



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 : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

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 :

Comparaison entre azote organique et inorganique portant sur la dégradation *in vitro* des sources d'énergie alternative par la microflore ruminale: cas des sources d'azote

Présenté et soutenu par : Azzouz Amira

Le : 10/07/2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Kadem Dhaou el Djabine* (Professeur- Université Constantine 1).

Rapporteur : *Haddi Mohamed-Laid* (Professeur - UFM Constantine 1).

Examinatrice : *Bellil Ines* (Maitre de conférence - UFM Constantine 1).

Année universitaire
2016 - 2017

Remerciements

Au nom du Tout Puissant Je remercie Dieu le Tout Puissant, qui m'a donné la force et le courage d'élaborer ce mémoire.

Je remercie mon encadreur Monsieur Haddi Mohamed-Laid professeur à l'université de Constantine qui m'a soutenue et conseillée durant le travail par ses compétences et sa droiture qui m'ont beaucoup aidé.

Au président de jury monsieur Kadem Dhaou el Djabine

A mon examinatrice Madame Bellil Ines qui consacre son temps à lire cet œuvre.

A mes collaboratrices Manel et Khaoula

Je remercie également Mme Lifa M. de m'avoir apporté son aide et de m'avoir consacré du temps ainsi que pour ses conseils et sa gentillesse.

Dédicace

A ma mère Zahira

“Qu’elle soit assurée de mon affection en reconnaissance de son amour, sa tendresse, de sa compréhension et surtout de son sacrifice”

A mon père Allaoua

“ A qui je ne saurais jamais exprimer toute ma reconnaissance qu’il trouve de ce travail l’accomplis de tous ses vœux et l’expression de ma profonde gratitude ainsi que le témoignage de mon amour et tendresse”

A ma sœur aînée Meriem, son mari et ses enfants que Dieu les garde

Ma petite sœur Lina

Tout particulièrement à mon frère Abd El Djalil que Dieu guide ses pas.

A mon fiancé Oussama

A tous mes amies : Khaoula, Manel, Hadjer.

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	----------

Chapitre I : Revue bibliographique

I L'écosystème ruminal.....	2
------------------------------------	----------

1.Les caractéristiques physico-chimiques de l'écosystème ruminal	2
---	----------

1.1L'anaérobiose.....	2
-----------------------	---

1.2La température.....	2
------------------------	---

1.3L'humidité.....	2
--------------------	---

1.4Le pH.....	2
---------------	---

1.5La pression osmotique.....	3
-------------------------------	---

1.6Le potentiel d'oxydo-réduction.....	3
--	---

1.7La phase gazeuse.....	3
--------------------------	---

2.La flore ruminale.....	3
---------------------------------	----------

2.1Les bactéries.....	3
-----------------------	---

2.1.1Les bactéries ruminales ont été classifiées en fonction de leur localisation dans le rumen	3
---	---

2.1.2Les bactéries ont été classées selon leur aptitude à dégrader et à fermenter les substrats.	4
--	---

2.2Les protozoaires.....	8
--------------------------	---

2.3Les champignons.....	8
-------------------------	---

2.4Les virus.....	9
-------------------	---

II.Les métabolismes dans le rumen	9
--	----------

1.La dégradation des glucides	10
--	-----------

1.1Les glucides pariétaux.....	11
--------------------------------	----

1.2Les glucides cytoplasmiques.....	15
-------------------------------------	----

2.La dégradation des matières azotées	17
--	-----------

III.Les sources d'azotées alternatives.....	18
--	-----------

1.Les sources d'azote inorganique	18
--	-----------

1.1Le bicarbonate d'ammonium.....	18
-----------------------------------	----

1.2Le nitrate de potassium.....	18
---------------------------------	----

2.Les sources d'azote organique.	19
--	-----------

2.1L'extrait de levure.....	19
-----------------------------	----

2.2Le glutamate de sodium.....	19
--------------------------------	----

IV. Les sources d'énergies alternatives	21
1. Les sources d'énergie fibreuses : les cardes	21
2. Les sources d'énergie non fibreuses : résidus d'oranges	22
V. Aspects environnementaux	23
1. La méthanogenèse	23

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel	24
1.1 Animal donneur du liquide ruminal	24
1.2 Les sources d'énergie	24
1.3 Les sources d'azote inorganique et organique	24
1.4 Préparation des résidus d'oranges.	24
1.5 Préparation des cardes.	25
2. Analyse des caractéristiques physico-chimiques du liquide ruminal	26
2.1 Le pH	26
2.2 La température du liquide ruminal.	26
2.3 Le taux de matière sèche du liquide ruminal	26
2.4 La teneur en matière organique et matière minérale du liquide ruminal	27
2.5 Les teneurs en matières sèche, organique et minérale des résidus d'oranges et des cardes.	28
3. Analyse des caractéristiques microbiologiques du liquide ruminal.	28
3.1 Coloration de Gram et analyse du rapport Gram+/Gram-	28
3.1.1 Préparation des colorants de Gram	28
3.2 Analyse morphologique de la flore bactérienne du liquide ruminal	29
4. Épuisement de l'azote et de l'énergie résiduels dans le liquide ruminal	29
5. Comment assurer la stérilisation et l'aseptisation	30
5.1 La réalisation du travail aseptique	30
5.2 La réalisation du travail stérile	30
6. La phase d'épuisement de l'inoculum et de fermentation des substrats	30
6.1 Réalisation des conditions d'anaérobiose	32
7. Phase de l'ajout des sources d'azote et des sources d'énergie	33
8. Mesure du pH après fermentation	33
9. Activité métabolique de la microflore ruminale	33

10.Acquisition des données	34
---	-----------

Chapitre III : Matériel et méthodes

1.Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum.....	35
1.1Le pH avant fermentation.....	35
1.2Le pH après fermentation des sources d'énergie	36
1.3La température.....	38
1.4Les caractéristiques physico-chimiques du liquide ruminal	39
2.Analyse microbiologique du liquide ruminal.....	40
2.1Analyse du rapport G+/G- de la flore bactériennes ruminale	40
2.2Analyse morphologique de la flore bactériennes ruminale	41
3.Analyse des caractéristiques des sources d'énergie	41
3.1Sources d'énergie non fibreuse : les résidus d'oranges.....	41
3.1.1Matière sèche	41
3.1.2Matière organique	42
3.1.3Matière minérale	42
3.2Sources d'énergie fibreuse : les cardes..	42
3.2.1Matière sèche.....	42
3.2.2Matière organique	42
3.2.3Matière minérale	43
4.Cinétique de dégradation des sources d'énergie en présence de différentes sources d'azote.	43
4.1Les sources d'azote comme source d'énergie	43
4.2Source d'énergie fibreuse : les cardes	45
4.3Source d'énergie non fibreuse : les résidus d'oranges	46
Conclusion	48
Référence bibliographique	49
Annexe.	I

Liste des tableaux

Tableau 01 : Caractéristiques de quelques bactéries du rumen.....	7
Tableau 02 : Classification systématique des protozoaires du rumen.....	8
Tableau 03: Principales espèces de champignons anaérobies isolés du tube digestif des ruminants.....	9
Tableau 04: Composition, toxicité et prix des sources d'azote alternatives.	20
Tableau 05: La classification de la plante Chardon-Marie	21
Tableau 06: La classification d' d'oranger Citrus sinensis	22
Tableau 07 : Composition chimique des résidus d'oranges et des cardes	25
Tableau 08 : Les solutions étalons et leurs composants.....	26
Tableau 09 : La coloration de Gram : composition et préparation des colorants.....	28
Tableau 10: Composition du milieu tamponné réduit.....	30
Tableau 11: pH du LRTQ, du milieu tamponné réduit et du milieu tamponné réduit inoculé et le milieu tamponné réduit inoculé après épuisement.	35
Tableau 12: variation du pH après 96 h de fermentation des cardes après épuisement de l'inoculum.....	36
Tableau 13: variation du pH après 96h de la fermentation des résidus d'oranges avec un inoculum épuisé.....	37
Tableau 14: variation du pH après 96 h de fermentation des différentes sources d'azotes avec inoculum épuisé.....	38
Tableau 15: Température (°C) du LRTQ, du milieu tamponné réduit, et du milieu tamponné réduit inoculé.....	38
Tableau 16: le pourcentage de la matière sèche, organique et minérale du liquide ruminal tel quel.....	39

Tableau 17: observation microscopique des bactéries G + et G – du liquide ruminal, tels quels, mixte, après filtration.	40
Tableau 18: Pourcentage de matière sèche, organique et minérale des résidus d'oranges.....	41
Tableau 19: Pourcentage de matière sèche, organique et minérale des cardes.....	42
Tableau 20: Comparaison du pourcentage de MS, MO et MM entre les résidus d'oranges et les cardes.....	43
Tableau 21: Caractéristiques de la cinétique de l'utilisation des sources d'azote comme source d'énergie.....	45

Liste des figures

Figure 1: Composition des aliments.....	10
Figure 2: Schéma de la dégradation des glucides dans le rumen.....	11
Figure 3: Structure de la molécule de cellulose	12
Figure 4: Représentation schématique de l'attaque enzymatique de la cellulose	12
Figure 5: Structure de l'hémicellulose.....	13
Figure 6: Représentation schématique de l'attaque enzymatique de l'hémicellulose.....	13
Figure 7: structure de la lignine.....	14
Figure 8: L'ensemble cellulose – hémicellulose – lignine	14
Figure 9: Structure de la pectine	15
Figure 10: Structure de l'amidon	16
Figure 11: Mécanisme de dégradation de l'amidon	16
Figure 12: Le métabolisme ruminal de l'azote	17
Figure 13: Structure du bicarbonate d'ammonium	18
Figure 14: Structure du nitrate de potassium	19
Figure 15: Structure du glutamate de sodium	19
Figure 16: Cardes en fleurs (Silybum marianuum).....	21
Figure 17: Oranger (Citrus sinensi).....	22
Figure 18 a : les cardes coupées.....	25
Figure 18 b : les cardes après séchage.....	25
Figure 18 c : les cardes écrasées.....	25
Figure 19: Matière sèche dans le dessiccateur	27
Figure 20 a : milieu tamponné oxydé.....	31
Figure 20 b : milieu tamponné au cours de la réduction.....	31

Figure 20 c: milieu tamponné réduit	31
Figure 21: l'appareil de mesure des gaz.....	34
Figure 22: Production de gaz par les sources d'azote utilisées comme source d'énergie..	44
Figure 23: production de gaz par la fermentation des cardes en présence des différentes sources d'azote.....	46
Figure 24: production de gaz par la fermentation des résidus d'orange en présence des différentes sources d'azote.....	47

Liste des abréviations

AA: acide aminé

ADF: Acid detergent fibre

ADICP: acid-detergent-insoluble crude protein

AGV: acide gras volatile

ANP : azote non protéique

ATP: Adenosine triphosphate

LRF: liquide ruminal filtré

LRTQ: liquide ruminal tels quel

MF : matière fraîche

MM : matière minérale

MO : matière organique

MS : matière sèche

Introduction

Introduction

Les ruminants sont des mammifères qui se nourrissent d'herbe et d'en tirer l'énergie nécessaire pour vivre, les bovins sont un bon exemple.

Le ministère de l'agriculture du développement rural, indique que le cheptel national tous types de ruminants confondus, dépasse les 34 millions de tête (42 % de bovins, 31 % d'ovins et 27 % de caprins), en 2010 (FAO, 2012). Dans la chaîne alimentaire humaine, les ruminants ont une grande importance, avec une production de viande de 76 millions de tonnes et une production laitière de 626 millions de tonnes en Algérie (FAO, 2012).

Les industries agroalimentaires produisent des millions de tonnes des résidus, qui sont rejetés. Ces résidus renferment une quantité d'énergie importante. Nous sommes capables d'alimenter les ruminants avec ces résidus afin d'augmenter leur énergie et ne pas le gaspiller, et ne pas polluer l'environnement.

Dans notre étude, nous avons utilisé comme source d'azote organiques l'extrait de levure et le glutamate de sodium, et comme sources d'azote inorganiques le nitrate de potassium et le bicarbonate d'ammonium pour étudier leurs effets sur les activités métaboliques des microorganismes du rumen des bovins *in vitro* avec différentes sources d'énergie (les résidus agroalimentaire : les résidus d'oranges, et une plante fibreuse : les cardes) dans des conditions d'anaérobiose.

*Chapitre I Revue
bibliographique*

Chapitre I**revue bibliographique****I. L'écosystème ruminal**

Le rumen est un écosystème microbien complexe composé de plusieurs catégories de populations microbiennes : bactéries, archaebactéries, protozoaires, champignons et virus (Khenaka, 2011).

1. Les caractéristiques physico-chimiques de l'écosystème ruminal**1.1 L'anaérobiose**

Le milieu ruminal est caractérisé par des conditions d'anaérobiose où l'apport en oxygène est très faible (Brugère H., 1983).

La plus part des bactéries du rumen sont des anaérobies strictes, mais il existe des bactéries qui sont des aérobies facultatives, ces derniers peuvent faire disparaître l'oxygène qui entre dans le rumen (Zened, 2011).

1.2 La température

La température ruminale est supérieure à la température du corps, elle est comprise entre 39°C et 41°C. Lorsque les fermentations sont très intenses elle peut atteindre 41°C (Zened, 2011).

1.3 L'humidité

L'humidité est en moyenne de l'ordre de 85% (Zened, 2011). La masse liquidienne est plus importante dans le rumen, elle peut être utilisée comme réserve pour l'organisme (Brugère, 1983).

1.4 Le pH

La valeur du pH du rumen est comprise dans une large gamme, entre 5.5 et 7.3. (Brugère, 1983). Le pH du rumen peut être diminué à moins de 5, lorsque la fermentation est rapide (Soltner, 1994).

1.5 La pression osmotique

La pression osmotique est proche de celle du sang, elle varie dans une gamme de 200 à 400 mosm/l (Brugère H. 1983).

1.6 Le potentiel d'oxydo-réduction

Le potentiel redox (rH) d'un rumen sain est négatif, il varie de – 150 mV à – 250 mV (Bonfont, 2008).

1.7 La phase gazeuse

La composition moyenne de l'atmosphère de rumen est la suivante (Briki et Debab ,2009) :

Le pourcentage de CO₂ dans le rumen est compris entre 60 à 65 %, ainsi que CH₄ 25 à 30 %, N₂ 6 à 9 %, O₂ 0,3 à 0,6 %, H₂ 0,1 - 0,3 %, tandis que le H₂S a un pourcentage de 0,01 %.

2. La flore ruminale

Les microorganismes du rumen se caractérisent par son extrême diversité, on trouve des bactéries, des protozoaires, des champignons, et aussi des bactériophages (Briki et Debab, 2009).

2.1 Les bactéries

Le rumen contient environ de 10⁹ à 10¹¹ cellules bactériennes par ml de jus de rumen, qui représentent la moitié (50 %) de la biomasse microbienne (Clos, 2011).

Il existe deux types de classification des bactéries :

- Classification en fonction de leur localisation dans le rumen.
- Classification selon leur fonction dans le rumen.

2.1.1 Les bactéries ruminales ont été classifiées en fonction de leur localisation dans le rumen

Les bactéries du rumen sont classifiées en quatre groupes en fonction de leur localisation (Fonty et Forano ,1999 ; Guillaume, 2007) :

A. Les bactéries vivant libres, associées à la phase liquide ruminale

Les bactéries libres dans le liquide ruminal sont entourées par glycocalyx, Le rôle de cette structure est la protection contre les bactériophages ou d'autres agents antibactériens (Cheng et *al.*, 1977).

B. Les bactéries associées avec les particules alimentaires

Elles représentent jusqu'à 75% de la population microbienne (Koike et *al.*, 2003). Ces bactéries jouent un rôle très important dans la dégradation des fibres végétales (Cheng et Costerton, 1980).

Les principales espèces bactériennes sont les bactéries cellulolytiques telles que *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* (Chesson and Forsberg, 1988).

C. Les bactéries associées à l'épithélium ruminal

La plus parts de ces bactéries sont des anaérobies facultatifs, de forme des diplocoques, des coques et des bacilles Gram positif (Dehority, 2001).

Ces bactéries jouent un rôle très important dans l'hydrolyse de l'urée qui diffuse à travers la paroi du rumen, la dégradation des cellules épithéliales et aussi l'élimination d'oxygène qui diffuse à travers la paroi du rumen depuis la voie sanguine (Thivend et *al.*, 1985).

D. Les bactéries attachées à la surface des protozoaires

La présence de ces bactéries est environ de 1 à 10% de la totalité de la flore ruminale, Le nombre des bactéries fixées sur chaque protozoaire dépend de la taille de ce dernier. Les espèces identifiées sont *Streptococcus bovis*, *Ruminococcus albus* et des bactéries méthanogènes (Allison et *al.*, 2007).

2.1.2 Les bactéries ont été classées selon leur aptitude à dégrader et à fermenter les substrats**• Les bactéries cellulolytiques**

Les bactéries cellulolytiques apparaissent dans le rumen trois à quatre jours après la naissance de l'animal (Fonty et *al.*, 1988 a). La population cellulolytique représente selon les études entre 4 et 9 % de la population bactérienne du rumen (Michalet-Doreau et *al.*, 2001).

Deux types de bactéries cellulolytiques sont trouvés dans le rumen :

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

- **Des bacilles** : *Fibrobacter succinogenes* et *Butyrivibrio fibrosolvans* (Belbis, 2007).

Le rôle essentiel de ces bactéries est la dégradation de la cellulose et ces produits d'hydrolyse (Fonty et al., 1988a).

- **Les bactéries hémicellulolytiques**

Les principales bactéries hémicellulolytiques sont *Butyrivibrio fibrisolvans*, *Prevotella ruminicola*, ainsi que les *Ruminococci* qui dégradent l'hémicellulose (Belbis, 2007).

Les bactéries hémicellulolytiques sont sensibles au pH acide, elles utilisent l'azote contenu dans l'ammoniac (Toutain, 2008).

- **Les bactéries pectinolytiques**

La bactérie pectinolytique par excellence est *Lachnospira multiparus* qui se présente sous la forme de bacilles incurvés Gram positif (Jouany, 1994).

Parmi les bactéries pectinolytiques : *Lachnospira multiparus*, *Butyrivibrio fibrisolvans*, *Prevotella ruminicola*, *Succinivibrio dextrinosolvans* et *Streptococcus bovis* (Tiret, 2001).

- **Les bactéries amylolytiques**

La plupart des amylolytiques sont sensibles aux antibiotiques, (Toutain, 2008).

Prevotella amylophilus, *Succinimonas amylolytica*, et *Streptococcus bovis* (Gram+) sont les bactéries dominantes dans la dégradation de l'amidon (Euzéby, 2006).

- **Les bactéries utilisatrices de glucides simples**

Un grand nombre d'espèces bactériennes ruminales sont capables de dégrader les glucides simples (Fonty et Chaucheyras, 2007).

Lorsque l'animal est alimenté avec des aliments riches en glucides rapidement fermentescibles, le milieu devient très acide et c'est dû à la prolifération des lactobacilles en compagnie de *Streptococcus bovis* (Amokrane, 2010).

- **Les bactéries protéolytiques**

Environ 30 à 50 % des espèces bactériennes du rumen présentent une activité protéolytique, mais cette fonction n'est pas dominante (Bourghoud, 1984).

Les espèces ayant une activité protéolytique intense sont *Ruminobacter*, *Amylophilus*, *Prevotella ruminicata*, *Butyrivibrio fibrisolvens* et *Setenomonas ruminantium*, peuvent utiliser les acides aminés comme source d'énergie (Dusart, 2014 ; Mebirouk, 2014).

- **Les bactéries lipolytiques**

Ces bactéries ont la capacité d'hydrolyser les lipides alimentaires et de produire le glycérol qui est rapidement fermenté en AGV et en acides gras libres (Thivend *et al.*, 1985).

Anaerovibrio lipolytica est la bactérie la mieux connue pour son activité lipolytique, cette bactérie n'hydrolyse que les lipides et ne fermente que le glycérol (Guillaume, 2007).

- **Les bactéries uréolytiques :**

Ces bactéries uréolytiques représentent 5 % des bactéries isolées du rumen. Elles jouent un rôle important dans le métabolisme de l'azote (Tiret, 2001)

Parmi ces bactéries : *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas sp*, *P. ruminicola*, *Ruminococcus bromii*, *Butyrivibrio sp* et *Treponema sp* (Tiret, 2001).

- **Les bactéries utilisatrices d'acides**

Un certain nombre de ces bactéries capable d'utiliser le lactate. Le pH optimum de fermentation du lactate est compris entre 6 et 6,5. Seules *M. elsdenii* continue son activité detoxifiante pour des pH inférieur à 5,5 (Guillaume, 2007).

- **Les Archaea (les bactéries méthanogènes)**

Les Archaea dans le rumen sont des microorganismes méthanogènes (Khenaka, 2011). Ce sont des bactéries anaérobies strictes, présentent environ 4 % des microorganismes ruminiaux. *Methanobrevibacter ruminantium* est la bactérie la plus souvent rencontrée chez les bovins (Mordjane, 2011).

Les Archaea sont capable de fixées sur les protozoaires ciliés, sur les particules alimentaires, aussi sur l'épithélium ruminal (Tokua *et al.*, 1999).

Tableau 01 : Caractéristiques de quelques bactéries du rumen (Briki et Debab ,2009)

Espèce	Gram	Morpho	%G + C	Produits: majeurs et mineurs	Type
<i>Prevotella ruminicola</i>	-	Bâton	49 - 50	Acétate, succinate (Formate, propionate, isobutyrate, butyrate, isovolérate, lactate)	Hémicellulose, protéines
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	-	Bâton	40 - 42	Formate, acétate, succinate (lactate)	Amidon
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	-	Bâton	47 - 49	Acétate, succinate (formate, propionate, isovolérate)	Cellulose
<i>Setenomonas ruminantium</i>	-	Croissant	54	Lactate, propionate, acétate, H ₂ , Co ₂	Protéines, Sucres
<i>Butyrivibrio Fibrisolvens</i>	-	Bâton Courbé	36 - 41	Format, butyrate, acétate, H ₂ , Co ₂ (Lactate, succinate)	Répondue cellulolytiques
<i>Anaerovibrio lipolytica</i>	-	Bâton		Propionate, succinate, acétate H ₂ , Co ₂ (lactate)	Lipides
<i>Vibrio (wolinella) succinogenes</i>	-	Vibrion	47	Succinate H ₂ , Co ₂	Baisse H ₂
<i>Succinivibrio dextinosolvens</i>	-	Vibrion		Acétate, succinate (Formate, lactate)	Dextrines
<i>Treponema bryantii</i>	-	Hélice	35 - 37	Formate, acétate, succinate	Sucres
<i>Veillonella parvula</i>	-	Coque	38 - 41	Acétate, propionate, H ₂ (Lactate)	Lactate
<i>Sucinomonas amylolytica</i>	-	Coque ou bâton		Succinate (acétate, propionate)	Amidon
<i>Ruminococcus albus</i>	+	Coque	42 - 46	Acétate, éthanol, Co ₂ (formate, lactate)	Cellulose
<i>Ruminococcus flayfaciens</i>	+	Coque	39 - 44	Acétate, succinate, H ₂ (formate, lactate)	Cellulose
<i>Streptococcus bovis</i>	+	Coque	37 - 39	Lactate, Co ₂ (formate, acétate, éthanol)	Amidon
<i>Lachnospira multiparus</i>	+	Bâton		Formate, acétate, lactate, H ₂ (succinate, éthanol)	Pectine
<i>Eubacterium ruminantium</i>	+	Bâton		Formate, butyrate, lactate, Co ₂ (succinate, éthanol)	Xylanes, Sucre
<i>Lactobacillus ruminis</i>	+	Bâton	44 - 47	Lactate	Sucre
<i>Methanomicrobium sp</i>			49	CH ₄	Formate
<i>Methanobacter ruminantium</i>			31	CH ₄	Formate
<i>Methanobacterium formteium</i>			41	CH ₄	Formate

2.2 Les protozoaires

Les protozoaires sont des organismes eucaryotes. On distingue deux types dans le rumen : les flagellés et les ciliés (Briki et Debab, 2009).

Les protozoaires jouent un rôle important dans l'hydrolyse de l'amidon qu'ils stockent sous forme de réserves (Bestle et Jouany, 1990). 10 % de l'activité protéolytique et 30 à 40 % de la fonction lipolytique est assurées par les protozoaires ciliés (Amokrane, 2010).

Tableau 02 : Classification systématique des protozoaires du rumen (Stewart et al., 1997).

- *Tetratrichomonas battreyt*
- *Pemarrichomonas homonis*
- *Isotricha intestinalis*
- *Dasytricha ruminantium*
- *Blepharocarytidea Charonina ventriculi*
- *Diplodiniidea Diplodinium sp*
- *Endinium sp*
- *Erentaplasium sp*
- *Eudiplasidium sp*
- *Ostrakodinium sp*
- *Methadinium sp*
- *Epidimidae Epidinium sp*
- *Ophryscalerinae Ophryscaler sp*

2.3 Les champignons

Les champignons comme les bactéries cellulolytiques, Ils apparaissent dans le rumen des ruminants quelques jours seulement après la naissance (Dusart, 2014). Leur concentration est estimée à 10^3 et 10^5 zoospores /ml, environ 10 % de la biomasse microbienne (Fonty et al., 1988b). :

Les champignons trouvés dans le rumen sont anaérobies stricts, On décrit trois espèces qui sont *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis* et *Sphaeromonas communis* (Tiret, 2001).

Tableau 03: Principales espèces de champignons anaérobies isolés du tube digestif des ruminants (Stewart et al., 1997)

Type de thalle	Nombre des flagelles sur la zoospore	Genre Espèce	Origine
Monocentrique avec rhizoïdes filamenteux	> 4	<i>Neocallimastix frantalis</i> <i>Neocallimastix patriciarum</i> <i>Neocallimastix harleyensis</i> <i>Piromyces communis</i> <i>Piromyces mae</i> <i>Piromyces dumbonica</i> <i>Piromyces rhizinflata</i>	Rumen Rumen Rumen Rumen Caecum de cheval Caecum d'éléphant Fèces d'âne
Monocentrique avec rhizoïde bulbeux	> 4	<i>Caecomyces communis</i> <i>Caecomyces equi</i>	Rumen Caecum de cheval
Polycentrique	> 4	<i>Orpinomyces joyonii</i> <i>Orpinomyces bovis</i>	Rumen Rumen
	> 4	<i>Anaeromyces micronatus</i> <i>Ruminomyces elegaris</i>	Rumen Rumen

2.4 Les virus

dans le rumen, il y a 125 types morphologiques de bactériophages. Leur rôle n'est pas bien connu (Briki et Debab, 2009).

II. Les métabolismes dans le rumen

Les aliments distribués aux bovins sont composés d'eau et de divers nutriments : des glucides, des lipides, des matières azotées, des vitamines et des minéraux

la microflore ruminale produit des enzymes capables de digérer des glucides, des protéines et des lipides pour produire en général des acides gras volatils (acétate, propionate, butyrate), méthane, CO₂ et ammoniac (NH₃) (Toutain, 2008).

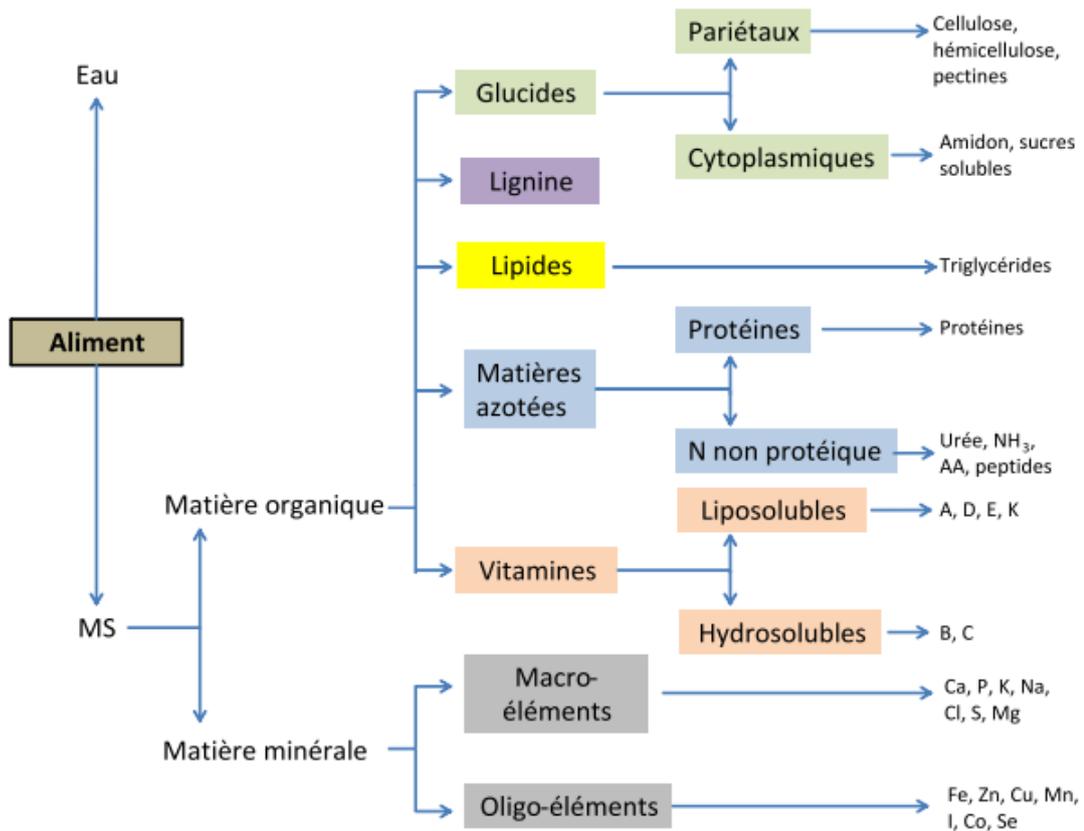


Figure 01: Composition des aliments (Brocard et *al.*, 2010).

1. La dégradation des glucides

Les glucides représentent 75 % de la masse du tissu végétal avec les glucides structuraux ou membranaires ou pariétaux (cellulose, hémicellulose, pectine), et les glucides non structuraux ou de réserve (amidon) et les sucres simples (Toutain, 2008).

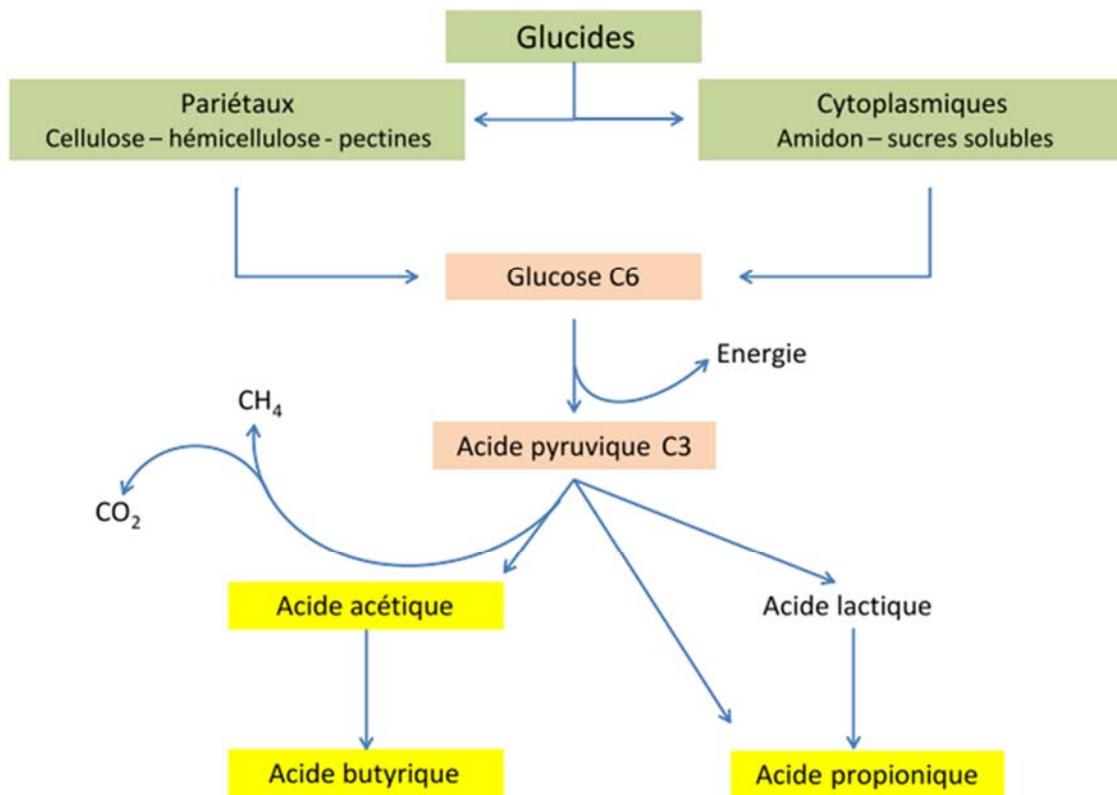


Figure 02: Schéma de la dégradation des glucides dans le rumen (Cuvalier et *al.*, 2014).

1.1 Les glucides pariétaux

a. La cellulose

La cellulose est un polymère du glucose de formule $(C_6H_{10}O_5)_n$, formé de 10000 à 25000 molécules des glucoses, ces derniers sont liés entre eux par la liaison β -1,4-glucosidiques.

Les celluloses sont les polysaccharides les plus abondant et les plus largement réparti dans la nature (Ferhaoui et Halilef, 2013).

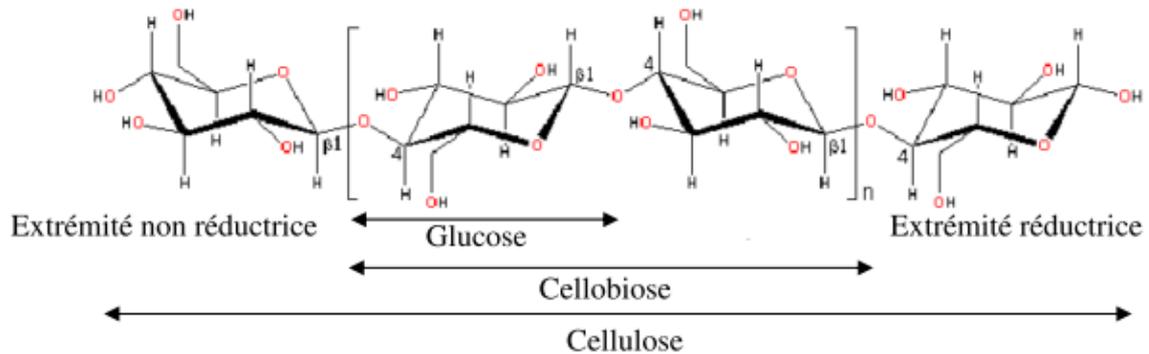


Figure 03: Structure de la molécule de cellulose.

La dégradation de la cellulose par *Fibrobacter succinogenes* se fait par l'attachement de ce dernier à la molécule de cellulose par les protéines fibro-slim et les pilins de type IV, puis commence à couper des fibres de cellulose par la cellulase et exohémicellulase pour donner de cellobioses ou du glucoses (Ransom et al., 2012).

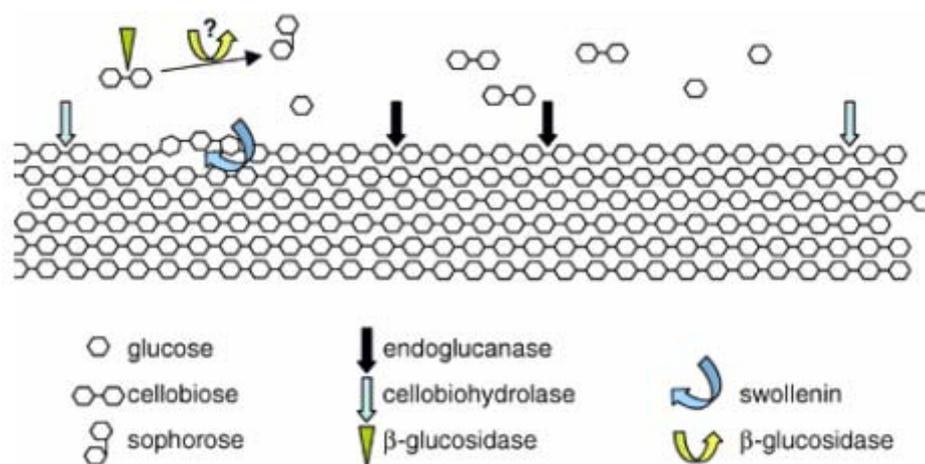


Figure 04: Représentation schématique de l'attaque enzymatique de la cellulose (Aro et al., 2005).

b. L'hémicellulose

Les hémicelluloses présentent près de 37 à 48 % des parois de la plante. Ce sont des hétéropolymères amorphes composés d'hexoses (glucose, mannose, galactose) et surtout de pentoses (xylose, arabinose) (Ferhaoui et Halilef, 2013).

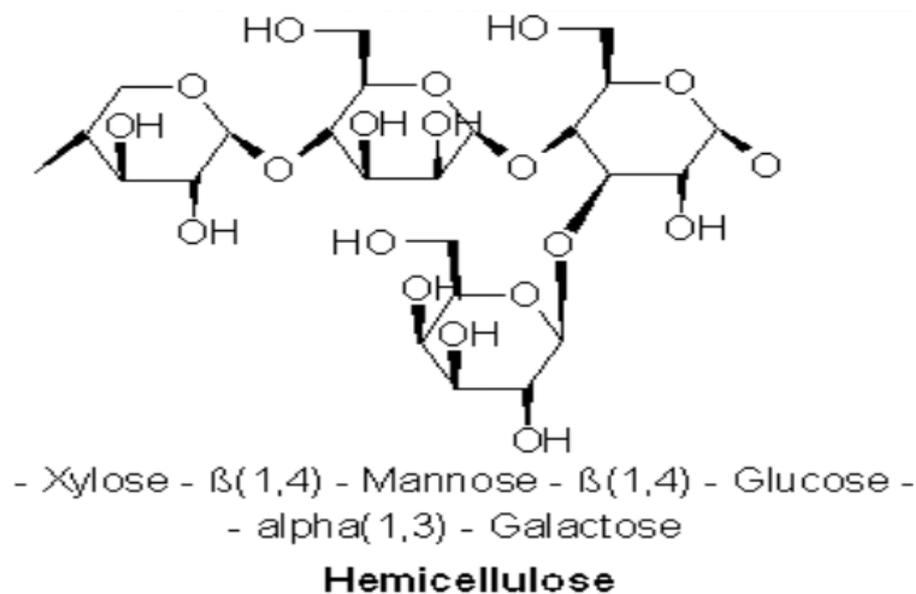


Figure 05: Structure de l'hémicellulose (Anonym 01. 2017)

Les hémicelluloses sont hydrolysées par trois groupes d'enzymes, qui sont des endonucléases, exoxygénases, et β -xylosidases (forano et *al.*, 1996). Qui vont permettre la formation de xylose et autres pentoses (Rey, 2012).

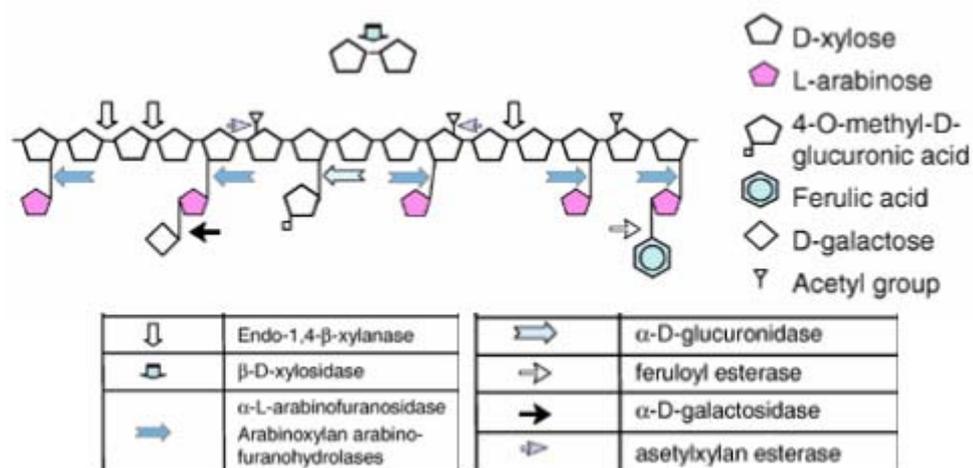
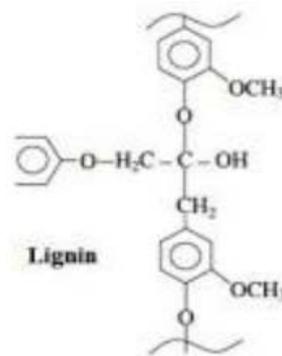
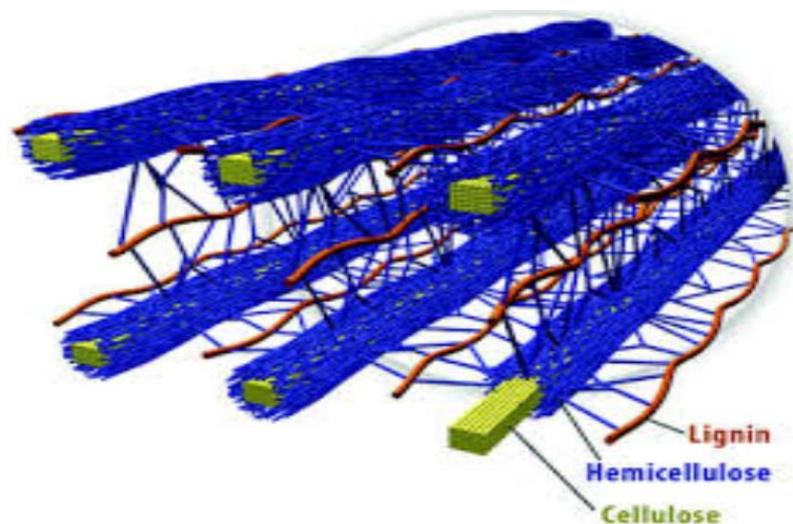


Figure 06: Représentation schématique de l'attaque enzymatique de l'hémicellulose (Aro et *al.*, 2005).

c. La lignine**Figure 07 :** structure de la lignine.

La lignine est un hétéropolymère phénolique, forme une matrice qui entoure la cellulose et l'hémicellulose (Gwendoline, 2012).

**Figure 08:** L'ensemble cellulose – hémicellulose – lignine

Les enzymes qui dégradent la lignine sont oxydantes et non spécifiques. Les principales enzymes lignolytiques fongiques sont des manganèseperoxydases, des lignine-peroxydases qui catalysent une variété de réactions oxydantes dépendantes de H_2O_2 , et des laccases qui oxydent les composés phénoliques, réduisant l'oxygène moléculaire en eau (Hebraud et Fevre, 1990).

d. La pectine

Les pectines sont des polymères d'acides α -galacturoniques lié avec le rhamnose par des liaisons α (1-4) (Grenet et *al.*, 1991).

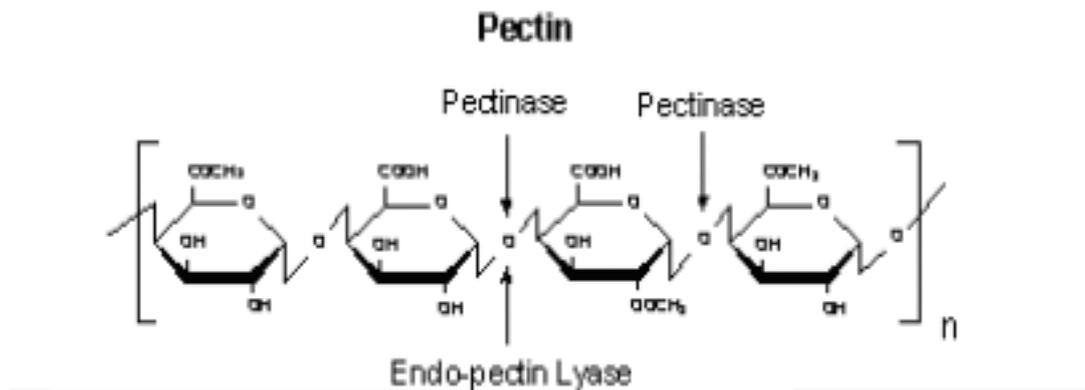


Figure 09: Structure de la pectine.

Les microorganismes du rumen ont la capacité d'hydrolysé les pectines par la sécrétion de trois types majeurs d'enzymes qui sont les polygalacturonate lyases qui hydrolysent les polymères d'acide galacturonique de la chaîne carbonée principale, les pectines méthyl-estérases qui libèrent les groupements méthyles, et les polygalacturonases qui hydrolysent les polymères de galacturonates désestérifiés. (Gwendoline, 2012).

1.2 Les glucides cytoplasmiques

a. L'amidon

L'amidon est un polyholoside constitué de fractions variables d'amylose et d'amylopectine (Tautatin, 2008; Mebirouk, 2014).

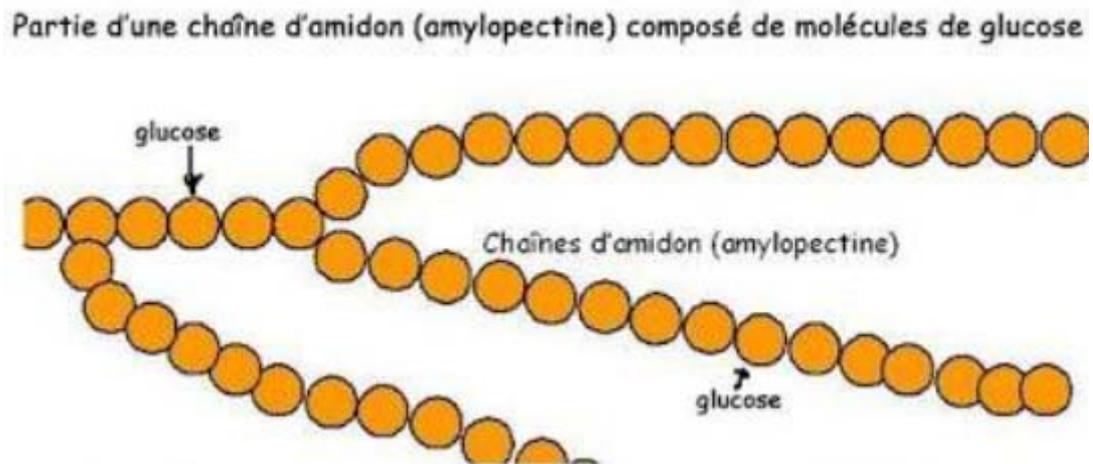


Figure 10: Structure de l'amidon.

L'hydrolyse de l'amidon se fait dans le rumen par les amylases salivaires et bactériennes (Jouany et *al.*, 1995). La digestion de l'amidon se fait par des bactéries amylolytiques et certains protozoaires.

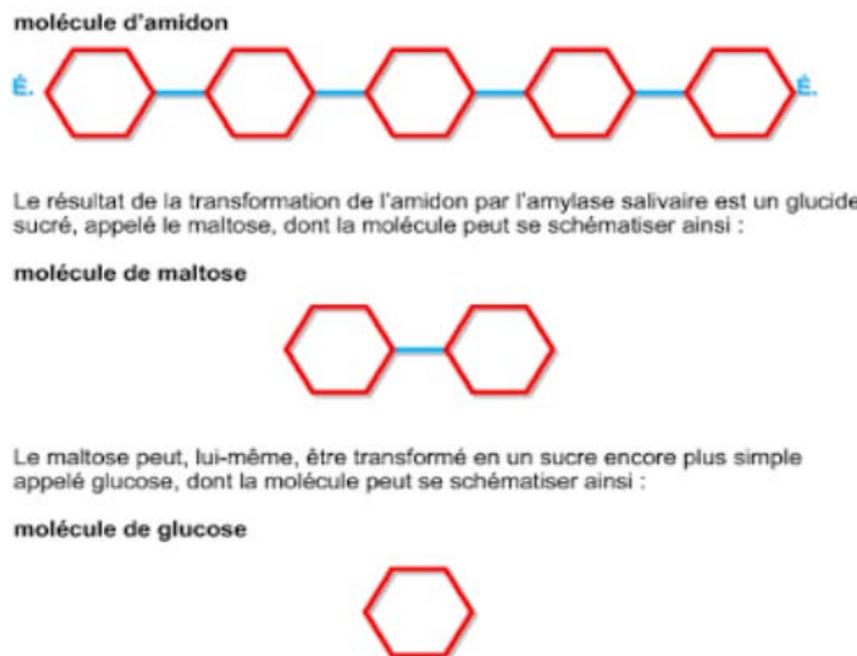


Figure 11: Mécanisme de dégradation de l'amidon.

2. La dégradation des matières azotées

Les matières azotées alimentaires (composées des protéines et de l'azote non protéique) subissent dans le rumen une dégradation plus ou moins importante, dont le produit terminal est l'ammoniac (NH_3) : les protéines alimentaires sont ainsi transformées en acide aminé puis subissent une fermentation jusqu'au stade NH_3 , alors que l'azote non protéique est directement transformé en NH_3 . Cette dégradation génère la production d'une faible quantité d'énergie. Cet ammoniac est utilisé par les microorganismes du rumen pour synthétiser leurs propres protéines, appelées protéines microbiennes.

Le NH_3 en excédent est en effet absorbé par la paroi du rumen et transporté jusqu'au foie où il est transformé en urée. Cette urée est principalement excrétée par les reins et éliminée par les urines et le lait chez la vache laitière. Elle peut cependant également retourner au rumen via la salive (Cuvelier, 2014).

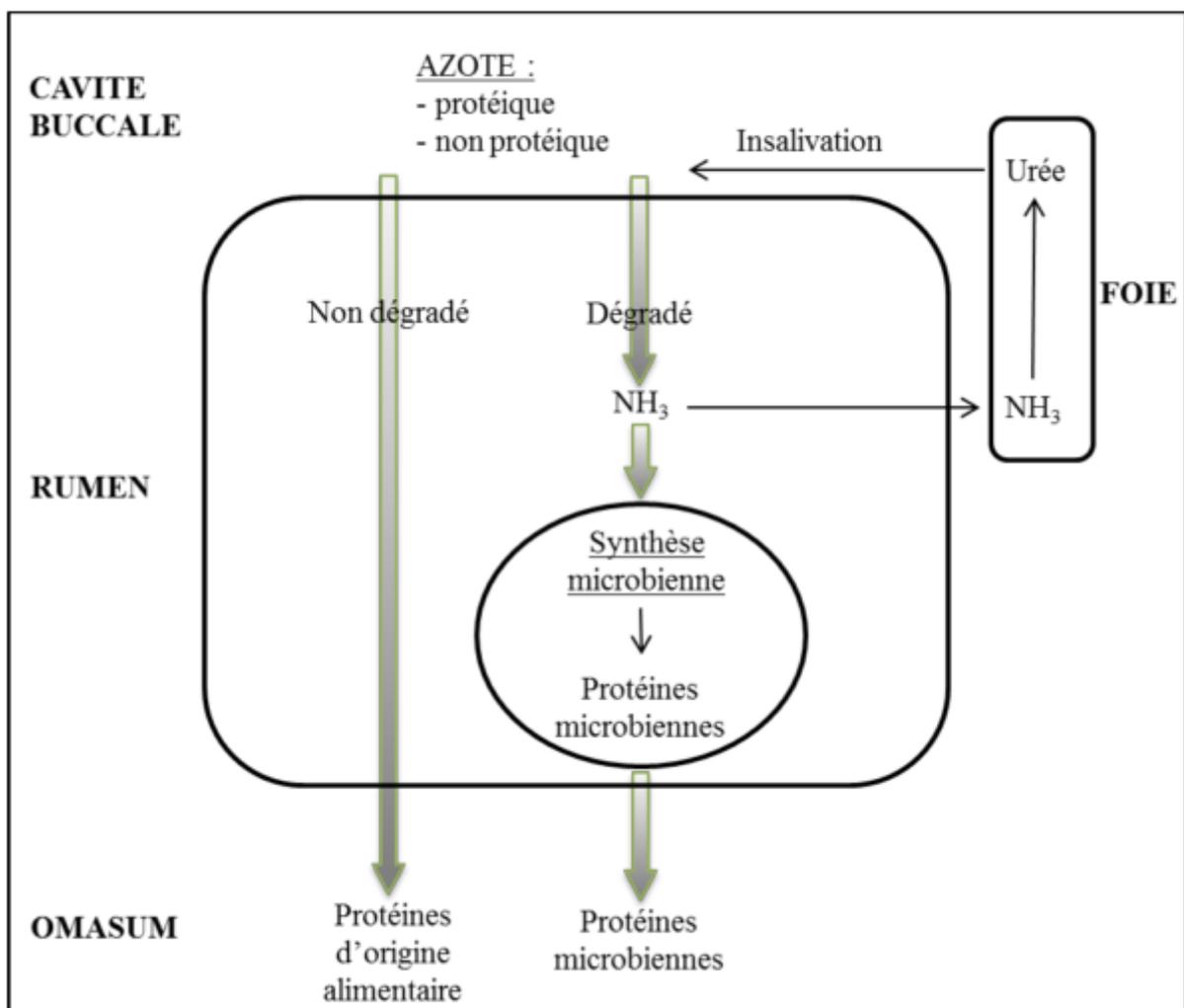


Figure 12: Le métabolisme ruminal de l'azote (Dusart, 2014).

III. Les sources d'azotées alternatives

1. Les sources d'azote inorganique

1.1 Le bicarbonate d'ammonium

Le bicarbonate d'ammonium est un composé inorganique, et un sel, qui se dissout dans l'eau. Ce sel n'est pas toxique pour les êtres vivants. La composition, la toxicité et le prix du bicarbonate d'ammonium est présenté dans le tableau 4.

Il constitue une source importante de l'azote. 30 - 50 % des protéines microbiennes du rumen peut être recyclé à partir l'ion de l'ammonium (Morrison, 2000).

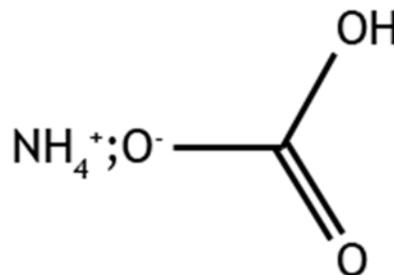


Figure 13: Structure du bicarbonate d'ammonium.

1.2 Le nitrate de potassium

Le nitrate de potassium est un composé inorganique, est un sel dissout dans l'eau. Sa formule chimique est KNO_3^- . La composition, la toxicité et le prix du nitrate de potassium est présenté dans le tableau 4.

Les facteurs qui influent la toxicité du nitrate

- les concentrations élevées de nitrates dans l'alimentation ;
- le taux de consommation d'aliments ;
- le taux bas de réduction du nitrite en ammoniac dans le rumen ;
- un faible taux de passage du rumen, ce qui entraîne plus de nitrate, ou la rétention du nitrite dans la panse (Yang *et al.*, 2016).

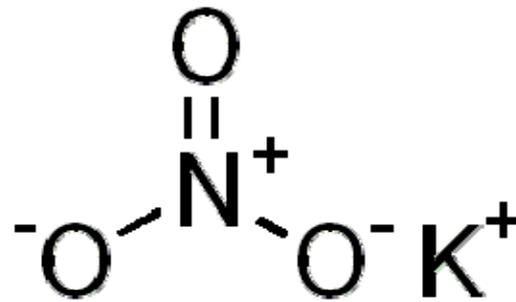


Figure 14: Structure du nitrate de potassium.

2. Les sources d'azote organique

2.1 L'extrait de levure

L'extrait de levure est un composé organique qui contient un pourcentage élevé de protéines de 62 à 74 % par rapport aux autres constituants. La composition, la toxicité et le prix de l'extrait de levure est présenté dans le tableau 4.

L'addition de levure à la ration du ruminant laitier semble, dans un certain nombre de cas, être bénéfique pour le métabolisme ruminal (Russel et *al.*, 1986).

2.2 Le glutamate de sodium

Le glutamate de sodium est un composé organique. Sa formule chimique est : $C_5H_8NO_4Na$. Il contient un groupement amine (NH_2) et un groupement carboxyle ($-COOH$). La composition, la toxicité et le prix du glutamate de sodium est présenté dans le tableau 4.

Le glutamate de sodium est le sel sodique de l'acide glutamique, l'un des acides aminés non essentiels les plus abondant dans la nature.

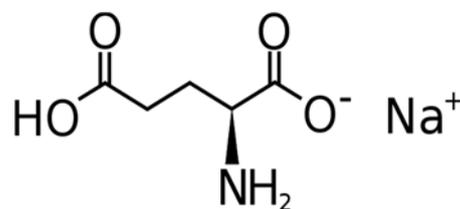


Figure 15: Structure du glutamate de sodium

Tableau 04: Composition, toxicité et prix des sources d'azote alternatives.

Sources d'azote	Formule	Composition	pH	Toxicité	Prix
Bicarbonate d'ammonium	$(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$	N.....17,72% H.....6,37 % C.....15,19 % O.....60,71 %	8,8 - 9,8	Non Toxique	503 Euro/Kg
Glutamate de sodium	$\text{C}_5\text{H}_8\text{NNaO}_4$	N.....8,28% H.....4,77% Na.....13,59% O.....37,84%	7	Non Toxique	621 Euro/Kg
Nitrate de potassium	KNO_3	N.....13,86 % K.....38,62 % O.....47,52 %	6,0 - 8,0	Toxique	252 Euro/Kg
Extrait de levure		N.....11 % Protéine.....27,89 % Calcium.....0,08 % Magnésium.....0,18 % Phosphore.....0,10% Sodium.....36 % Vitamine E.....0,097% Vitamine D.....0,014% Vitamine C.....0,097% Vitamine B.....0,013%	6,8 - 7,2	Non Toxique	63 ,4 Euro/Kg

IV. Les sources d'énergies alternatives

1. Les sources d'énergie fibreuses : les cardes

Les cardes ou Chardon-Marie est une plante fibreuse de la famille des *Astéracées* seule représentant connu du genre *Silybum*. Cette plante elle constitue par des feuilles vert pâle brillantes et épineuses marbrées de blanc.



Figure 16: Cardes en fleurs (*Silybum marianuum*).

La classification de la plante Chardon-Marie :

Tableau 05: La classification de la plante Chardon-Marie

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Silybum</i>

2. Les sources d'énergie non fibreuses : résidus d'oranges

les résidus d'oranges sont les déchets agro-industriels obtenus après la production de jus d'oranges.

il y a plusieurs variétés d'oranges : Calamondin, Calamondin panaché, Lime rouge, Mandarinier, Orange amer, Orange sanguine, Oranger (*Citrus sinensis*).



Figure 17: Oranger (*Citrus sinensis*)

Classification d'oranger *Citrus sinensis*:

Tableau 06: La classification d'oranger *Citrus sinensis*.

Règne	<i>Plantae</i>
Classe	<i>Equisetopsida</i>
Sous-classe	<i>Magnoliidae</i>
Super-ordre	<i>Rosanae</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Rutaceae</i>
Genre	<i>Citrus</i>

V. Aspects environnementaux

1 La méthanogenèse

la méthanogenèse est un phénomène important et indispensable dans le processus de digestion d'un ruminant (Martin et *al.*, 2006). Les Archaea ont la capacité de produire le méthane comme principale produit de fermentation.

parmi ces espèces il y a :

- *Methanobacterium ruminantium* qui est la bactérie principale qui produit le méthane à partir du formate et d'hydrogène.

- *Methanobacterium formicium*, *Methanobacterium sohnigeii* utilisent l'acétate, le propionate et le butyrate comme substrat (Briki et Debab, 2009).

Chez les ruminants, le méthane produit au cours des fermentations digestives est rejeté par éructation dans l'atmosphère ce qui représente à la fois une perte sur la quantité d'énergie fixée par les animaux d'élevage et une contribution à l'effet de serre (Jean-Pierre, 2008).

A fin de limiter la synthèse du méthane dans le rumen, à partir de H₂ et de CO₂, le KNO₃ a été proposé comme source d'azote.

Chapitre II Matériel et méthodes

Chapitre II

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1 Animal donneur du liquide ruminal

Les animaux utilisés sont des bovins ayant des poids variable de 300 à 400 kg, qui reçoivent un régime alimentaire d'engraissement riche en maïs. Le liquide ruminal est prélevé des bovins après éviscération au niveau de l'abattoir communal du Khroub (wilaya de Constantine).

Le liquide mis dans une thermos fermé préalablement aseptisé, puis transporté au laboratoire où il est filtré à travers un tissu en mousseline. Le filtrat ainsi obtenu est utilisé pour l'inoculation.

1.2 Les sources d'énergie

Les résidus d'oranges et les cardes (*Silybum marianum*) sont utilisés comme source d'énergie.

1.3 Les sources d'azote inorganique et organique

Quatre sources d'azote différentes ont été testées.

- deux sources d'azote inorganique
 - Nitrate de potassium (KNO_3 , MM : 101.10 g, 85%N)
 - Bicarbonate d'ammonium ($(\text{NH}_4) \text{HCO}_3$, MM: 79.06g, 17.72 % N)
- deux sources d'azote organique
 - Extrait de levure (11% N, pH à 25°C 6,8-7,2)
 - Glutamate de sodium ($\text{C}_5\text{H}_8\text{NNaO}_4$, H_2O , MM: 187.13g, 9,52% N)

1.4 Préparation des résidus d'oranges

Le résidu d'oranges est obtenu par transformation des déchets d'orange selon la procédure décrite par Ferhaoui et Halilef (2013). La composition chimique des résidus d'oranges est indiquée au tableau 07

1.5 Préparation des cardes

Les cardes sont des plantes fibreuses connues sous le nom *Sylibum marianum*. Elles ont été prélevé de mois de mai en Constantine et en période de la fleurissent. La composition chimique des cardes est indiquée au tableau 07

Dans le laboratoire on prépare les cardes selon la technique suivante :

- on coupe les cardes en petites morceaux (figure 14 a).
- on sèche ces morceaux dans une étuve réglée à une température de 75°C pendant 96h.
- on écrase le produit dans un mortier (figure 14 c), puis tamiser les écrases.
- finalement, on broya le reste avec un broyeur électrique puis on les conserve dans des sachets de congélation.



Figure 18 a : les cardes coupées.



Figure 18 b : les cardes après séchage.



Figure 18 c : les cardes écrasées.

Tableau 07 : Composition chimique des résidus d'oranges et des cardes (Tagliapietra, 2015)

	Matière sèche (g/kg)	NDF	ADF	Lignin (sa)	Pectine	Protéine brute (mg/kg MS)	NDICP	ADICP	Extrait d'éther	cencre	NSC	NO3-N (g/kg MS)
Les cardes	881	688	524	86	–	43	19	14	6	130	14	328
Les Résidus d'orange	211	257	117	-	250	57	4	3	6	26	655	-

2. Analyse des caractéristiques physico-chimiques du liquide ruminal

2.1 Le pH

Le pH du liquide ruminal est mesuré directement, à son arrivée au laboratoire, à l'aide d'un pH-mètre préalablement étalonné (valeurs des étalons données dans le tableau 08). L'électrode est plongée directement dans le liquide ruminal. Le pH est lu sur un écran digital à deux décimales.

Tableau 08 : Les solutions étalons et leurs composants

Tampons	Composants (g/l)	La masse molaire (g/l)	pH
Phosphate D	3.39 de KH_2PO_4	136,09	6.86
	3.53 de Na_2HPO_4	141,96	
Phosphate E	1.179 de KH_2PO_4	136,09	7.41
	4.30 de Na_2HPO_4	141,96	
Tartrate	6.398 de $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$	188,18	3.56
Phtalate	10.12 de $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$	204,23	4.01
Borate	3.8 de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$	201,22	9.18

2.2 La température du liquide ruminal

La température du liquide ruminal est mesurée dès son arrivée au laboratoire à l'aide d'un thermomètre à mercure.

2.3 Le taux de matière sèche du liquide ruminal

La matière sèche du liquide ruminal est évaluée comme suit :

5 g du liquide ruminal homogénéisé est contenu dans des creusets en porcelaine et placés dans une étuve réglée à 105°C pendant 24 h. A la sortie de l'étuve les creuset sont mis dans un dessiccateur pendant une demi-heure pour le refroidir dans une atmosphère sèche (figure 19).



Figure 19: Matière sèche dans le dessiccateur.

Les résultats sont donnés par les différences :

$$P_1 - T = MF \text{ (matière fraîche)}$$

$$P_2 - T = MS \text{ (matière sèche)}$$

P₁ : le poids du creuset contenant le liquide ruminal avant séchage.

P₂ : le poids du creuset contenant le liquide ruminal après séchage.

T : le poids du creuset vide.

$$\text{Le pourcentage de la matière sèche : } \%MS = (MS/MF) \times 100$$

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

Pour la fiabilité des résultats, les valeurs données sont la moyenne de trois répétitions.

2.4 La teneur en matière organique et matière minérale du liquide ruminal

La prise d'essai, 5 g de matière sèche préalablement obtenue, sont placés dans des creusets en porcelaine et soumis progressivement à une température de 550°C pendant 12 h. A la sortie du four à moufle les creusets sont laissées refroidir à l'intérieure du four quelques heures puis dans le dessiccateur pendant une demi-heure.

La matière sèche (MS) est calculée comme suit: $MS = P_2 - T$ (T = poids du creuset vide)

La matière minérale (MM) est calculée comme suit : $MM = P_3 - T$

P₂ : le poids du creuset contenant le liquide ruminal après séchage.

P₃ : le poids du creuset contenant le liquide ruminal après l'incinération.

$$\text{La matière minérale : } \%MM = (MM/MS) \times 100$$

$$\text{La matière organique : } \%MO = 100 - \%MM$$

2.5 Les teneurs en matières sèche, organique et minérale des résidus d'oranges et des cardes

Pour les résidus d'oranges on pèse 2 g dans les creusets en porcelaine, et 5 g des cardes, afin de faire la même expérience. Aussi on calcule la matière sèche, la matière organique et la matière minérale de la même façon

3. Analyse des caractéristiques microbiologiques du liquide ruminal

3.1 Coloration de Gram et analyse du rapport Gram+/Gram-

3.1.1 Préparation des colorants de Gram

Tableau 09 : La coloration de Gram : composition et préparation des colorants

Cristal violet alcalin	Iodo-iodurée	Décolorant	Contre colorant
<p>On prépare 2 solutions :</p> <p>Solution 1</p> <p>- on dissout 10 g de cristal violet dans 1000 ml d'eau distillée.</p> <p>Solution 2</p> <p>- on dissout 50 g de NaHCO₃ dans 1000 ml d'eau distillée.</p>	<p>- on dissout 4 g de NaOH dans 25 ml d'eau distillée.</p> <p>- on ajoute 20 g d'iode et 1 g de KI bien dissoudre.</p> <p>- on ajoute graduellement 975 ml d'eau distillée, en agitant correctement à chaque ajout.</p>	<p>- on mélanger 300 ml d'acétone avec 700 ml d'alcool éthylique à 95 %.</p>	<p>- on dissout complètement 20 g de safranine dans l'alcool à 95 %, ensuite on complète à 1000 ml avec de l'eau distillée.</p>

La coloration de Gram est réalisée sur quatre types de frottis avec trois répétitions pour chaque frottis.

- liquide ruminal tel quel (LRTQ).
- liquide ruminal filtré (LRF).
- liquide filtré mélangé avec la salive artificiel après l'épuisement (LFM).
- liquide après fermentation (LRM).

Chaque dépôt est étalé sur trois lames (répétition) et séché sur la flamme d'un bec bunsen pour le fixer, il est ensuite soumis à la coloration de Gram pour anaérobies selon Kopeloff.

- On fait agir la solution 1 du cristal violet sur la préparation et on ajoute 5 gouttes de la solution 2, la durée totale est de 30 secondes ;
- on rince à l'eau de robinet pendant 2-3 secondes ;
- on couvre le frottis avec la solution du mordant (KI+I) pendant 60 secondes ;
- on éponge l'excès d'eau avec un papier buvard propre ;
- on décolore au maximum par le mélange acétone-alcool éthylique pendant 15-20 secondes ;
- on rince à l'eau de robinet immédiatement ;
- on éponge l'eau en excès ;
- on recouvre de la solution de contre colorant pendant 20 secondes ;
- on procède à un rinçage à l'eau tout en utilisant le séchage avant l'observation microscopique ;
- finalement, on fait l'observation microscopique avec l'huile d'immersion en utilisant le grossissement (x1000).

3.2 Analyse morphologique de la flore bactérienne du liquide ruminal

L'analyse des caractéristiques microbiologiques de la flore du liquide ruminal passe par un examen microscopique et fait appel à la coloration de Gram.

La coloration de Gram permet de différencier entre les bactéries Gram⁺ et Gram⁻ ainsi que les différentes formes de bactéries (cocci, bâtonnets, incurvés, etc.).

4. Épuisement de l'azote et de l'énergie résiduels dans le liquide ruminal

Le liquide ruminal contient des débris végétaux sont constitués comme source d'énergie et d'azote pour les microorganismes du rumen.

Après filtration du liquide ruminal, les débris qui ne sont pas retenus par le tissu de mousseline sont éliminés en réalisant un épuisement de 24 h dans un milieu tamponné réduit contenant le cellobiose (une source d'énergie supplémentaire pour que les microorganismes de l'inoculum continuent à utiliser les sources d'azote résiduelles).

5. Comment assurer la stérilisation et l'aseptisation

La contamination est un risque qui peut conduire à de faux résultats, donc il faut stériliser et aseptiser tous les matériels utilisés.

5.1 La réalisation du travail aseptique

La thermos, les bouchons en caoutchouc, la paille et le bain-marie utilisés sont aseptisés avec l'eau distillée stérile chaude additionnée de quelques gouttes d'eau de javel puis rincés à l'eau distillée stérile chaude pour éliminer toute trace d'eau de javel.

5.2 La réalisation du travail stérile

Tout le matériel utilisé est lavé puis rincé à l'eau distillée, ensuite ce matériel est emballé dans du papier aluminium et mis dans l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

Matériel utilisé:

- 12 flacons en verre stérilisable de 250 ml, entonnoir, pipettes graduées, tuyauteries de transfert, tissu en mousseline, spatule.

6. La phase d'épuisement de l'inoculum et de fermentation des substrats

Tableau 10: Composition du milieu tamponné réduit

Milieu tamponné réduit	NaHCO ₃ : 10g/l
	Eau distillé : 960 ml
	Résazurine : 1,24 ml
	<i>Solution réductrice :</i>
	NaOH : 8 ml
	Na ₂ S : une quantité suffisante
	Eau distillé : 40 ml

La préparation du milieu tamponné réduit se réalise selon le protocole suivant :

- on remplit une fiole en verre avec 960 ml d'eau distillée stérile, puis on ajoute de 10 g de NaHCO_3 et 1,24 ml de résazurine ;
- on stérilise le milieu à l'autoclave à 120°C pendant 15 min ;
- dans un bain marie régler la température à 39°C afin de pouvoir placer le milieu. Puis on ajoute 40 ml de la solution réductrice qui contient 8 ml de NaOH et une quantité suffisante de Na_2S ;
- l'anaérobiose est assurée avec un barbotage sous flux continu de CO_2 pour réduire le milieu, cette réduction est suivie par le virage de la couleur de bleu au rose avant de devenir incolore (figures 20 a, 20 b, 20 c) ;
- on ajoute le liquide ruminal dans notre milieu ;
- on introduit 0,5 g de cellobiose ;
- Finalement on laisse le milieu "épuisé" pendant 24 h à 39°C .



Figure 20 a : milieu tamponné oxydé.



Figure 20 b : milieu tamponné au cours de la réduction.



Figure 20 c : milieu tamponné réduit.

6.1 Réalisation des conditions d'anaérobiose

L'anaérobiose est l'une des conditions les plus importantes dans notre travail. Cette condition se réalise par l'élimination de l'oxygène dissout et non dissout dans notre milieu.

- en phase gazeuse

Pour assurer l'anaérobiose à l'intérieur d'un flacon de 2000 ml, et les 12 flacons de 250 ml qui contiennent le milieu tamponné réduit, nous avons assuré un transfert d'une grande quantité de CO₂ pur, pour chasser tous les gaz (O₂, N₂, H₂).

- en phase liquide

L'anaérobiose dans la phase liquide dans le flacon de 2000 ml, et les 12 flacons de 250 ml qui contiennent le milieu tamponné réduit, se réalise par un agent réducteur qui est le Na₂S, ce dernier piège les molécules d'oxygène dissout.

Le résazurine est un indicateur de réduction, qui va révéler que le milieu est oxydé (couleur bleue) ou réduit (transparent).

Dans la phase liquide on utilise aussi le barbotage, qui se fait par deux bouteilles de gaz, la première pour le CO₂ contient aussi un peu quantité d'O₂, et la deuxième pour le H₂, les deux sont liées à une colonne de cuivre.

Cette colonne est chauffée à 300°C, pour piéger les molécules d'O₂ qui vient de la bouteille de CO₂, et donner l'oxyde de cuivre CuO, pour arriver au CO₂ pur.

Puis on ouvre la bouteille d'hydrogène, qui réagit avec les molécules de CuO, pour donner le Cu + H₂O.

Le barbotage du milieu se fait pour enlever les molécules d'O₂ gazeux et les autres gaz, par remplacement avec le CO₂.

7. Phase de l'ajout des sources d'azote et des sources d'énergie

L'incubation du milieu est réalisée suivant la procédure suivante :

- dans douze flacons stériles de 250 ml, on ajoute 100 ml du milieu tamponné réduit inoculé et épuisé. Seul les huit premiers flacons contiennent quatre sources d'azote différent ;
- les 12 flacons, sont fermés à l'aide de bouchons aseptisés et placés dans un bain-marie réglé à 39°C et reliés aux canaux de l'appareil de mesure la production de gaz ;
- dans chaque flacon on injecte un flux de CO₂, pour assurer l'anaérobiose ;
- finalement, on incube notre milieu pendant 96 h à une température de 39°C.

8. Mesure du pH après fermentation

Après 96 h de fermentation, le pH final est mesuré à l'aide d'un pH mètre portable préalablement étalonné.

9. Activité métabolique de la microflore ruminale

L'activité métabolique de la microflore ruminale se traduit par la production de gaz. Elle est mesurée par un appareil de mesure de gaz en anaérobiose. L'accumulation d'une quantité de gaz de 0,3 ml, libère un signal lumineux. Les signaux sont suivis dans le temps par un enregistrement continu.



Figure 21: l'appareil de mesure des gaz.

10. Acquisition des données

Lors de la fermentation, une quantité de gaz est produite par la microflore ruminale, cette production est mesurée par un appareil de mesure de gaz (figure 21) qui émet des spots dans chaque canal, ces spots indiquent que le volume de gaz libéré est de 0,3 ml.

Dans un tableau d'Excel, on enregistre le temps des spots et le volume de gaz afin de réaliser une courbe de production de gaz en fonction du temps (en heures).

Chapitre III Résultat et discussions

Chapitre III

Résultat et discussions

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

1.1 Le pH avant fermentation

Le pH des différents liquides du rumen de bovins mesurés, sont présentées dans le tableau 11.

Tableau 11: pH du LRTQ, du milieu tamponné réduit et du milieu tamponné réduit inoculé et le milieu tamponné réduit inoculé après épuisement.

Essais	LRTQ	Milieu tamponné réduit	Milieu tamponné réduit inoculé	après épuisement
1 26/04/2017	6,01	6,87	-	-
2 13/05/2017	5,99	6,84	6,8	6,75
3 19/05/2017	4,8	6,87	-	6,66
4 27/05/2017	5,86	6,8	6,5	6,26
5 10/06/2017	5,55	6,83	6,55	6,63
Moyenne	5,67	6,86	6,65	6,56
Ecart type	0,58	0,02	0,21	0,26

Le pH du liquide ruminal tel quel

Le pH du liquide ruminal tel quel varie de 4,8 à 6,01 avec une moyenne de 5,67 et un écart type de 0,58. C'est un pH optimal pour l'activité métabolique des microorganismes du rumen, qui doit être compris entre 5,5 et 7,3 (Brugère, 1983).

Le pH du milieu tamponné réduit

Le pH du milieu tamponné réduit des différents essais varie de 6,80 à 6,87 avec une moyenne de 6,86 et un écart type de 0,02. Cette moyenne de pH est optimale pour l'activité métabolique de la microflore ruminale.

Le pH du milieu tamponné réduit inoculé

En ce qui concerne le milieu tamponné réduit inoculé, nous n'avons mesuré le pH de ce mélange que dans l'essai 2 et 4, avec des valeurs qui varient entre 6,8 et 6,5, une moyenne de 6,65 et un écart type de 0,21. Le pH du milieu tamponné réduit diminue à cause de l'effet du liquide ruminal filtré ajouté, mais il est toujours compatible avec l'activité métabolique de la microflore ruminale.

Le pH du milieu tamponné réduit inoculé après l'épuisement

Dans les essais 2, 3, 4 et 5, nous avons mesuré le pH du milieu tamponné réduit inoculé après épuisement : le pH varie de 6,26 à 6,75 avec une moyenne de 6,56 et un écart type de 0,26. Dans cette phase le pH diminue en moyenne de 0,1 unité de pH, ceci est dû à l'accumulation des acides gras volatiles qui résulte de la dégradation du cellobiose ajouté à raison de 0,5 g/l.

1.2 Le pH après fermentation des sources d'énergie

pH après fermentation des cardes avec un inoculum épuisé

Après 96 h de fermentation, on observe que les pH finaux ont légèrement augmenté par rapport au pH initial. Le nitrate de potassium a une augmentation plus élevée que les autres, cette augmentation est due à sa toxicité, qui peut provoquer la lyse des cellules microbiennes. Suivi du blanc avec une augmentation de 0,17 unités de pH due aussi à l'autolyse des cellules microbiennes et l'accumulation d'ammoniaque (NH₃), à cause de l'épuisement des sources d'azote et d'énergie.

Tableau 12: variation du pH après 96 h de fermentation des cardes après épuisement de l'inoculum

Flacons	Source d'énergie 1 g/l	Source d'azote 100 mg/l	pH initial	pH final	Δ pH
1-2	Cardes	Bicarbonate d'ammonium	6,66	6,75	0,095
3-4		Glutamate de sodium		6,75	0,09
5-6		Nitrate de Potassium		6,78	0,12
7-8		Extrait de levure		6,75	0,09
9-10		0,0		6,73	0,07
11-12	0,0	0,0		6,83	0,17

pH après fermentation des résidus d'oranges avec un inoculum épuisé

Les pH finaux dans le cas des résidus d'oranges, ont augmenté un peu plus que dans le cas des cardes. Le blanc et les résidus d'oranges seuls ont augmenté plus que les autres, à cause de l'épuisement total de l'inoculum qui a conduit à la lyse cellulaire et à la libération de l'ammoniaque durant la phase stationnaire.

Tableau 13: variation du pH après 96h de la fermentation des résidus d'oranges avec un inoculum épuisé

Flacons	Source d'énergie 1 g/l	Source d'azote 100 mg/l	pH initial	pH final	Δ pH
1-2	Résidus d'oranges	Bicarbonate d'ammonium	6,63	6,78	0,15
3-4		Glutamate de sodium		6,75	0,12
5-6		Nitrate de Potassium		6,79	0,16
7-8		Extrait de levure		6,73	0,10
9-10		0,0		6,80	0,17
11-12	0,0	0,0		6,8	0,17

pH après fermentation des différentes sources d'azote seules avec un inoculum épuisé

Les pH finaux après 96 h de fermentation dans le cas de l'utilisation des sources d'azote comme source d'énergie, ont augmenté plus que dans les autres essais : de 0,13 à 0,24 unités de pH. Le cas de bicarbonate d'ammonium montre une augmentation plus importante, due à la production de l'ammoniaque libre mais qui provient aussi de la lyse cellulaire de la microflore ruminale après la phase stationnaire.

Tableau 14: variation du pH après 96 h de fermentation des différentes sources d'azotes avec inoculum épuisé.

Flacons	Energie ajouté 1 g/l	Source d'azote 100 mg/l	pH initial	pH final	Δ pH moyen
1-2-3	0.0	Bicarbonate d'ammonium	6.29	6,52	0,24
4-5-6		Glutamate de sodium		6,42	0,13
7-8-9		Nitrate de Potassium		6,46	0,17
10-11		Extrait de levure		6,43	0,15
12		0.0		6,42	0,13

1.3 La température

Les températures des différents liquides du rumen sont présentées dans le tableau 15

Tableau 15: Température (°C) du LRTQ, du milieu tamponné réduit, et du milieu tamponné réduit inoculé

Essais /date	LRTQ	Milieu tamponné réduit	Milieu tamponné réduit inoculé
1 26/04/2017	-	-	-
2 13/05/2017	31,7	39,0	38,7
3 19/05/2017	32,3	39,0	38,7
4 27/05/2017	31,5	39,0	38,7
5 10/06/2017	32,44	39,0	38,7
Moyenne	31,99	39,0	38,7
Ecart type	0,46	0,0	0,0

La température du milieu tamponné réduit est la même dans tous les essais, avec une valeur de 39°C, cette température est l'optimale pour la microflore ruminal (Brugère, 1983). Aussi la température du milieu tamponné réduit inoculé est identique (38,7°C), ces températures sont maintenues grâce au bain-marie thermostaté.

Alors que la température des liquides ruminants tels que de chaque essais a varié de 31,5°C à 32,44°C. Avec une moyenne de 31,99°C et un écart type de 0,46. La température diminue lors du transport du liquide ruminal vers le laboratoire.

1.4 Les caractéristiques physico-chimiques du liquide ruminal

La matière sèche, organique et minérale du liquide ruminal du dernier essai, Sont mesurées et présentées dans le tableau 16. La matière sèche varie de 23,23 % à 25,63 % de la matière fraîche, avec une moyenne de 24,46 %, et un écart type de 1,20.

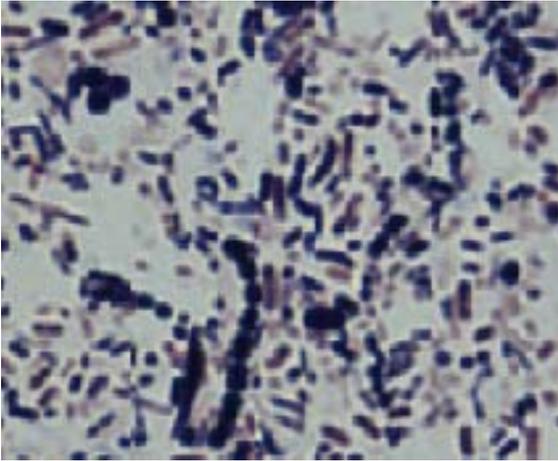
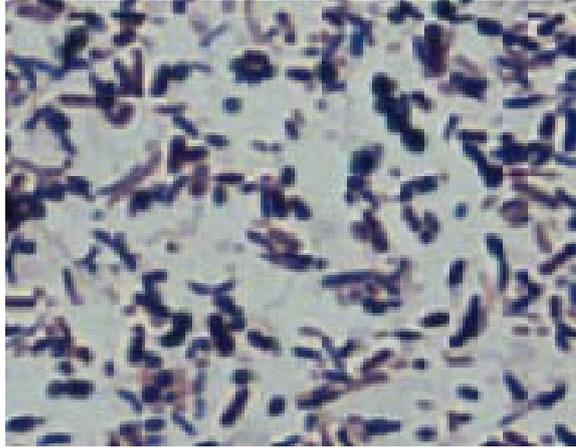
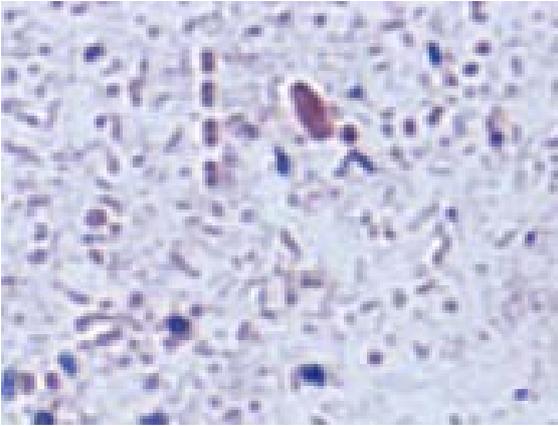
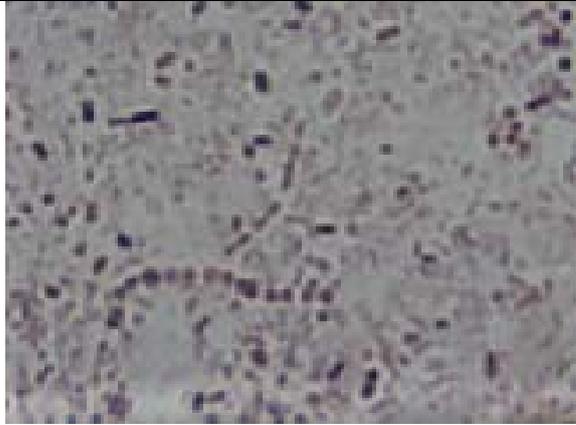
Le liquide ruminal contient un pourcentage de matière organique élevé, avec une moyenne de 94,20 % et un écart type de 1,37. Et un pourcentage de matière minérale faible avec une moyenne de 5,80 % et un écart type de 1,37.

Tableau 16: le pourcentage de la matière sèche, organique et minérale du liquide ruminal tel quel

Creusets	Matière Sèche (% MF)	Humidité (% MF)	Matière Minérale (% MS)	Matière Organique (% MS)
1	23,23	76,77	4,24	97,76
2	24,51	75,49	6,34	93,66
3	25,63	74,37	6,82	93,18
<i>Moyenne</i>	<i>24,46</i>	<i>75,54</i>	<i>5,80</i>	<i>94,20</i>
<i>Ecart type</i>	<i>1,20</i>	<i>1,20</i>	<i>1,37</i>	<i>1,37</i>

2. Analyse microbiologique du liquide ruminal

Tableau 17: observation microscopique des bactéries G + et G – du liquide ruminal, tels quels, mixte, après filtration.

LRTQ	LRF
	
LFM	LRM
	

2.1 Analyse du rapport G+/G- de la flore bactériennes ruminale

L'observation microscopique de la flore du liquide ruminal après coloration de Gram révèle que les bactéries Gram (-) sont dominantes par rapport aux bactéries Gram (+).

La population bactérienne dans le liquide ruminal tel quel est plus nombreuse que la population du liquide ruminal filtré à cause de la filtration du liquide.

Après épuisement le nombre des bactéries diminue encore plus, mais la dominance reste la même (bactéries Gram – supérieures aux bactéries Gram +). Ces résultats sont les mêmes dans tous les essais.

2.2 Analyse morphologique de la flore bactériennes ruminale

La coloration de Gram permet l'observation de plusieurs formes des bactéries. Ces formes sont présentées avec différents modes de regroupement : cocci de petite taille, bacilles de grande taille, vibrions incurvé, cocci isolés, diplocoques, bacilles isolés, cocci en chainettes, bacilles en chainettes, spirales, tétracoques, large bacteria, streptocoques, etc.

3. Analyse des caractéristiques des sources d'énergie

3.1 Sources d'énergie non fibreuse : les résidus d'oranges

3.1.1 Matière sèche

Les résidus d'oranges contiennent une grande quantité de la matière sèche qui varie d'un minimum de 88,78 % à un maximum de 89,9 % de la matière fraîche, avec une moyenne de 89,19 % et un écart type de 0,62. Alors que le pourcentage d'eau est faible, avec une moyenne est de 10,81 % et un écart type de 0,62.

Tableau 18: Pourcentage de matière sèche, organique et minérale des résidus d'oranges

	Matière sèche (% MF)	Humidité (% MF)	Matière organique (% MS)	Matière minéral (% MS)
creuset 1	88,78	11,22	96,15	3,85
creuset 2	89,9	10,1	95,19	4,81
creuset 3	88,89	11,11	95,65	4,35
Moyenne	89,19	10,81	95,66	4,34
Ecart type	0,62	0,62	0,48	0,48

3.1.2 Matière organique

La matière organique du résidu d'oranges varie d'un minimum de 95,19 % au maximum de 96,15 % de la matière sèche, avec une moyenne de 95,66 % et un écart type de 0,48.

3.1.3 Matière minérale

La matière minérale dans les résidus d'oranges est faible, elle varie d'un creuset à un autre : d'un minimum de 3,85 à un maximum de 4,81 % de la matière sèche. Avec une moyenne de 4,34 % et un écart type de 0,48.

3.2 Sources d'énergie fibreuse : les cardes

3.2.1 Matière sèche

Les cardes ont un grand pourcentage de la matière sèche varie d'un minimum de 91,83 % au maximum de 93,29 % de la matière fraîche, suivie d'une moyenne de 92,38 % et un écart type de 0,79. Alors que le pourcentage d'eau est plus petit d'une moyenne de 7,62 %.

Tableau 19: Pourcentage de matière sèche, organique et minérale des cardes

	Matière sèche (% MF)	Humidité (% MF)	Matière organique (% MS)	Matière minérale (% MS)
creuset 1	91,83	8,17	87,86	12,14
creuset 2	93,29	6,71	87,11	12,89
creuset 3	92,03	7,97	88,96	11,04
Moyenne	92,38	7,62	87,98	12,02
Ecart type	0,79	0,79	0,93	0,93

3.2.2 Matière organique

La matière organique des cardes varie de 87,11 % à 88,96 % de la matière sèche avec une moyenne de 87,98 et un écart type de 0,93.

3.2.3 Matière minérale

Au contraire de la matière organique, la quantité de la matière minérale est faible, elle varie de 11,04 % à 12,89 % de la matière sèche. Leur moyenne est d'une valeur de 12,02 avec un écart type de 0,93.

Comparaison entre les deux sources d'énergie

La matière sèche des deux substrats est élevée, avec une moyenne de 92,38 % de la matière fraîche pour les cardes et 89,19 % de la matière fraîche pour les résidus d'oranges.

Les résidus d'oranges ont un pourcentage plus élevé en matière organique par rapport aux cardes (95,66 % pour RO, 87,98 % pour les cardes). Et un pourcentage faible en matière minérale par rapport aux cardes.

Tableau 20: Comparaison du pourcentage de MS, MO et MM entre les résidus d'oranges et les cardes

Substrats	Matière Sèche résiduelle (% MF)	Humidité (% MS)	Matière Organique (% MS)	Matière minérale (% MS)
Résidus d'orange	89,19 ± 0,62	10,81 ± 0,62	95,66 ± 0,48	4,34 ± 0,48
Cardes	92,38 ± 0,79	7,61 ± 0,79	87,98 ± 0,93	12,02 ± 0,93

4. Cinétique de dégradation des sources d'énergie en présence de différentes sources d'azote.

4.1 Les sources d'azote comme source d'énergie

Après 96 h de fermentation, les résultats obtenus sont présentés dans la figure 18.

L'extrait de levure donne un meilleur résultat, avec une grande production de gaz (9,6 ml pour 10 mg N / 100 ml de milieu tamponné réduit inoculé et épuisé). Suivi Le glutamate de sodium avec une production de 6,6 ml de gaz, puis le bicarbonate d'ammonium (2,4 ml), et enfin le nitrate de potassium (1,5 ml).

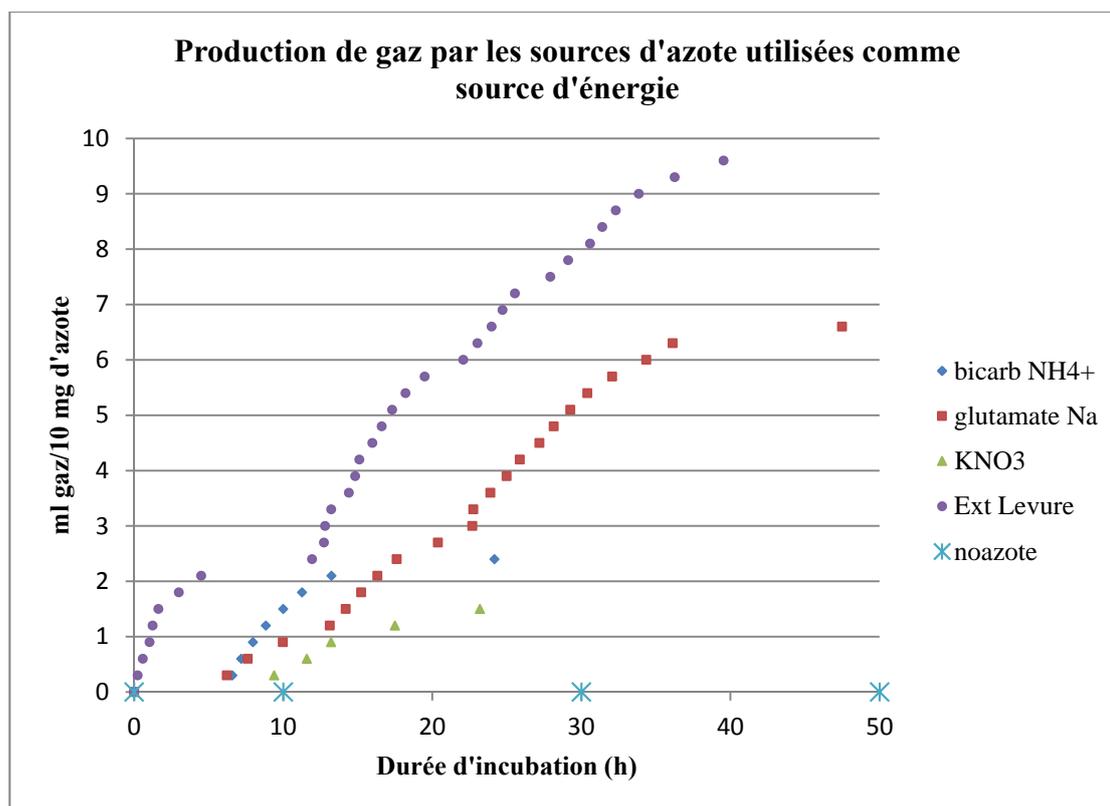


Figure 22: Production de gaz par les sources d'azote (10 mg/100 ml de milieu tamponné réduit inoculé épuisé) Utilisées comme source d'énergie.

Le glutamate de sodium est un acide aminé amphotère qui contient un groupement amine (NH_2), un groupement carboxyle ($-\text{COOH}$) et une chaîne carbonée ($\text{COO}^- - \text{CH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{COO}^-$). Cet acide aminé est désaminé en ammoniacque par la désaminase. L'ammoniacque est utilisée comme source d'azote. La chaîne carbonée peut servir comme source d'énergie.

Le bicarbonate d'ammonium est un sel, qui se dissocie dans l'eau en ions carbonates HCO_3^- et en ions ammonium NH_4^+ . L'ion ammonium est transformé en ammoniacque, qui sera utilisée comme source d'azote par la microflore ruminale. Alors que l'ion carbonate HCO_3^- peut être utilisé comme source de carbone (Yang et al., 2016).

Le nitrate de potassium KNO_3 se dissocie dans l'eau en ions potassium (K^+) et en ions nitrate (NO_3^-). Les ions nitrates sont transformés en ions nitrites par la nitrate réductase. La nitrite réductase transforme les ions nitrites en hydroxylamine (NH_2OH), qui est transformée par l'hydroxylamine réductase en ammoniacque, laquelle sera utilisée comme source d'azote par les microorganismes du rumen (Yang et al., 2016).

Tableau 21: Caractéristiques de la cinétique de l'utilisation des sources d'azote comme source d'énergie.

Sources d'azote alternatif	Volume maximal de gaz (ml)	Temps de latence (h)
Extrait de levure	9,6	0,0
Glutamate de sodium	6,6	6,21
Nitrate de potassium	1,5	10
Bicarbonate d'ammonium	2,4	6,21
Contrôle (pas de source d'azote)	0,0	0,0

Le milieu qui ne contient ni source d'azote ni source d'énergie (blanc) ne produit pas de gaz, à cause de l'épuisement total des sources d'azote et d'énergie résiduels.

En conclusion, les sources d'azote organique peuvent être utilisées comme source d'énergie, par contre les sources d'azote inorganique ne peuvent pas. Dans le milieu sans azote et sans énergie (blanc), l'activité métabolique de la flore ruminale est nulle, donc il n'y a pas une production de gaz.

4.2 Source d'énergie fibreuse : les cardes

Dans le cas des cardes, les sources d'azote organique produisent une grande quantité de gaz que les sources d'azote inorganique.

On observe 3 types de courbes : le premier type c'est l'extrait de levure. Ce dernier donne un meilleur résultat que les autres, par une quantité de gaz de 51,3 ml.

Le deuxième type c'est le glutamate de sodium, avec une production de 33,3 ml de gaz.

Alors que le troisième type : les cardes seul, les cardes + bicarbonate d'ammonium et les cardes + nitrate de potassium. Les cardes seul donne une meilleure production de gaz au départ (les premiers 24 h), suivi le bicarbonate d'ammonium, suivi le nitrate de potassium, après 24 h la production est apparue presque similaire, avec une production de gaz de 23 ml.

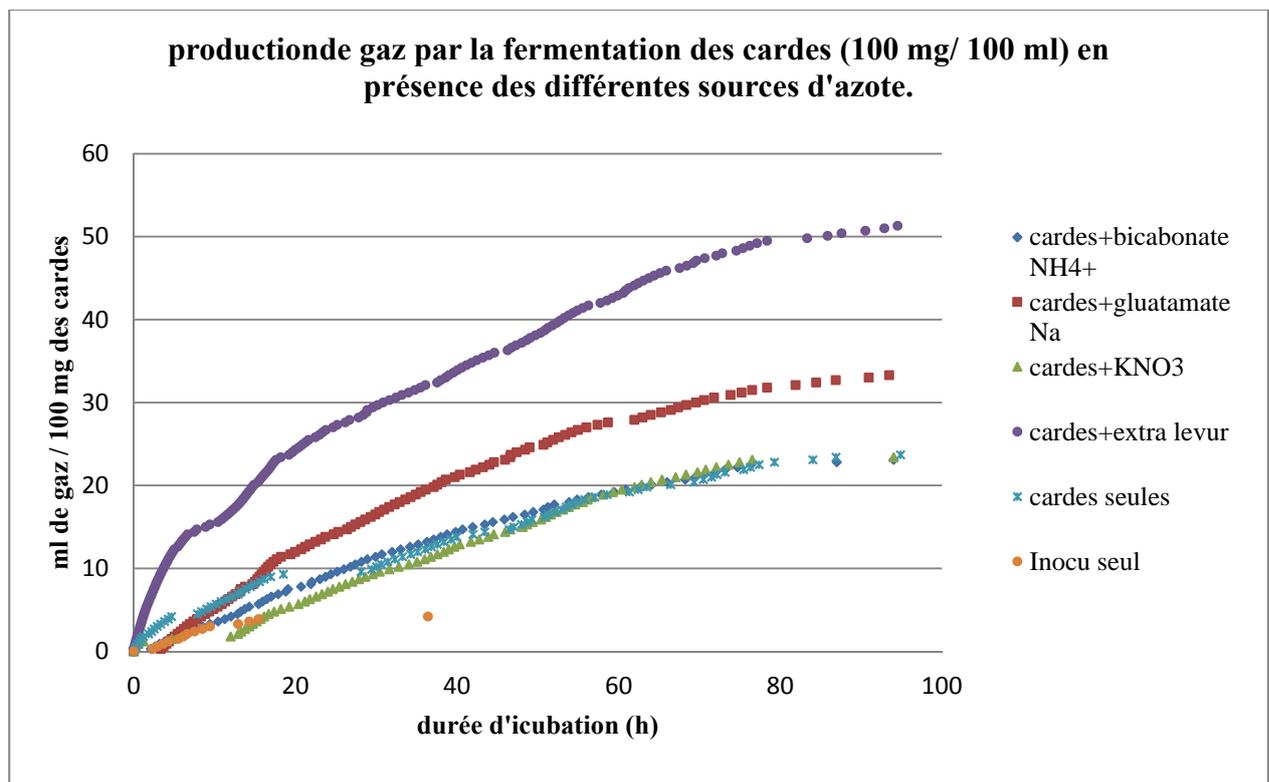


Figure 23: production de gaz par la fermentation des cardes (100 mg /100 ml) en présence des différentes sources d'azote (inocu seul: pas d'énergie ni azote ajouté à l'inoculum épuisé).

4.3 Source d'énergie non fibreuse : les résidus d'oranges

Dans le cas des résidus d'oranges, l'inoculum seul ne donne aucune production de gaz, ceci est dû à l'épuisement total. Cet épuisement ne tue pas la microflore de l'inoculum parce qu'il y a une production de gaz avec les sources d'azote et d'énergie ajouté.

Comme le cas des cardes, l'extrait de levure donne un meilleur résultat que les autres, par une production de gaz de 42 ml. Suivi par le glutamate de sodium avec une production de 33,3 ml de gaz.

Le bicarbonate d'ammonium avec les résidus d'orange stimule la production de gaz, avec une quantité de 27,3 ml de gaz, cette résultat est diffère au cas des cardes, pace que la composition des résidus d'oranges et des cardes n'est pas la même.

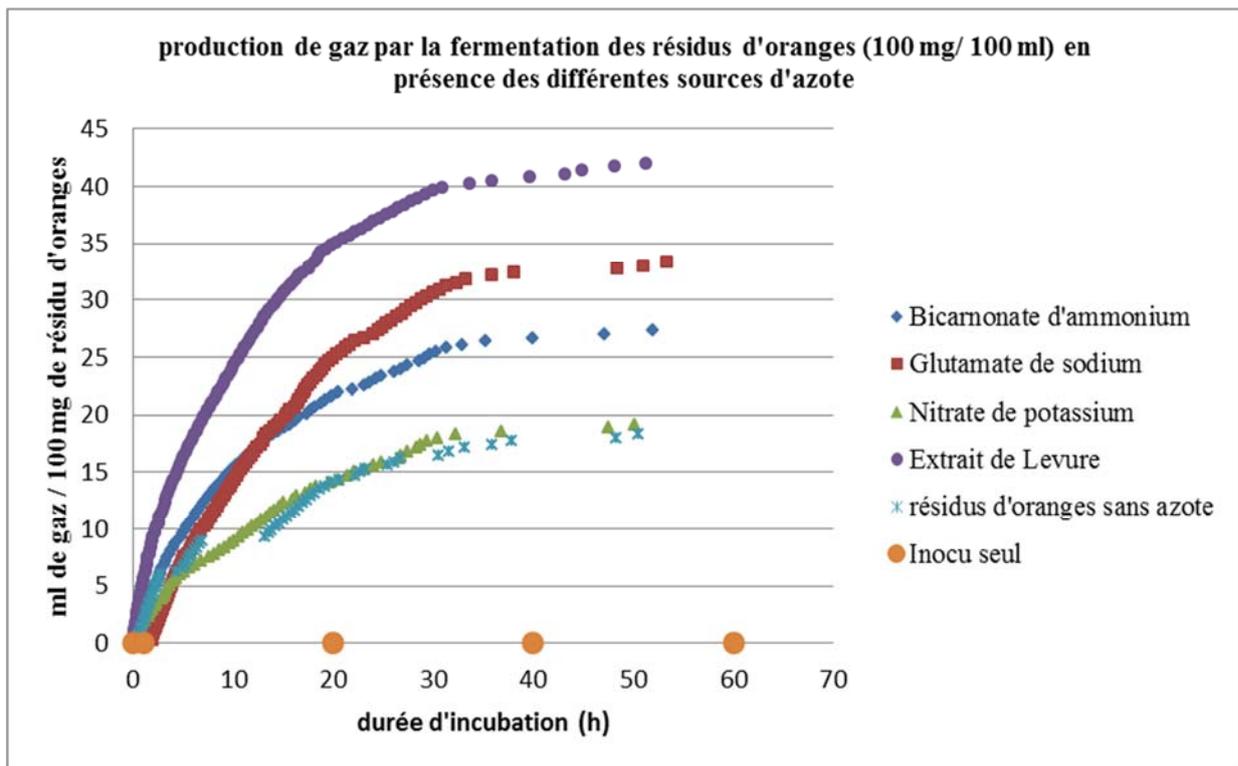


Figure 24: production de gaz par la fermentation des résidus d'orange (100 mg /100 ml) en présence des différentes sources d'azote (inocu seul: pas d'énergie ni azote ajouté à l'inoculum épuisé).

Les résidus d'oranges seuls ou en présence du nitrate de potassium, comme source d'azote, donnent une production de gaz presque similaire de 18,3 ml. Le nitrate de potassium ne tue pas la microflore de l'inoculum, mais n'améliore pas la production de gaz pour une quantité égale 0,012 g/100 ml de milieu tamponné réduit inoculé.

Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de notre travail est d'étudier l'effet des sources d'azote organique (l'extrait de levure et le glutamate de sodium) et inorganique (le nitrate de potassium et le bicarbonate d'ammonium), sur la microflore ruminale des bovins, en présence de deux sources d'énergies (les résidus d'oranges et les cardes). L'évaluation des paramètres microbiologiques de liquide ruminal indique que les bactéries Gram négatif sont les plus dominante que les bactéries Gram positif, même après filtration du liquide. Les paramètres physico-chimiques montrent que les résidus d'oranges sont riches en matière organique que les cardes.

Après 96 h de fermentation, les microorganismes ruminiaux produisent une grande quantité de gaz avec les sources d'azote organique dans le cas des cardes et des résidus d'oranges et même dans le cas où les sources d'énergies sont absentes.

La production de gaz est meilleure avec l'extrait de levure qu'avec le glutamate pour les deux sources énergétiques, alors que le bicarbonate d'ammonium produit plus que le nitrate de potassium qui inhibe l'activité métabolique.

En conclusion, l'activité de la microflore ruminale est stimulée plus avec les sources d'azote organique en présence des cardes et des résidus d'oranges. Donc, nous avons la capacité d'introduire les cardes et les résidus d'oranges mélangés avec les sources d'azote organique dans l'alimentation des ruminants.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K. and Watson JD.** 1986. Biologie moléculaire de la cellule. Flammarion. Paris. pp 114 -1103.
2. **Allison H., Leek D.A., Swenson S. and Reece S.** 2007. Rumen Microbiology and Fermentation. Animal Nutrition Handbook, 3: 54-63.
3. **Amokrane S.** 2010. Etude des prétraitements microbiologiques des résidus agroalimentaires lignocellulosiques en vue de leur valorisation en alimentation animale. Mémoire de magister. Université de Constantine. pp 11-21.
4. **Aro N., Pakula T., Penttilä M.** (2005). Transcriptional regulation of plant cell wall degradation by filamentous fungi. Microbiol. Rew. 29, 719-739.
5. **Belbis G. H.** 2007. Flore du rumen : origine, évaluation, composition, conséquences physiopathologique. Thèse de doctorat vétérinaire. École national vétérinaire d'Alfort.Pp 17-135.
6. **Bestle J M. et Jouany J P.** 1990. La biomasse pariétale des fourrages et sa valorisation par les herbivores. INRA. Pro. Anim, 3 (1), pp: 39.
7. **Bonnefont C.** 2008. Le potentiel Redox et le milieu ruminal. Mémoire de Master. Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse. pp 7-10.
8. **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.
9. **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.

10. **Brocard V, Brunschwig P, Legarto J, Paccard P, Rouille B, Bastien D, Leclerc M-C.** 2010. Guide pratique de l'alimentation du troupeau bovin laitier. L'Institut de l'élevage : Paris, 268 pages.
11. **Brugère H.** 1983. Biochimie du rumen – Aspects physiologiques. Bull. GTV, 3, 5-22.
12. **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, Tyvend P, editors. Digestive physiology and metabolism in ruminants. Pp227-250.
13. **Cheng K.J., Akin D. E. and Costerton J. W.** 1977. Rumen bacteria: interaction with particulate dietary components and response to dietary variation. Fed. Proc36:pp 193-197.
14. **Chesson A. and Forsberg C. W.** 1988. Polysaccharide Degradation by Rumen Microorganisms. In: Hobson PN, editors. The rumen microbial ecosystem. Elsevier Science Publisher2: pp 251-527.
15. **Clos J.** 2011. Les fonctions de nutrition chez les animaux. Ellipses. Paris. pp 70-90.
16. **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.
17. **Czerkawski, J.W.** 1969. Methane production in ruminants and its significance. World Review of Nutrition and Dietetics, 11, 240-282.
18. **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 sciences79: pp 2908-2912.
19. **Dusart C.** 2014. La digestion ruminale : mise en place d'un modèle d'étude in vitro à long terme en culture batch. Thèse doctorat en Sciences Vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse. pp 33- 40.
20. **Euzéby J. P.** 2006. Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire [en-ligne], [<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/garde.html>]

21. **Ferhaoui N., Halilef K.** 2013. Effet des extraits de déchets d'oranges sur la flore ruminale mixte des bovins et sur ses principaux groupes bactériens fonctionnel. Mémoire de master. Université de Constantine. pp 07 - 14.
22. **Fonty G. et Chaucheyras-Durand F.** 2007. Les écosystèmes digestifs. (Eds), Technique & Documentation, Paris, pp. 79-94 ; 158-187 ; 204-217 ; 252-265. Jouany J.P. 1994. Les fermentations dans le rumen et leur optimisation. INRA Prod Anim, 7(3) : 207-225.
23. **Fonty G. et Forano E.** 1999. Ecologie de la dégradation et de la fermentation des polysides constitutifs des parois végétales dans le rumen. Cahier Agriculture, 8 (1): 21-35.
24. **Fonty G., Forano E., Gaudet G., Komisarczuk S. et Gouet Ph.** 1988a. Données nouvelles sur les bactéries cellulolytiques Reprod. Nutr développ, 28 :19-32.
25. **Fonty G., Grenet E., Fevre M. Breton A. and Gouet Ph.** 1988 b. Ecologie et fonctions des champignons anaérobies du rumen. Reprod. Nutr. Dévelop, 1 : 1-18.
26. **Forano E., Broussolle V. and Duraud D.** 1996. Degradation of plant cell wall polysaccharides by rumen bacteria and fungi. Annales de Zootechnie. 45 : pp 291-295.
27. **Graham L .P. and Malcolm J.L.** 1979. Characteristics of enzymes produced by *Ruminococcus flavefaciens* which degrade plant cell walls. Journal of General Microbiology, 110 : 21-27.
28. **Grenet E. and BesleJ.** 1991. Microbes and fibre degradation, in Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion. Edition Quac. Pp107-129.
29. **Guillaume H.B.** 2007. Flore du Rumen : Origine, Composition, Evolution, Conséquence Physiopathologiques. Thèse Med. Vet, Alfort, pp. 21-47.
30. **Hillman, K., Lloyd, D. & Williams, A.G.** 1985. Use of a portable quadrupole mass spectrometer for the measurement of dissolved gas concentrations in ovine rumen liquor in situ. Current Microbiology, 12, 335-339.
31. **Jean-Pierre Jouany, Pierre Thivend.** 2008. La production de méthane d'origine digestive chez les ruminants et son impact sur le réchauffement climatique », Management & Avenir 2008/6 (n° 20), p. 259-274.

32. **Jouany J.P.**1994. Les fermentations dans le rumen et leur optimisation. INRA Productions animales. <https://www6.inra.fr/productions-animales/>. pp 207-225.
33. **Jouany J.P., Daridllat C., Kayouli C.** 1995. Microbial cell wall digestion in camelides. Elevage et alimentation du dromadaire. Option méditerranéennes : 33-42.
34. **Khenaka K.** 2011. Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Biotechnologies microbiennes. Université Mentouri Constantine. Page : 13.
35. **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.
36. **Martin C., Morgavi D., Doreau M., Jouany J.P.** 2006. Comment réduire la production de méthane chez les ruminants ? Fourrages, 187, 283-300.
37. **Mebirouk L.** 2014. Nutrition animale. Edition office des publications Universitaire. Alger. pp 27-53.
38. **Michalet-Doreau B, Fernandez I, Peyron C, Millet L.** 2001 Fibrolytic activities and cellulolytic bacterial community structure in the solid and liquid phases of rumen contents. Reprod. Nutr. Dev., 41, 187-194
39. **Mordjane S.** 2011. Effet de l'ajout des résidus d'orange seuls ou en mélange avec les fourrages naturels fibreux, chrysanthème (*Chrysanthemum coronarium*) et cardes (*Silybum marianum*), sur la microflore ruminale de dromadaire et sa composant bactérienne. Mémoire de master. Université de Constantine. pp 5-6.
40. **Morrison M.** 2000. The Microbial Ecology and Physiology of Ruminant Nitrogen Metabolism. In: Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. Department of Animal Science, School of Biological Sciences and Center for Biotechnology. USA : University of Nebraska, Lincoln, Nebraska, 2000, pp : 103.
41. **Ransom-Jones E., David L. J., Alan J. McCarthy. and James E. McDonald.** 2012. The Fibrobacteres: an Important Phylum of Cellulose-Degrading Bacteria. Springer Science Microb Ecol. 63: pp 267-281.

42. **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.
43. **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.
44. **Soltner D.** 1994. Alimentation des animaux domestiques. *Cool. Sci. Tech. Agric.*, édition, Paris : 20ème édition.
45. **Stewart C., H. Flint and M.P. Bryant.** 1997. The rumen bacteria. *The Rumen Microbial Ecosystem* pp. 10–72. Blackie Academic and Professional, London.
46. **Tagliapietra, A. F., Squartini, A. A., Schiavon, A. S. and al.** 2015. Associative effects of poor-quality forages combined with food industry by products determined in vitro with an automated gas-production system. *Animal Production Science*, 55, pp 1117–1122.
47. **Thivend P., G. Fonty, J.P. Jouany, M. Durand and Ph. Gouet.** 1985. Le fermenteur rumen. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 25 : 729-753.
48. **Tiret L.** 2001. Physiologie de la digestion. Polycopié, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Physiologie et Thérapeutique. pp 69.
49. **Tokua M., Chagan T., Ushida K. and Kojima I.** 1999. Phylogenetic study of methanogens associated with rumen ciliates. *Curr. Microb.* 39 : 123-128.
50. **Tokua M., Chagan T., Ushida K. and Kojima I.** 1999. Phylogenetic study of methanogens associated with rumen ciliates. *Curr. Microb.* 39 : 123-128.
51. **Toutain. PL.** 2008. Cours sur la digestion microbienne chez les ruminants. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.
52. **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.

53. **Zened A.** 2011. Particularités du microbiote et son activité lors de déviation de la biohydrogénation ruminale de l'acide linoléique de la voie trans-11 à la voie trans-10. Thèse doctorat. Institut Nationale Polytechnologique de Toulouse. pp 32-34.
54. **Anonym 01.** 2017. Hemicellulose. <https://en.wikipedia.org/wiki/Hemicellulose>
55. **FAO.** 2012. FAO stat.<http://faostat.fao.org/default.aspx> Consulté le 15 mars 2012.
- Faverdin. P., 1985. Régulation de l'ingestion des vaches laitières en début de lactation. PhD Thesis, Institut national Agronomique paris-Grignon, Paris, France.

Annexes

Annexe 01 : Essai 01 (la fermentation des résidus d'oranges sans épuisement de l'inoculum)

Date : 22/04/2017

Canal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	bicarbonate NH ₄ ⁺	bicarbonate NH ₄ ⁺	glutamate Na	glutamate Na	KNO ₃	KNO ₃	Extrait de levure	Extrait de levure	0 N + 1g RO	0 N + 1g RO	0 N + O énergie	0 N + O énergie
Source d'azote	(g N/100 ml) 0.0566	(g N/100 ml) 0.0565	(g N/100 ml) 0.1159	(g N/100 ml) 0.1156	(g N/100 ml) 0.128	(g N/100 ml) 0.129	((g N/100 ml) 0.911	(g N/100 ml) 0.912	pas d'azote	pas d'azote	pas d'azote	pas d'azote
Source d'énergie	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1047	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1042	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1049	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1042	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1042	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1047	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1043	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1042	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1045	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1047	pas d'énergie	pas d'énergie
Inoculum	24 ml	24 ml	24 ml	24 ml	24 ml	24 ml	24 ml	24 ml	24 ml	24 ml	24 ml	24 ml
Milieu tamponné	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml
Volume total	124 ml	124 ml	124 ml	124 ml	124 ml	124 ml	124 ml	124 ml	124 ml	124 ml	124 ml	124 ml
Code de lames	F 1	F 2	F 3	F 4	F 5	F 6	F 7	F 8	F 9	F 10	F 11	F 12
pH final	6.95	6.93	6.92	6.94	6.93	6.92	6.91	6.93	6.93	6.92	7.04	7.04
Durée d'épuisement	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h

- Code lame LRTQ : LRTQ 1 - 2017

LRTQ 2 - 2017

LRTQ 3 - 2017

- Code lame LRF : LRF 1 - 2017

LRF 2 - 2017

LRF 3 - 2017

- Code lame LRM : LRM 1 -2017

LRM 2 - 2017

LRM 3 - 2017

Annexe 02 : Essai 02 (la fermentation des résidus d'oranges après épuisement de l'inoculum)

Date : 13/05/2017

Canal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Bicarbonate NH ₄ ⁺	Bicarbonate NH ₄ ⁺	Glutamate Na	Glutamate Na	KNO ₃	KNO ₃	Extrait de levure	Extrait de levure	0 N + 1g RO	0 N + 1g RO	0 N + O énergie	0 N + O énergie
Source d'azote	(g N/100 ml) 0.0566	(g N/100 ml) 0.0565	(g N/100 ml) 0.1159	(g N/100 ml) 0.1156	(g N/100 ml) 0.0128	(g N/100 ml) 0.0129	(g N/100 ml) 0.0911	((g N/100 ml) 0.0912	pas d'azote	pas d'azote	pas d'azote	pas d'azote
Source d'énergie	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1047	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1042	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1049	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1042	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1047	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1047	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1043	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1042	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1050	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1047	pas d'énergie	pas d'énergie
Inoculum	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml
Milieu tamponné	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml
volume total	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml
Code de lames	'F 1	'F 2	'F 3	'F 4	'F 5	'F 6	'F 7	'F 8	'F 9	'F 10	'F 11	'F 12
pH final	6.81	6.80	6.49	6.80	6.81	6.81	6.81	6.80	6.85	6.77	6.84	6.85
Durée d'épuisement	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h

- Code lame LRTQ : 'LRTQ 1

'LRTQ 2

'LRTQ 3 - 2017

- Code lame LRF : 'LRF 1

'LRF 2

'LRF 3 - 2017

- Code lame LRM : 'LRM 1

'LRM 2

'LRM 3 -2017

Annexe 03 : Essai 03 (la fermentation des cartes après épuisement de l'inoculum)

Date : 19/05/2017

Canal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Bicarbonate NH ₄ ⁺	Bicarbonate NH ₄ ⁺	Glutamate Na	Glutamate Na	KNO ₃	KNO ₃	Extrait de levure	Extrait de levure	0 N + 1g RO	0 N + 1g RO	0 N + O énergie	0 N + O énergie
Source d'azote	(g N/100 ml) 0.0568	(g N/100 ml) 0.567	(g N/100 ml) 0.1157	(g N/100 ml) 0/1158	(g N/100 ml) 0.0121	(g N/100 ml) 0/0122	(g N/100 ml) 0.0918	(g N/100 ml) 0.0920	pas d'azote	pas d'azote	pas d'azote	pas d'azote
Source d'énergie	Cartes (g/ 100ml) 0.1016	Cartes (g/ 100ml) 0.1028	Cartes (g/ 100ml) 0.1014	Cartes (g/ 100ml) 0.1014	Cartes (g/ 100ml) 0.1015	Cartes (g/ 100ml) 0.1020	Cartes (g/ 100ml) 0.1019 g	Cartes (g/ 100ml) 0.1016	Cartes (g/ 100ml) 0.1015	Cartes (g/ 100ml) 0.1016	pas d'énergie	pas d'énergie
Inoculum	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml
Milieu tamponné	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml
volume total	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml
code lame	“F 1	“F 2	“F 3	“F 4	“F 5	“F 6	“F 7	“F 8	“F 9	“F 10	“F 11	“F 12
pH final	6.75	6.76	6.74	6.76	6.80	6.76	6.76	6.74	6.68	6.78	6.81	6.85
Durée d'épuisement	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h

- Code lame LRTQ : "LRTQ 1

"LRTQ 2

"LRTQ 3

- Code lame LRF : "LRF 1

"LRF 2

"LRF 3

- Code lame LRM : "LRM 1

"LRM 2

"LRM 3

Annexe 04 : Essai 04 (l'utilisation des sources d'azote comme sources d'énergie)

Date : 27/05/2017

Canal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Bicarbonate NH ₄ ⁺	Bicarbonate NH ₄ ⁺	Bicarbonate NH ₄ ⁺	Glutamate Na	Glutamate Na	Glutamate Na	KNO ₃	KNO ₃	KNO ₃	Extrait de levure	Extrait de levure	12
Source d'azote	(g N/100 ml) 0.0569	(g N/100 ml) 0.0567	(g N/100 ml) 0.0566	(g N/100 ml) 0.1153	(g N/100 ml) 0.1153	(g N/100 ml) 0.1158	(g N/100 ml) 0.0129	(g N/100 ml) 0.0124	(g N/100 ml) 0.0128	(g N/100 ml) 0.915	(g N/100 ml) 0.912	pas d'azote
Source d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie	pas d'énergie
Inoculum	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml
Milieu tamponné	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml	80 ml
volume total	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml
Code de lames	""F 1 E 4	""F2 E 4	""F 3 E3	""F 4 E 4	""F 5 E 4	""F 6 E 4	""F 7 E 4	""F 8 E 4	""F 9 E 4	""F 10 E 4	""F 11 E 4	"" 12 E 4
pH final	6.58	6.49	6.51	6.42	6.42	6.43	6.45	6.43	6.10	6.44	6.49	6.42
Durée d'épuisement	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h

- Code lame LRTQ : ""LRTQ 1 - E 4

""LRTQ 2 - E 4

""LRTQ 3 - E 4

- Code lame LRF : ""LRF 1 - E 4

""LRF 2 - E 4

""LRF 3 - E 4

- Code lame LRM : ""LRM 1 - E 4

""LRM 2 - E 4

""LRM 3 - E 4

Annexe 05 : Essai 05 (la fermentation des résidus d'oranges après épuisement de l'inoculum)

Date : 10/06/2017

Canal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Bicarbonat e NH4+	Bicarbonate NH4+	Glutamate Na	Glutamate Na	KNO ₃	KNO ₃	Extrait de levure	Extrait de levure	0 N + 1g RO	0 N + 1g RO	0 N + O énergie	0 N + O énergie
Source d'azote	(g N/100 ml) 0.0568	(g N/100 ml) 0.0566	(g N/100 ml) 0.1152	(g N/100 ml) 0.1153	(g N/100 ml) 0.0122	(g N/100 ml) 0.0126	(g N/100 ml) 0.0918	(g N/100 ml) 0.0916	pas d'azote	pas d'azote	pas d'azote	pas d'azote
Source d'énergie	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1018	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1031	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1028	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1023	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1029	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1025	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1014	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1028	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1026	Résidus d'oranges (g/ 100ml) 0.1025	pas d'énergie	pas d'énergie
Inoculum	20 ml	20 ml	20 ml									
Milieu tamponné	80 ml	80 ml	80 ml									
Volume total	100 ml	100 ml	100 ml									
Code de lames	'F 1 E 5	'F 2 E 5	'F 3 E 5	'F 4 E 5	'F 5 E 5	'F 6 E 5	'F 7 E 5	'F 8 E 5	'F 9 E 5	'F 10 E 5	'F 11 E 5	'F 12 E 5
pH final	6.80	6.76	6.76	6.74	6.75	6.83	6.75	6.71	6.85	6.76	6.79	6.81
Durée d'épuisement	24 h	24 h	24 h									

- Code lame LRTQ : LRTQ 1 - E 5

LRTQ 2 - E 5

LRTQ 3 - E 5

- Code lame LRF : LRF 1 - E 5

LRF 2 - E 5

LRF 3 - E 5

- Code lame LRM : LRM 1 - E 4

LRM 2 - E 5

LRM 3 - E 5

Résumé

Résumé

Dans notre travail, nous avons étudié l'effet des sources d'azote organiques (l'extrait de levure et le glutamate de sodium), et des sources d'azote inorganiques (le nitrate de potassium et le bicarbonate d'ammonium) sur les activités métaboliques de la microflore ruminal des bovins *in vitro*.

Les caractéristiques physico-chimiques (la matière sèche, la matière organique et la matière minérale, pH et la température) du liquide ruminal des bovins montre que leur pH est de l'ordre de 5,67 unité de pH, et il contient un pourcentage élevé de matière organique de 94,20 % de la matière sèche. Les caractéristiques microbiologiques indique que la plus part des bactéries ruminales sont des bactéries à Gram négatif.

Nous avons introduire un résidu agroalimentaire qui est les résidus d'oranges, et une plante fibreuse qui est les cardes, dans le milieu de culture *in vitro*, avec différentes sources d'azote (bicarbonate d'ammonium, glutamate de sodium, nitrate de potassium et l'extrait de levure), pour étudier leurs effets sur la flore ruminale.

La cinétique de production de gaz du milieu tamponné réduit inoculé et épuisé, indique que les sources d'azote organiques (extrait de levure et glutamate de sodium) seul ou avec les sources d'énergie (résidu d'oranges ou les cardes), donnent une meilleure production de gaz que les sources d'azote inorganiques (bicarbonate d'ammonium et nitrate de potassium). Ces dernier donne un résultat presque similaire aux cardes seuls. Alors que le bicarbonate d'ammonium donne une quantité de gaz élevée avec les résidus d'oranges qu'avec les cardes.

Donc, on conclue que les sources d'azote organiques stimulent plus l'activité métabolique de la microflore du rumen que les sources d'azote inorganique.

Summary

In our work, we studied the effect of organic nitrogen sources (yeast extract and sodium glutamate) and inorganic nitrogen sources (ammonium bicarbonate and potassium nitrate) on the metabolic activities the microflora of the rumen of cattle *in vitro*.

The physico-chemical characteristics (dry matter, organic matter, and the mineral matter, pH and temperature) cattle ruminal fluid ride than their pH is the order of 5,67 pH unit. And it contains a high percentage of organic matter 94,20 % of the dry matter. The microbiologic characteristics indicated that the majority of bacteria are Gram negative bacteria.

We have introduced an agri-food residue which is the orang residues, and a fibrous plant which is the chard, in the feeding of ruminants *in vitro*, with different sources of nitrogen (ammonium bicarbonate, sodium glutamate, potassium nitrate and yeast extract), to study their effects on ruminal flora.

The kinetics of gas production of the buffered medium reduced inoculated and depleted indicates that the organic nitrogen sources (yeast extract and sodium glutamate) alone or with the sources of energy (orange residue or chard) give better gas production than inorganic nitrogen sources (ammonium bicarbonate and potassium nitrate) the latter give an almost similar result to the cares alone. While ammonium bicarbonate gives a high amount of gas with the residues of oranges than with the chard.

Therefore, it is concluded that sources of organic nitrogen stimulate more the metabolic activity of the rumen microflora than sources of inorganic nitrogen.

ملخص

في عملنا هذا قمنا بدراسة تأثير المصادر النيتروجينية العضوية (مستخلص الخميرة , غلوتامات الصوديوم) والمصادر النيتروجينية غير العضوية (بيكاربونات الأمونيوم و نترات البوتاسيوم) على النشاط الأيضي للكائنات الحية الدقيقة لكرش الأبقار مخبريا

الخصائص الفيزيوكيميائية (مادة جافة , مادة عضوية , مادة معدنية , درجة الحموضة و درجة الحرارة) لسائل كرش الأبقار. بينت أن نسبة الحموضة تساوي % 5,67. وأنه يحتوي على نسبة عالية من المادة العضوية التي تساوي % 94,20 من المادة الجافة . أظهرت الخصائص الميكروبيولوجية أن البكتيريا غرام – هي السائدة. كما قمنا بإدخال بقايا البرتقال ونبات الخرفيش في النظام الغذائي للمجترات مخبريا , مع مختلف المصادر النيتروجينية (مستخلص الخميرة , غلوتامات الصوديوم, بيكاربونات الأمونيوم و نترات البوتاسيوم) من أجل دراسة تأثيرها على الكائنات الحية الدقيقة لكرش الأبقار.

بينت حركية إنتاج الغاز لوسط حافظ مرجع مطعم مفرغ , أن المصادر النيتروجينية العضوية (مستخلص الخميرة , غلوتامات الصوديوم) المتواجدة مفردة او مع مصادر الطاقة (بقايا البرتقال , ونبات الخرفيش) انتجت كمية مرتفعة من الغاز عكس المصادر النيتروجينية الغير عضوية (بيكاربونات الأمونيوم و نترات البوتاسيوم), أعطت هذه الأخيرة نتيجة مشابهة للوسط الحاوي على نبات الخرفيش فقط, أما بالنسبة لبيكاربونات الأمونيوم فقد أعطى كمية عالية من الغاز في وجود بقايا البرتقال على عكس نبات الخرفيش .

و منه نستنتج ان المصادر النيتروجينية العضوية حفزت أكثر النشاط الايضي للكائنات الحية الدقيقة لكرش الابقار على عكس المصادر الغير عضوية.

Comparaison entre azote organique et inorganique portant sur la dégradation *in vitro* des sources d'énergie alternative par la microflore ruminale: cas des sources d'azote

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

Dans notre travail, nous avons étudié l'effet des sources d'azote organiques (l'extrait de levure et le glutamate de sodium), et des sources d'azote inorganiques (le nitrate de potassium et le bicarbonate d'ammonium) sur les activités métaboliques de la microflore ruminal des bovins *in vitro*.

Les caractéristiques physico-chimiques (la matière sèche, la matière organique et la matière minérale, pH et la température) du liquide ruminal des bovins montre que leur pH est de l'ordre de 5,67 unité de pH, et il contient un pourcentage élevé de matière organique de 94,20 % de la matière sèche. Les caractéristiques microbiologiques indique que la plus part des bactéries ruminales sont des bactéries à Gram négatif.

Nous avons introduire un résidu agroalimentaire qui est les résidus d'oranges, et une plante fibreuse qui est les cardes, dans le milieu de culture *in vitro*, avec différentes sources d'azote (bicarbonate d'ammonium, glutamate de sodium, nitrate de potassium et l'extrait de levure), pour étudier leurs effets sur la flore ruminale.

La cinétique de production de gaz du milieu tamponné réduit inoculé et épuisé, indique que les sources d'azote organiques (extrait de levure et glutamate de sodium) seul ou avec les sources d'énergie (résidu d'oranges ou les cardes), donnent une meilleure production de gaz que les sources d'azote inorganiques (bicarbonate d'ammonium et nitrate de potassium). Ces dernier donne un résultat presque similaire aux cardes seuls. Alors que le bicarbonate d'ammonium donne une quantité de gaz élevée avec les résidus d'oranges qu'avec les cardes.

Donc, on conclue que les sources d'azote organiques stimulent plus l'activité métabolique de la microflore du rumen que les sources d'azote inorganique.

Mots clés : bovin, rumen, microflore ruminale, sources d'azote organique et inorganique, sources d'énergie.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Mycologie, de biotechnologie et de l'activité microbienne.

Jury d'évaluation :

Président du jury : M. KADEM Dhaou El Djabine (Professeur - UFM Constantine 1).
Rapporteur : Haddi Mohamed-Laid (Professeur - UFM Constantine 1).
Examinatrice : Bellil Ines (Maitre de conférence - UFM Constantine 1).

Date de soutenance : 10/07/2017