riches en microorganismes. Ces derniers sont le principal agent de dégradation de tous les constituants végétaux consommés. Notre étude s'intéresse aux groupes bactériens impliqués dans ce processus dans l'objectif d'améliorer leur fonctionnement ce qui se répercute positivement sur la santé de l'animal.

Pour atteindre cet objectif, une étude bactériologique d'un échantillon ruminal bovin a été réalisée. Les principaux groupes bactériens ont été stimulés par l'ajout de différentes sources d'énergie (amidon, cellulose, pectine..) combinées où différentes sources d'azote organiques et inorganiques.

Les résultats obtenus montrent clairement que les groupes bactériens du rumen qui dégradent rapidement les polymères végétaux tels que la pectine, l'amidon et l'hémicellulose, se procurent rapidement de l'énergie qui leur permet d'utiliser les différentes sources d'azote. Les groupes bactériens qui dégradent la cellulose et les protéines obtiennent plus lentement l'énergie à cause des difficultés de la dégradation de la cellulose et des protéines et présentent donc plus de difficulté à utiliser les différentes sources d'azote inorganiques. Les sources d'azote organiques stimulent plus l'activité métabolique des microorganismes du rumen que les sources inorganiques. L'extrait de levure stimule plus que le glutamate de sodium et le bicarbonate d'ammonium plus que le nitrate de potassium qui présente même une inhibition de l'activité métabolique en particulier chez le groupe des cellulolytiques et des protéolytiques.

**Mots clés :** Source d'azote organique, source d'azote inorganique, flore ruminale bovine, activité métabolique, polymères.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et des Activités Microbiennes.

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** *KHELIFI Douadi* (Professeur- UFM Constantine).  
**Encadreur :** *HADDI Mohamed-Laid* (Professeur- UFM Constantine).  
**Examineur :** *KADEM Dhaou El Djabine* (Professeur- UFM Constantine).  
**Examinatrice :** *BENCHIHEUB Meriem* (MAA- UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 30/06/2016