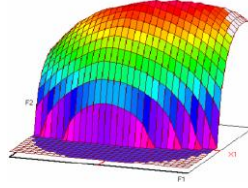




Année Universitaire 2020-2021



## Master Sciences et Techniques CAC Ageq

Chimométrie et Analyse Chimique : Application à la gestion industrielle  
de la qualité

### MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**Contribution à l'évaluation de la composition chimique et la  
qualité nutritionnelle des espèces sylvopastorales du nord du  
Maroc**

Présenté par :

Mlle .FADDOULI Siham

*E. H. ALILOU*  
*Siham Faddouli*

Encadré par :

Pr. ALILOU EL Houssine

FST

Encadrante interne

Dr. EL OTMANI Samira

INRA

Encadrante externe

Dr. CHEBLI Youssef

INRA

Encadrante externe

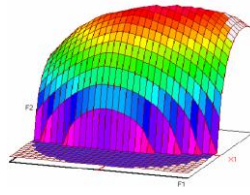
Soutenu Le 12 Juillet 2021 devant le jury composé de :

Pr. ALILOU EL Houssine

Pr. HARRACH Ahmed

Pr. KANDRI RODI Youssef

Stage effectué à L'Institut National de la Recherche Agronomique de Tanger



## Master ST CAC Ageq

**Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques**

Nom et prénom : FADDOULI SIHAM

Année Universitaire : 2020/2021

Titre : **Contribution à l'évaluation de la composition chimique et la qualité nutritionnelle des espèces sylvo-pastorales du nord du Maroc.**

### Résumé

Le but de cette étude est la détermination de la composition chimique et évaluation de la qualité nutritionnelle des quatre plantes sylvo-pastorales qui sont collectées au niveau de parcours forestier de Derdara sur la province de Chefchaouen au Nord du Maroc pour l'utilisation de ses espèces comme alimentation des caprins.

Les échantillons étudiés ont été analysés pour leur contenu en : matière (sèche, minéral, organique), constituants pariétaux (NDF, ADF, ADL), les composés phénoliques (tanin totaux, tanin condensé, lignine). La digestibilité de production de gaz et la digestibilité enzymatique.

Les plantes pastorales étudiées ont montré des résultats plus élevés surtout pour la teneur en matière sèche (jusqu'à 57,87%MS), la matière organique (96,36% MO), aussi la teneur en fibre, et des teneurs moyennes en polyphénols. La digestibilité des plantes pastorales est élevée jusqu'à 78,1%MS.

Selon notre étude et la comparaison avec des fourrages des mêmes espèces on conclure qu'un bon fourrage est celui qui est riche en %MO et %MS d'une façon que sa teneur en %ADL et en %TT doit être la plus faible, par contre sa digestibilité doit être la plus élevée.

D'après ces caractéristiques, on constate que parmi les quatre plantes pastorales étudiées *Calicotome villosa* est une bonne solution pour l'amélioration de l'alimentation des caprins, donc on peut considérer comme un bon fourrage.

# **Dédicaces**

## **Dieu merci**

*Je dédie ce travail à tous ceux, qui par un mot, m'ont donné la force de continuer*

### **A Ma Chère Mère Zeroual Saida**

*Les mots me manquent pour exprimer toute ma reconnaissance pour tout ce que tu as fait pour mon bonheur et ma réussite. Que Dieu te protège et t'accorde le bonheur, la santé et la longue vie. Pour ton grand amour, ta tendresse et tes longues prières qui m'ont été le meilleur gage de réussite, je t'offre ce travail.*

### **A la mémoire de mon défunt Père Faddouli Idriss**

*Ce travail est dédié à mon père décédé trop tôt*

*Nulle expression ne peut traduire le noble sentiment que j'ai à ton égard,  
Pour l'amour que tu m'as toujours porté,  
Pour ta patience et ta générosité,  
Pour ton soutien moral et matériel que tu as consentis en ma faveur,  
Je te dédie ce travail en témoignage de ma grande reconnaissance et mon grand amour.*

### **A Mon chère Frère Abderrahim et Mes Chères Sœurs Hasnae, Hassania et Imane**

*A qui, je porte le plus grand amour pour la collaboration et l'aide qu'ils n'ont cessé de m'apporter  
Que dieu vous protège et vous offre tout le bonheur que vous méritez pour votre avenir.*

### **A mes chères amies : Sama, Yousra et Imane**

*A tous mes amis(es) et camarades*

*A tous ceux qui ont contribué, d'une façon ou d'une autre, à l'élaboration de ce travail...*

# Remerciement

En préambule à ce mémoire je remercie ALLAH le tout puissant, qui m'a aidé et donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Ce mémoire n'aurait pas été possible sans l'intervention, consciente, d'un grand nombre de personnes que je souhaite remercier.

Je tiens à remercier le directeur d'institut régional de la recherche agronomique de Tanger, **Mr. CHENTOUF Mouad** qui m'a bien accueilli au sein de son centre, en m'accordant un stage à l'unité de Nutrition animal.

Mes profonds remerciements vont à mes encadrants de stage, **Dr .EL OTMANI Samira** et **Dr .CHEBLI Youssef**. Ils ont conduit ce stage d'une haute compétence et grande disponibilité. J'ai particulièrement été impressionné par ses qualités scientifiques et humaines ainsi que par leur patience, leur gentillesse et la rigueur avec laquelle ils ont mené à bien ce travail.

Mes remerciements profonds s'étendent également à mon encadrant, **Pr. ALILOU EL Houssine**, professeur à la faculté de sciences et techniques de Fès. Sa gentillesse, sa disponibilité incessante, son aide et ses conseils précieux.

Je tiens également à adresser mes plus vifs remerciements à tous les membres du jury **Pr. HARRACH Ahmed** et **Pr. KANDRI Youssef** qui nous ont honorés en acceptant de juger ce travail.

J'exprime également ma gratitude à l'ensemble des enseignants de la formation CAC agiq pour avoir porté un vif intérêt à ma formation, et pour avoir accordé la plus claire de leur temps, leur attention et leur énergie, dans un cadre très agréable de complicité et de respect.

Mes remerciements sont également adressés au **Mlle. BELABBASS Nouhaila**, technicienne de laboratoire pour sa gentillesse et sa disponibilité à rendre le service.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

## ***LISTE DES ABREVIATIONS***

**ADF** : acide detergent fiber

**ADL** : Acid Detergent Lignin

**AG** : acides gras

**AGV** : acides gras volatiles

**DMO** : digestibilité de la matière organique

**DMO chim** : digestibilité de la matière organique estimée par la méthode chimique

**DMO gaz** : digestibilité de la matière organique estimée par la méthode de gaz

**INRA** : Institut National de la Recherche Agronomique (Tanger).

**MAT** : matières azotées totales.

**MM** : matières minérales.

**MO** : matière organique.

**MS** : matière sèche.

**NDF** : neutral detergent fiber.

**PEG** : polyéthylène glycol

**PS** : phénols simple

**PT** : phénols totaux

**PVPP** : poly Vinyl Pyrrolidone

**TIVD** : true *in vitro* digestibility

**TT** : tanins totaux

**TC** : tanins condensés

**TH** : tanins hydrolysables

**UF** : unité fourragère

# **LISTE DES FIGURES**

	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	L'organigramme du CRRA de Tanger	<b>2</b>
<b>Figure 2</b>	Les domaines expérimentaux d'INRA de Tanger	<b>3</b>
<b>Figure 3</b>	L'évolution des effectifs du cheptel caprins entre 1995 et 2010	<b>5</b>
<b>Figure 4</b>	L'effectif du cheptel caprin et son importance par provinces	<b>6</b>
<b>Figure 5</b>	Les constituants chimiques des fourrages	<b>8</b>
<b>Figure 6</b>	La composition d'une plante (en % MS)	<b>9</b>
<b>Figure 7</b>	La structure chimique de la cellulose	<b>10</b>
<b>Figure 8</b>	La structure chimique d'hémicellulose	<b>10</b>
<b>Figure 9</b>	La structure chimique de la lignine	<b>11</b>
<b>Figure 10</b>	La structure de base des flavonoïdes	<b>12</b>
<b>Figure 11</b>	La structure des tannins hydrolysables	<b>13</b>
<b>Figure 12</b>	La structure chimique de flavan-3-ols	<b>13</b>
<b>Figure 13</b>	La teneur moyenne de la MS des espèces sylvo-pastorales étudiés	<b>46</b>
<b>Figure 14</b>	La teneur moyenne en MO et MM des plantes pastorales étudiés	<b>47</b>
<b>Figure 15</b>	Teneur en fibres en fonction d'espèce végétale	<b>49</b>
<b>Figure 16</b>	La variation d'absorbance en fonction de Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	<b>51</b>
<b>Figure 17</b>	Teneur en Polyphénols des espèces fourragères étudiées	<b>51</b>
<b>Figure 18</b>	L'analyse graphique des volumes de production de gaz	<b>53</b>
<b>Figure 19</b>	Cinétique de production de gaz (ml / g MS) des fourrages collectés	<b>55</b>
<b>Figure 20</b>	La dégradabilité des MM et MO en fonction des espèces étudiés	<b>57</b>

# **LISTE DES PHOTOS**

	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Photo 1</b>	L'espèce pastorale Calicotome Villosa	<b>5</b>
<b>Photo 2</b>	La composition d'un fourrage vert	<b>7</b>
<b>Photo 3</b>	L'espèce Quercus ilex	<b>18</b>
<b>Photo 4</b>	L'espèce Cistus monspeliensis	<b>18</b>
<b>Photo 5</b>	L'espèce Calicotome villosa	<b>18</b>
<b>Photo 6</b>	L'espèce Phillyrea latifolia	<b>18</b>
<b>Photo 7</b>	L'espèce Cistus monspeliensis après le séchage	<b>19</b>
<b>Photo 8</b>	Broyeur à couteaux	<b>19</b>
<b>Photo 9</b>	L'échantillon Calicotome villosa broyé et tamisés	<b>19</b>
<b>Photo 10</b>	L'incinération de la matière organique dans le four à moufle	<b>20</b>
<b>Photo 11</b>	Présentation de la matière minérale	<b>20</b>
<b>Photo 12</b>	L'appareil Ankom Fiber Analyzer.	<b>21</b>
<b>Photo 13</b>	Vérification de pH de la solution NDF	<b>23</b>
<b>Photo 14</b>	Sachet contenant les sacs filtrants	<b>23</b>
<b>Photo 15</b>	Traitement des sacs filtrants par l'acétone	<b>24</b>
<b>Photo 16</b>	Préparation de la solution ADF	<b>27</b>
<b>Photo 17</b>	Pesage des échantillons après séchage	<b>27</b>
<b>Photo 18</b>	Les sacs filtrants pressés dans la solution ADL	<b>30</b>
<b>Photo 19</b>	Refroidissement des sacsfiltrants dans le dessiccateur	<b>30</b>
<b>Photo 20</b>	Le traitement ultrasonique	<b>27</b>
<b>Photo 21</b>	L'étape de centrifugation	<b>28</b>
<b>Photo 22</b>	La récupération des surnageant dans des tubes en verre	<b>28</b>

<b>Photo 23</b>	Les solutions étalons de préparation de courbe d'étalonnage	<b>29</b>
<b>Photo 24</b>	La lecture de l'absorbance par spectrophotomètre UV-visible	<b>30</b>
<b>Photo 25</b>	L'extrait des tanins à PVPP dans les tubes à centrifugation	<b>31</b>
<b>Photo 26</b>	Les tubes en verre dans le bain-marie	<b>33</b>
<b>Photo 27</b>	Le tamisage de jus de rumen frais	<b>35</b>
<b>Photo 28</b>	Les cinq solutions préparées	<b>37</b>
<b>Photo 29</b>	La solution tampon avec la présence de l'oxygène	<b>37</b>
<b>Photo 30</b>	La solution tampon dépourvue d'oxygène	<b>37</b>
<b>Photo 31</b>	La saturation de mélange par CO <sub>2</sub>	<b>38</b>
<b>Photo 32</b>	Mise en place des seringues dans le bain-marie à 39°C	<b>38</b>
<b>Photo 33</b>	La lecture de volume de gaz	<b>39</b>
<b>Photo 34</b>	La récupération des résidus dans des sachets en nylon	<b>39</b>
<b>Photo 35</b>	L'incubateur Daisy II	<b>40</b>
<b>Photo 36</b>	Pot contenant les échantillons et la solution d'incubation	<b>44</b>
<b>Photo 37</b>	Les échantillons et la solution de la première incubation dans le bain marie	<b>44</b>



## **LISTE DES TABLEAUX**

	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Classification de plantes pastorales étudiées	<b>17</b>
<b>Tableau 2</b>	Matériel et réactifs utilisé dans NDF	<b>22</b>
<b>Tableau 3</b>	Matériel et réactifs utilisé dans ADF	<b>24</b>
<b>Tableau 4</b>	Matériel et réactifs utilisé dans ADL	<b>26</b>
<b>Tableau 5</b>	Composition de la solution étalon pour le dosage des Polyphénols	<b>29</b>
<b>Tableau 6</b>	Les réactifs incluent dans la préparation des solutions.	<b>36</b>
<b>Tableau 7</b>	Les réactifs incluent dans la préparation des solutions.	<b>41</b>
<b>Tableau 8</b>	L'analyse statistique des données du %MM et %MO	<b>47</b>
<b>Tableau 9</b>	L'analyse statistique des teneurs en fibres	<b>48</b>
<b>Tableau 10</b>	Production de gaz cumulative en (ml/g MS) des fourrages étudiés.	<b>52</b>
<b>Tableau 11</b>	L'analyse statistique des données du %MS et %MO	<b>56</b>

# TABLE DES MATIERES

<b>Introduction général</b>	<b>1</b>
<b>PARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>2</b>
<b>CHAPITRE I : Présentation d'organisme de recherche</b>	<b>2</b>
I. Organisation et axes scientifiques	2
II. Les domaines expérimentaux	3
<b>CHAPITRE II : L'élevage caprin et les espèces sylvopastorales au Nord du Maroc</b>	<b>4</b>
I. L'élevage extensif	4
1. L'activité pastorale	4
2. L'offre pastorale	5
II. L'élevage caprin au nord du Maroc	5
1. La situation de la filière caprine au nord du Maroc	5
2. Les types d'élevage dans la zone d'étude Chefchaouen	6
<b>CHAPITRE III : Les paramètres de la qualité nutritionnelle des fourrages</b>	<b>7</b>
I. Introduction	7
II. La composition chimique des fourrages	8
1. L'eau	8
2. La matière sèche	9
2.1 La matière organique	9
a. Les hydrates de carbone	9
b. Les constituants phénoliques	11
2.2. La matière minérale	15
III. La digestibilité de la matière organique	15

**Problématique** ————— **16**

**PARTIE II : MATERIELS ET METHODES** ————— **17**

I. Matériel végétal	17
II. Préparation des échantillons	18
1. Séchage	18
2. Broyage et Tamisage	18
II. L'évaluation de la composition chimique des fourrages	19
1. Matière minérale et organique	19
2. La détermination des teneurs en constituants pariétaux	20
2.1 La détermination de la teneur en NDF	20
2.2 La détermination de la teneur en ADF	23
2.3 La détermination de la teneur en ADL	25
3. L'extraction des composés phénoliques	26
3.1 Préparation de l'extrait	26
3.2 Dosage des polyphénols totaux	27
3.3 L'élimination des tanins totaux de l'extrait	29
3.4 L'extraction des tanins condensés libres	30
4. La digestibilité in vitro	31
4.1 La digestibilité de production de gaz	31
a. Principe	31
b. Les facteurs influençant la méthode de production de gaz	32
c. Le prélèvement du jus de rumen	34
d. Préparation des solutions	35
e. Préparation des échantillons	37
f. Incubation en seringues	37
4.2 La digestibilité réelle avec le DAISY II	39
a. Principe	39
b. Procédure	40
4.2 La digestibilité enzymatique	41
a. Principe	41

b. Procédure	42
--------------	----

## **PARTIE II : RESULTATS ET DISCUSSION** 44

I .Les paramètres de la qualité nutritive des fourrages	45
---------------------------------------------------------	----

1 .La détermination de la teneur en matière sèche	45
---------------------------------------------------	----

2 .La détermination des teneurs en matière minérale et organique	46
------------------------------------------------------------------	----

3 .La détermination des teneurs en fibres (NDF, ADF, ADL)	48
-----------------------------------------------------------	----

4 .La teneur en Polyphénols	49
-----------------------------	----

5 .La cinétique de production de gaz et digestibilité à 144 heures	52
--------------------------------------------------------------------	----

6 .L'analyse des teneurs en MS et MO dans les digestibilités in vitro	55
-----------------------------------------------------------------------	----

<b>Conclusion</b>	<b>57</b>
-------------------	-----------

### **Références bibliographiques**

## Introduction général

L'élevage caprin est l'activité la plus dominante chez les agriculteurs de la région du Nord, il participe par le 1 / 3 du revenu agricole [5].

L'élevage caprin occupe une place de choix au niveau de la province Chefchaouen avec l'exploitation d'un effectif de 381.700 têtes, soit 48 % du cheptel des ruminants de la province. Cet élevage joue un rôle socio-économique important et contribue à la valorisation des espaces sylvo-pastoraux et à l'emploi de la main d'œuvre en milieu rural ainsi qu'à la couverture des besoins en protéines animales d'une large population des zones de montagnes [6].

La production laitière caprine ne représente que 5% de la production laitière nationale [7]. Cette faiblesse de production est en grande partie liée à des contraintes alimentaires relatives à la dépendance absolue de l'élevage caprin aux ressources sylvo-pastorales qui connaissent une diminution continue et une variabilité saisonnière de l'offre fourragère [8].

Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif de déterminer la composition chimique des espèces sylvo-pastorales, la digestibilité et la cinétique de digestion afin d'estimer leur contribution dans la satisfaction des besoins des animaux de parcours. Ce travail est réalisé en trois parties :

La première partie est la partie bibliographique qui constitue par trois chapitres, Dans le premier chapitre, nous introduisons une présentation d'organisme de recherche, nous mettons en évidence dans le deuxième chapitre des généralités sur la description des plantes pastorales et on donne une idée sur la situation de la filière caprine au Nord du Maroc, le troisième chapitre présente les paramètres de la qualité nutritionnelle des fourrages.

La deuxième partie détaille les méthodes d'analyse expérimentales et statistiques utilisées pour la détermination des valeurs nutritives des plantes pastorales.

Dans la dernière partie, nous présentons les résultats des traitements statistiques des données chimiques ainsi que les discussions envisagées afin d'estimer la qualité nutritive du fourrage.

## CHAPITRE I : Présentation d'organisme de recherche

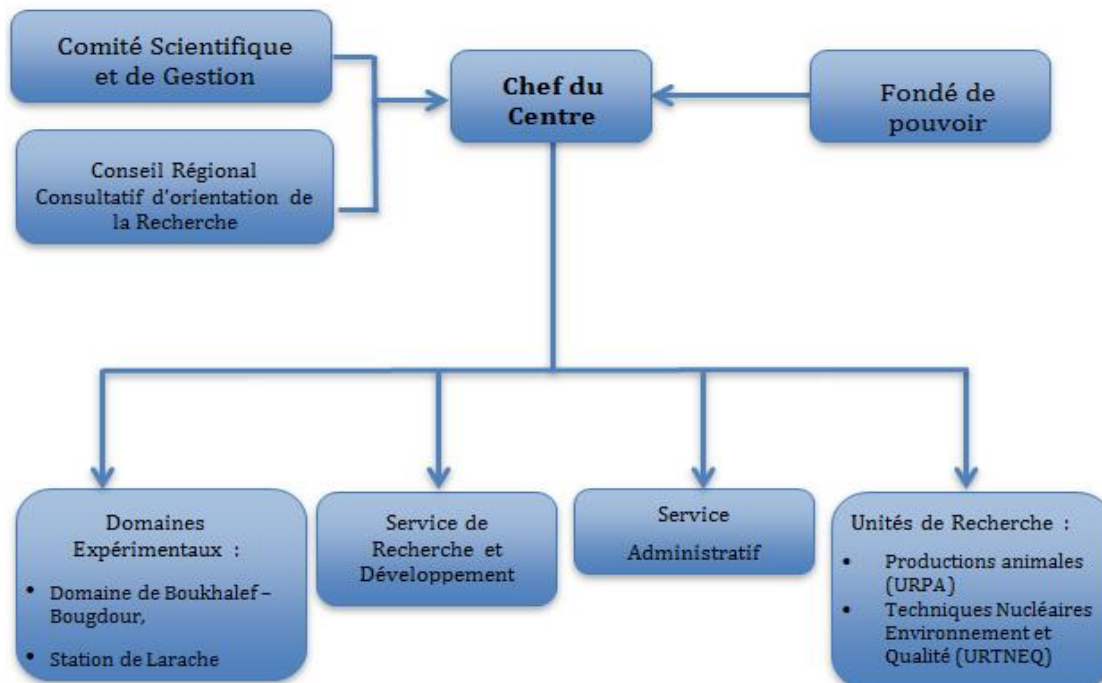
### Histoire :

L'Institut National de la Recherche Agronomique "INRA" est un établissement public dont les origines remontent à 1914 avec la création des premiers services de recherche agricole officiel, il a pour mission d'entreprendre les recherches pour le développement agricole et il a connu en 2003 une réorganisation structurelle visant la modernisation de son processus de gestion. [1]

L'INRA opère à travers dix centres régionaux de la recherche agronomique et 23 domaines expérimentaux répartis sur le territoire national et couvrant les divers agrosystèmes du pays. Les projets de recherche de l'INRA sont définis avec la participation des partenaires, des clients et des prescripteurs régionaux [2]. Ils sont menés au sein de trente unités de recherche hébergés par les Centres Régionaux. Le Centre régional de la Recherche Agronomique de Tanger est chargé de mener les études scientifiques, techniques et économiques pour le développement de l'agriculture et de l'élevage et la conservation des ressources naturelles au niveau de la zone d'action du Centre. [3]

### I. Organisation et axes scientifiques :

Le CRRA de Tanger est organisé en quatre types de structures selon la nature des missions qui leurs sont assignées :



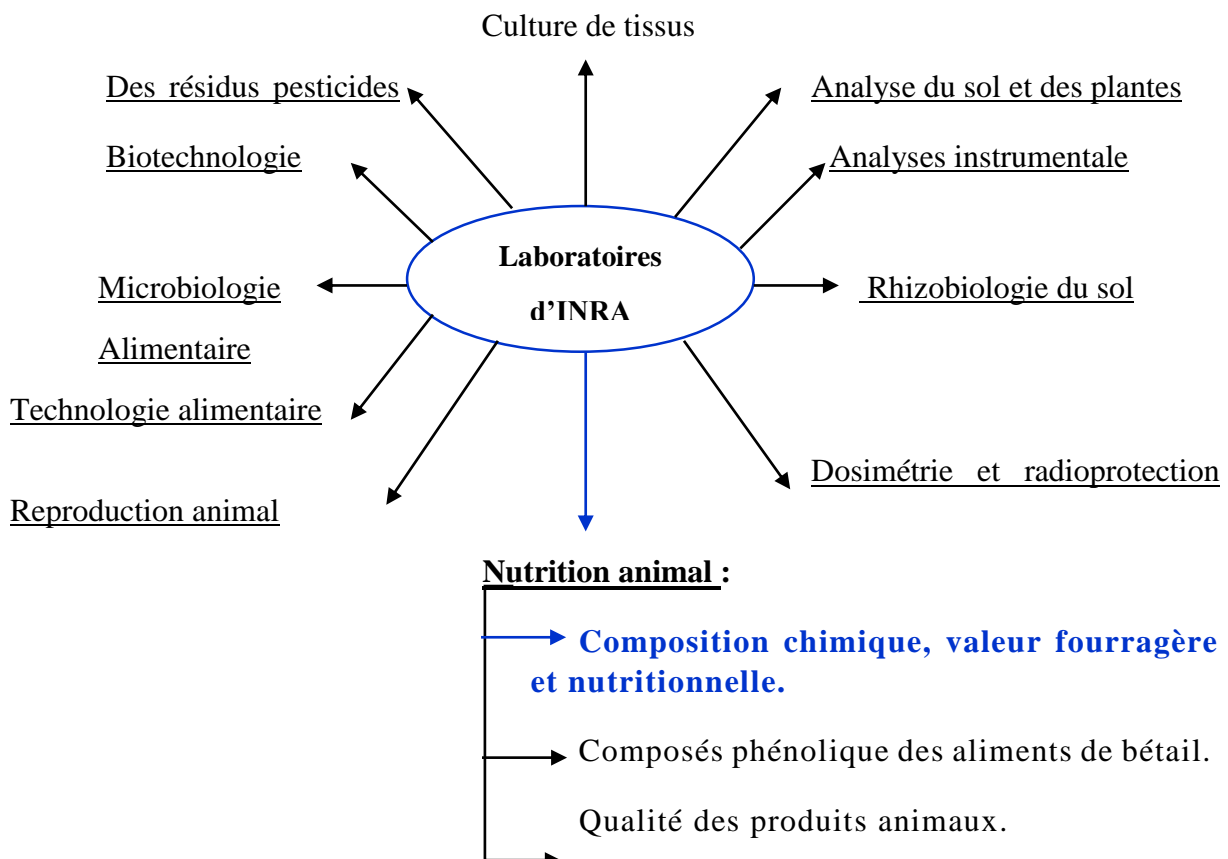
**Figure 1** : L'organigramme du CRRA de Tanger <sup>[1]</sup>

## II. Les domaines expérimentaux :

Le CRRA de Tanger dispose de deux sites expérimentaux répartis dans le nord-ouest d'une superficie totale de 29,7 ha.<sup>[2]</sup>

- Le domaine Boukhalef-Bougdour de 5,7 ha, représente le tangérois et y sont menés des recherches sur la production fourragère, la caractérisation, la reproduction et la nutrition caprine et la valorisation des produits : lait, fromage, viande <sup>[4]</sup>. Ce site abrite la station d'ionisation de Boukhalef, la fromagerie expérimentale et divers laboratoires de l'URTNEQ à Boukhalef et une chèvrerie expérimentale à Bougdour<sup>[1]</sup>.
- La station Expérimentale de Larache est d'une superficie totale de 24 ha qui abrite des expérimentations sur la valorisation des PAM, l'amélioration de la culture de pomme de terre, de l'arachide et des baies rouges<sup>[1]</sup>.

Il existe onze laboratoires dans l'INRA de Tanger :



**Figure 2 :** Les domaines expérimentaux d'INRA de Tanger <sup>[4]</sup>.





## PARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIE

### CHAPITRE II : L'élevage caprin et les espèces sylvopastorales au Nord du Maroc :

#### I. L'élevage extensif :

##### 1. L'activité pastorale :

Les plantes pastorales sont l'ensemble des herbacés existants dans les parcours naturels, ces plantes sont régénératrices, et présentent une grande diversité <sup>[9]</sup>. Ces dernières années l'utilisation des plantes pastorales dans l'alimentation animal est devenu un sujet de grand débats, pour l'amélioration de ces plantes, qui peuvent avoir des valeurs nutritives et économiques importantes<sup>[8]</sup>.

La diversité des espèces sylvo-pastorales permet le classement de ces dernières selon plusieurs critères :

- La valeur nutritive.
- La morphologie des feuilles.
- Le taux de l'humidité.

Les espèces les plus prometteuses (bonne régénération, résistances à divers stress, valeurs nutritives acceptables, bonne appétibilité) font l'objet de quelques investigations (collecte de semences, multiplication, conservation essais de germination et modalités d'installation, établissement des cartes de répartition <sup>[10]</sup>. L'intégration réelle de ces ressources dans des programmes de sauvegarde des parcours ou dans des circuits de production (amélioration variétale, production de semences) demeure très limitée <sup>[8]</sup>.



**Photo 1** : L'espèce pastorale *Calicotome villosa* <sup>[11]</sup>.

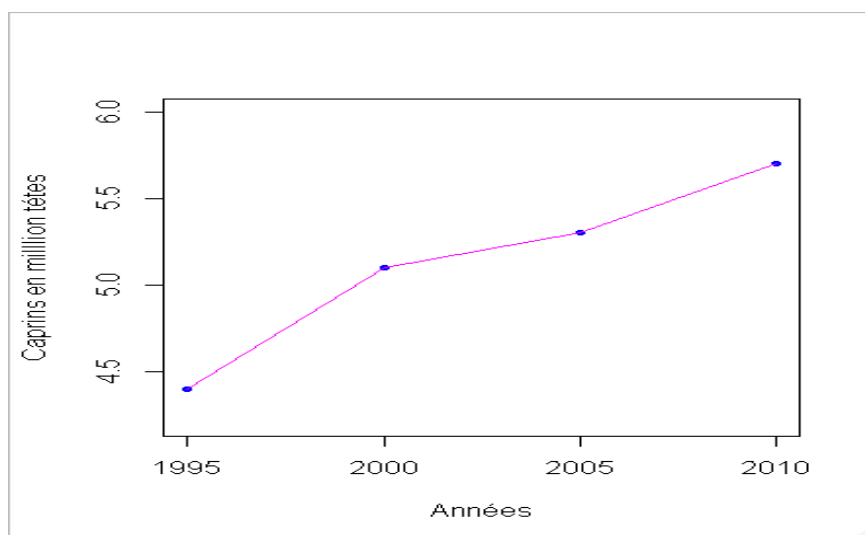
## 2. L'offre pastorale :

Le pastoralisme est défini comme l'élevage extensif pratiqué sur des pâturages et des parcours pour l'alimentation des bétails<sup>[12]</sup>. Il représente un mode de vie culturel et économique, suite à l'augmentation des nombres des têtes, l'utilisation des plantes pastorales est la méthode la plus économique<sup>[10]</sup>. L'élevage sur parcours est une source de revenus importante pour la population rurale et également le meilleur moyen pour valoriser les zones pastorales<sup>[13]</sup>.

## II. L'élevage caprin au nord du Maroc :

### 1. La situation de la filière caprine au nord du Maroc :

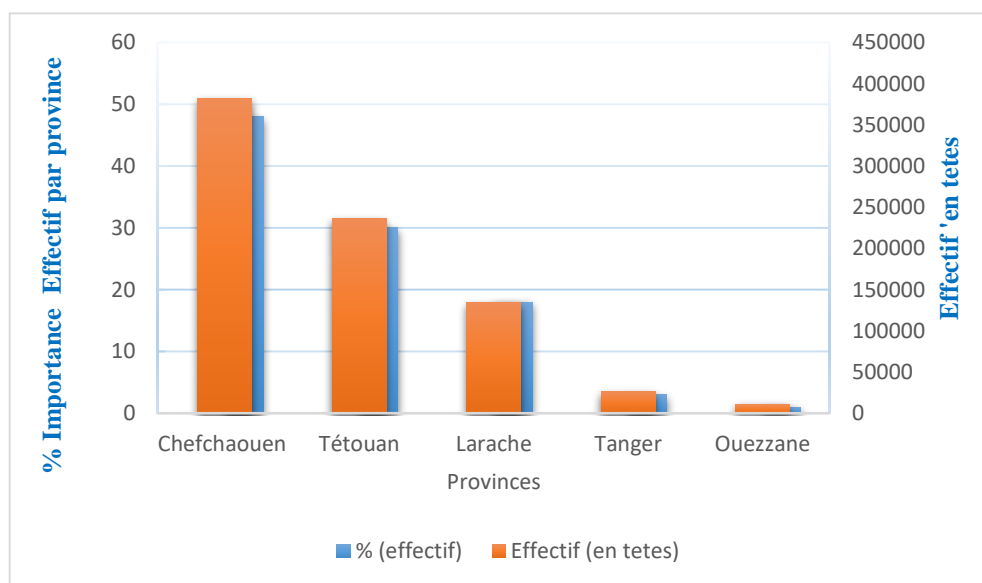
Les effectifs de caprins au Maroc ont augmenté de 29,55% entre 1995 et 2010, soit un taux d'accroissement annuel de 1,97<sup>[6]</sup>. En 2010 le Maroc compte 5,7 millions de têtes caprin élevées principalement dans les petites exploitations des montagnaises enclavées (Haut et Moyen Atlas, Rif et Oriental), ce sont en général des régions pauvres et dont l'élevage caprin constitue une source de revenus importante<sup>[13]</sup>.



**Figure 3 :** L'évolution des effectifs du cheptel caprins entre 1995 et 2010<sup>[13]</sup>.

Dans la région de Tanger –Tétouan, le cheptel caprin est estimé à 788000 têtes soit environ 43% des effectifs des ruminants de la région et 15% du cheptel caprin national<sup>[8]</sup>. 60% des effectifs se concentrent dans les régions montagneuses des provinces de Chefchaouen et Tétouan où l'élevage caprin joue un rôle économique important et contribue en large mesure à la formation du revenu et à la couverture des besoins en protéines animales d'une large population des zones de montagnes<sup>[14]</sup>.

Dans les régions montagneuses, le pourcentage des caprins est nettement supérieur, puisqu'il atteint environ 80% dans les provinces de Chefchaouen et Tétouan [8]. L'histogramme ci-dessous présente le pourcentage des effectifs (couleur orange) ou les effectifs en têtes (couleur bleu) en fonction de province. On constate que la province de Chefchaouen présente le pourcentage des effectifs le plus élevé, par contre la province de Ouezzane présente le pourcentage le moins élevé. Cette différence est due à la dominance d'activité d'élevage des caprins dans les zones de large population [15].



**Figure 4** : L'effectif du cheptel caprin et son importance par provinces [8].

## 2. Les types d'élevage dans la zone d'étude Chefchaouen.

Deux types d'élevage sont présents dans le nord du Maroc :

- Un élevage caprin à production de viande basé uniquement sur les ressources forestières (sylvopastorales).
- Un élevage caprin à production de viande et de lait basé sur les ressources forestières et les ressources de l'exploitation [16].

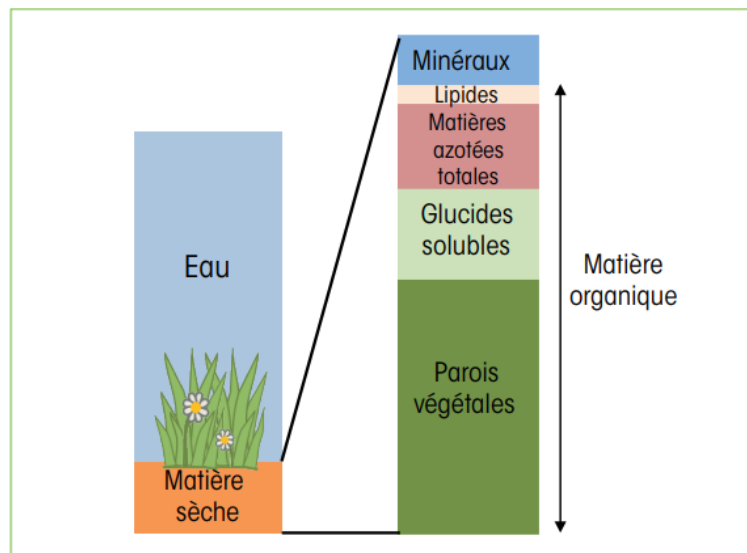
Le système alimentaire appliqué au caprin, qui est largement dominant à l'échelle nationale, est de type extensif et basé principalement sur l'utilisation des ressources sylvo-pastorales [17]. La contribution des ressources fourragères du parcours dans la couverture des besoins varie entre années et selon les régions [18].

## CHAPITRE III : Les paramètres de la qualité nutritionnelle des fourrages

### I. Introduction :

Les fourrages sont les plantes utilisées pour l'alimentation des ruminants, sous forme fraîche, séchée ou lacto-fermentée [19]. Les fourrages apportent aux animaux les substances nutritives dont ils ont besoin, ces substances chimiques sont utilisées par l'organisme afin d'assurer leur métabolisme, leur croissance et leur multiplication [20]. Les plantes destinées aux ruminants sont nombreuses et leurs valeurs nutritives sont très différentes. En fait, il n'existe aucun aliment complet et qui peut satisfaire seul tous les besoins de l'animal, Parfois l'incorporation des additifs dans la ration s'impose afin d'améliorer la valeur alimentaire [13].

Tous les fourrages apportent de l'énergie, des protéines, des minéraux, de l'eau mais dans des proportions variables en fonction de leurs constituants [21].



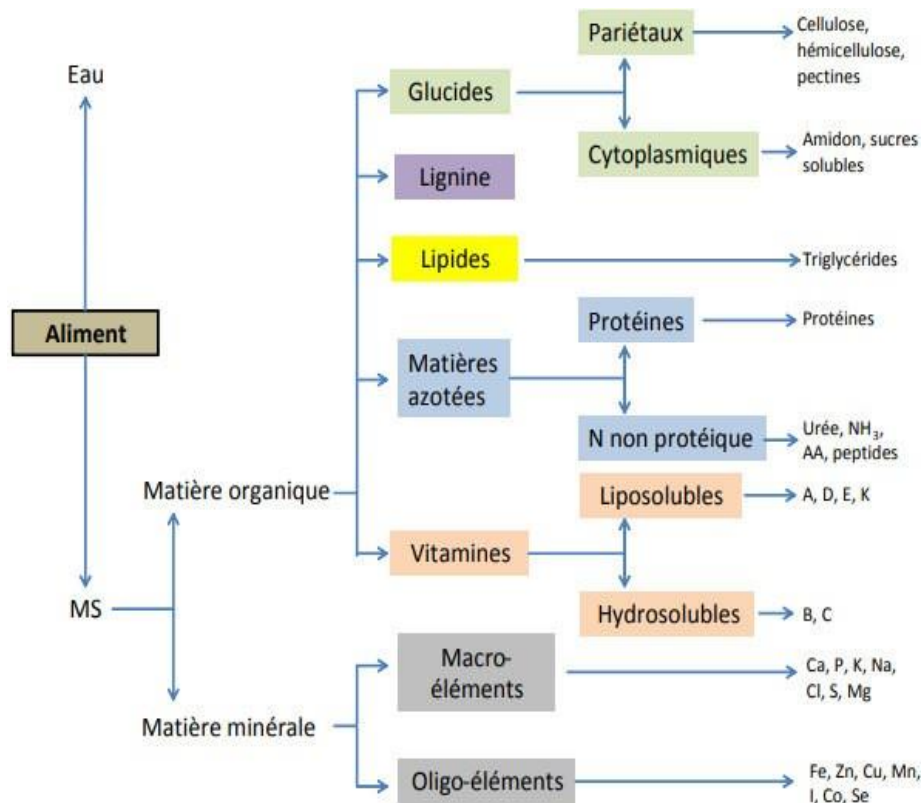
**Photo 2 : La composition d'un fourrage vert**[21].

L'alimentation animale est une branche qui décrit les besoins alimentaires d'élevage et les moyens et méthodes permettant de les satisfaire. Ces méthodes doivent aussi être compatibles avec le maintien en bonne santé des animaux, assurer la qualité finale des produits d'élevage et économiques pour l'éleveur [19].

## II. La composition chimique des fourrages :

La composition chimique des plantes est complexe. Ce rapport retiendra seulement les grands groupes de composés chimiques qui sont étroitement liés à la qualité nutritives pour les animaux [22].

Les constituants chimiques des plantes en générale sont décrits dans la figure suivante :



**Figure 5 :** Les constituants chimiques des fourrages [22].

### 1. L'eau :

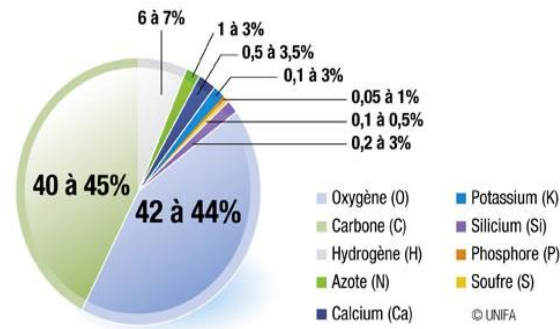
Tous les fourrages contiennent une quantité d'eau qui varie selon l'âge du fourrage, la saison, la présentation (frais ou conservé). Le contenu en eau d'un fourrage brut peut varier de 15% (cas d'un foin) à 80% (cas d'une graminée lors de la saison des pluies [23]).

La connaissance de la teneur en eau d'un aliment constitue la première étape dans l'évaluation de sa valeur nutritive ainsi que l'appréciation de son aptitude à la conservation, un aliment ayant une teneur en humidité inférieure à 14% se conserve spontanément sans traitement particulier, et au-dessus de 17% d'humidité, la conservation est difficile [24].

## 2. La matière sèche (MS) :

La matière sèche (MS) correspond à la partie solide du fourrage, une fois que l'on a retiré toute l'eau par séchage. La matière sèche est constituée de matières minérales et de matières organiques qui sont appelées matières volatiles sèches (MVS)<sup>[25]</sup>.

L'eau n'apporte pas d'énergie ou de protéines, ce qui fait la valeur alimentaire d'un fourrage est ce qui est contenu dans la Matière Sèche (MS)<sup>[24]</sup>.



**Figure 6 :** La composition d'une plante (en % MS) <sup>[26]</sup>

### 2.1 La matière organique :

Les composés qui contiennent du carbone (C), de l'hydrogène (H), de l'oxygène (O), et de l'azote (N) sont des composés organiques. Dans la partie organique, les composés non-azotés fournissent de l'énergie, alors que les composés azotés apportent des protéines <sup>[26]</sup>. La matière organique est consommée lorsqu'un aliment est placé dans un four. La quantité résiduelle présente la matière minérale <sup>[24]</sup>.

#### a. Les hydrates de carbone :

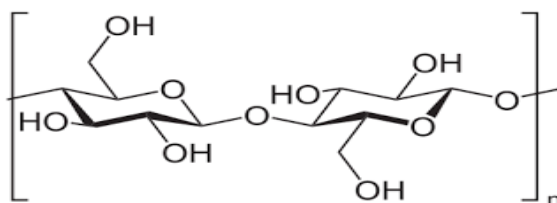
Les glucides ou les hydrates de carbone peuvent se classer en deux catégories selon leur localisation dans la cellule végétale. La première catégorie correspond aux glucides cytoplasmiques (ils sont contenus à l'intérieur de la cellule végétale) et la deuxième catégorie est celle **des glucides pariétaux** (ceux qui sont les constituants des parois cellulaires)<sup>[27]</sup>. Dans cette étude on s'intéresse à ces derniers où les polysides sont formés de trois groupes :

##### ❖ Cellulose :

La cellulose se réfère à un glucide inerte de formule  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , qui est le constituant principal de la paroi cellulaire de la plante, c'est la macromolécule la plus abondante sur terre<sup>[28]</sup>. Bien que la structure chimique de la cellulose ressemble généralement au glucose, elle est extrêmement rigide et confère une grande résistance à la plante et protège les structures internes de la cellule. La cellulose ne peut être digérée que par le système digestif des ruminants. Il existe peu de types d'enzymes capables d'hydrolyser la cellulose (résistante à l'hydrolyse)<sup>[29]</sup>.

La cellulose est un polymère linéaire obtenu par polymérisation de molécules de  $\beta$ - glucose en chaîne longue. Chaque molécule de glucose est à l'envers par rapport à la molécule de glucose voisine [29].

La structure de la cellulose est montrée dans la figure suivant :

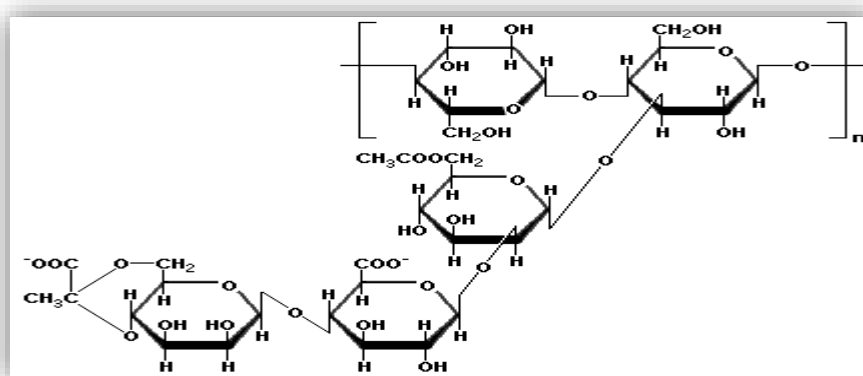


**Figure 7 :** La structure chimique de la cellulose [31].

#### ❖ Hémicellulose :

Les hémicelluloses représentent, après la cellulose, le polysaccharide le plus abondant dans la nature. Elle constitue 30 à 45 % de la biomasse végétale terrestre formée essentiellement de chaînes de pentoses, qui sont les principaux constituants de la paroi primaire des cellules végétales (xylose, de quelques hexoses et d'acides uroniques) [30]. Elles sont souvent associées à la lignine et sont moins digestibles que la cellulose brute mais peut être facilement digérée par les ruminants, plus la plante vieillit, plus la teneur en hémicellulose augmente. Les hémicelluloses sont un groupe de polysaccharides complexes qui diffèrent de la cellulose par l'hétérogénéité de leur composition mono saccharidique. En général elles sont constituées de chaînes moléculaires plus courtes ramifiées avec un degré de polymérisation souvent inférieur à 200. L'hémicellulose s'hydrolyse facilement par un acide ou une base diluée [29].

On présente la structure d'hémicellulose dans la figure ci-dessous :



**Figure 8 :** La structure chimique d'hémicellulose [32].

## b. Les constituants phénoliques :

Les composés phénoliques sont des dérivés aromatiques hydroxylés non azotés dont les cycles aromatiques. Selon la complexité des composés phénoliques on cite deux classes :

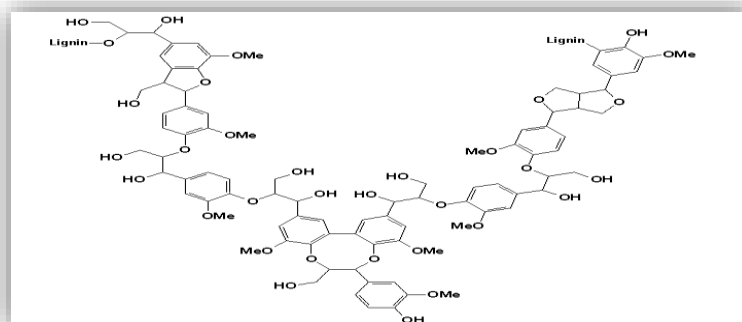
- Des formes simples de C6 aux C15 (acides hydroxybenzoïques, les flavonoïdes...)
- Des formes condensées (tannins et lignines)<sup>[33]</sup>.

### ❖ La lignine :

La lignine est un composé non glucidique qui s'associe aux glucides pariétaux et dont la teneur augmente avec l'âge de la plante est presque totalement non dégradable dans le tube digestif du ruminant <sup>[34]</sup>. La lignine est très résistante à de nombreux agents chimiques et biochimiques, elle est essentielle à la résistance des tissus végétaux, en particulier à leur résistance à la compression et assure une protection contre la pénétration d'eau dans le matériau de la paroi cellulaire, aussi la protection supplémentaire contre les rayons UV <sup>[29]</sup>.

Les lignines sont des polyphénols, tridimensionnelles hydrophobes de haut poids moléculaire. Leur structure résulte de la copolymérisation de trois monomères aromatiques de type phénylpropène : l'alcool coumarylique, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique. A la fin du développement cellulaire, la lignine incruste ainsi la cellulose et les hémicelluloses, ce qui assure la rigidité de la paroi <sup>[29]</sup>.

La lignine est présentée dans la figure suivante :



**Figure 9 :** La structure chimique de la lignine<sup>[35]</sup>.

### ❖ Les flavonoïdes :

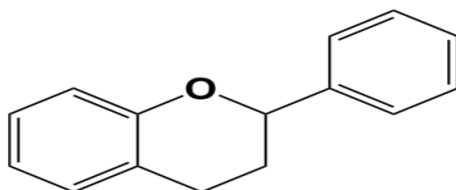
Les flavonoïdes sont des pigments végétaux de la famille des polyphénols qui sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils donnent souvent une coloration jaune. Du point de vue chimique, ils possèdent deux cycles benzéniques<sup>[36]</sup>.



Les flavonoïdes servent aux plantes de protection contre les rayons UV du soleil ou contre l'attaque des pathogènes ou des insectes. On les trouve pour cette raison en grande concentration dans la peau ou les couches extérieures des plantes<sup>[36]</sup>.

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques : flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines<sup>[33]</sup>.

On montre la structure de base des flavonoïdes dans la figure suivante :



**Figure 10** : La structure de base des flavonoïdes<sup>[37]</sup>.

#### ❖ Les tannins :

Les tannins sont des composés phénoliques hydrosolubles d'origine végétale, ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3 000 Da. Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation, qui partagent la capacité de tanner les protéines<sup>[33]</sup>. Après la cellulose, la lignine et les hémicelluloses, ils forment avec leurs dérivés la quatrième famille de composés par ordre d'abondance dans les plantes, ils représentent de 15 à 25% du poids sec de la plante. Souvent difficile à dégrader, selon leur structure biochimique, il est usuel de distinguer deux classes de tannins : les tannins hydrolysables (TH) et les tannins condensés (TC)<sup>[38]</sup>.

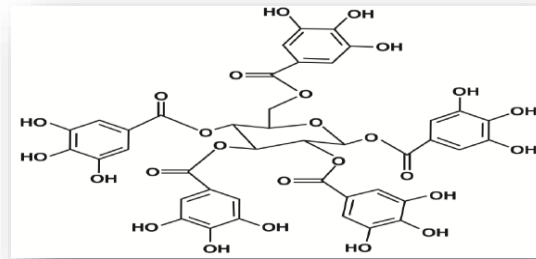
#### • Les tannins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acides phénoliques, ou de dérivés d'acides phénoliques. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales<sup>[39]</sup>.

Le terme « tannin hydrolysable » indique leur sensibilité à l'hydrolyse acide, alcaline ou enzymatique. Ils sont notamment hydrolysés dans le tractus digestif des ruminants et leurs produits de dégradation sont absorbés<sup>[38]</sup>.

Les tanins hydrolysables sont constitués d'un noyau central, le glucose et de chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol. Des liaisons carbone-carbone entre noyaux conduisent à des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dites les tanins éllagiques<sup>[40]</sup>.

La structure des tannins hydrolysables présentés dans la figure suivante :

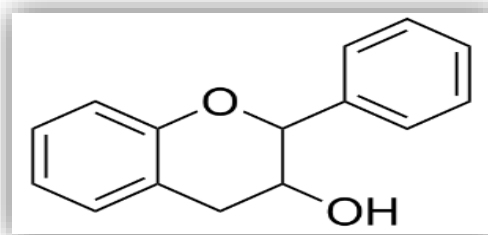


**Figure 11** : La structure des tannins hydrolysables<sup>[41]</sup>.

- **Les tannins condensés :**

Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidines, sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique <sup>[42]</sup>. Ils ne s'hydrolysent pas sous l'action des acides minéraux dilués mais forment à l'ébullition des composés insolubles appelés phlobaphènes ou rouge de tanins <sup>[41]</sup>.

La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation. Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétrique C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> et par le niveau d'hydroxylation du noyau <sup>[43]</sup>.



**Figure 12** : La structure chimique de flavan-3-ols <sup>[44]</sup>.

- **Propriétés physico-chimique des tannins :**

**Solubilité des tannins** : La solubilité des tannins dans l'eau dépend de leur poids moléculaire et de leur degré de polymérisation <sup>[45]</sup>. Les tannins sont également solubles dans l'acétone et les alcools. C'est pour cette raison que l'extraction des tannins est généralement réalisée par une solution acétone-eau ou méthanol-eau <sup>[46]</sup>.

**Formation de complexes avec les protéines :** Les tanins se fixent à la quasi-totalité des protéines et forment ainsi des complexes insolubles dans des conditions de pH physiologique (pH = 7 à 7,4)<sup>[47]</sup>.

Le degré de complexation tanins-protéines dépend de la structure et de la configuration tridimensionnelle des deux types de molécules en cause :

- Pour les tanins, un poids moléculaire trop élevé et l'encombrement stérique en découlant limitent leur fixation aux protéines.
- Pour les protéines, les tanins montrent une forte affinité pour les protéines de conformation ouverte, de poids moléculaire supérieur à 20 kDa et qui sont riches en acides aminés hydrophobes comme la proline et l'hydroxy-proline<sup>[28]</sup>.

La formation de ces complexes dépend étroitement des conditions environnementales telles que le pH, la température, la force ionique ou la présence de molécules compétitrices. Notamment, la complexation des protéines est favorisée par un environnement proche de leur pH isoélectrique. La stabilité de ces complexes dépend également des conditions du milieu. Elle serait ainsi maximale dans une gamme de pH compris entre 3,5 et 7<sup>[45]</sup>.

- **Propriétés biologiques :**

De nombreux tanins présentent des propriétés anti-oxydantes, grâce à leurs fonctions phénoliques qui ont un fort caractère nucléophile. Des activités antimutagènes et anticancéreuses ont été attribuées à certains tanins, car ces derniers peuvent perturber le processus de réplication de l'ADN, induisant ainsi des mutations cancérogènes. Les tanins peuvent également inactiver des enzymes grâce à leur capacité à complexer les protéines<sup>[49]</sup>.

- **Effets des tannins condensés (TC) :**

Pour les TC, il semble que le principe « la dose fait le poison » reste valide, puisque des effets néfastes sur la production et la santé des animaux sont observés uniquement lors d'ingestions massives de TC. Au niveau du rumen, la complexation excessive des TC avec les protéines et les fibres alimentaires les rendrait moins digestibles. La consommation de TC affecterait aussi la digestion des lipides et la production des acides gras<sup>[50]</sup>. Enfin, des ingestions massives de TC peuvent perturber la digestibilité ruminale par une réduction globale d'activité enzymatique de la flore<sup>[51]</sup>.

La consommation de légumineuses fourragères à teneur élevée en TC (>10% TC de la MS) conduit à la réduction de l'ingestion volontaire<sup>[47]</sup>. L'ingestion de TC perturberait également le système hormonal contrôlant la prise d'aliment volontaire. La complexation des TC avec les protéines alimentaires ou leur fixation aux enzymes bactériennes réduisent globalement la protéolyse ruminale. L'une des conséquences principales en est la réduction de la production de méthane et d'ammoniaque<sup>[50]</sup>.

## 2.2. La matière minérale :

La matière minérale, correspond au résidu sec d'un aliment lorsque celui-ci a été calciné dans un four à 550°C. D'après le même auteur, ce résidu appelé cendres totales est composé par :

- **Les macroéléments :**

Les macroéléments présents en quantités relativement importantes, ce sont le calcium (Ca), le phosphore (P), le potassium(K), le sodium (Na), le chlore (Cl), le soufre (S) et le magnésium (Mg)<sup>[52]</sup>.

- **Les oligo-éléments :**

Les oligo-éléments présents à l'état de traces, ce sont le fer (Fe), le sélénium, (Se), le zinc (Zn), le cuivre (Cu), l'iode (I), le cobalt (Co) et le manganèse (Mn)<sup>[54]</sup>.

La teneur en cendres totales est un élément intéressant qui renseignera sur l'importance de la contamination des fourrages souillés au départ par de la terre ou du sable. Elle constitue un indicateur de pertes d'éléments solubles au cours du traitement si le fourrage traité a une teneur en cendres nettement supérieure au fourrage non traité<sup>[54]</sup>.

## III. La digestibilité de la matière organique :

La digestibilité indique le degré d'utilisation de l'aliment ingéré par l'animal d'une manière général. Elle permet de déterminer la proportion de divers constituants d'un aliment qui est absorbé par l'organisme<sup>[55]</sup>. En effet c'est le principal facteur influençant la valeur alimentaire d'une variété fourragère. La digestibilité de la matière organique dans l'ensemble du tube digestif des ruminants est généralement comprise entre 0,5 et 0,8.L'augmentation de la digestibilité de la matière organique de la ration destinée à des animaux à un besoin énergétique élevée. Elle se fait par l'incorporation des aliments très digestibles dits concentrés<sup>[56]</sup>.

L'importance relative de la digestion ruminale varie de la nature des composants de la matière organique et aussi selon les conditions d'alimentation, le taux de la digestibilité de la matière organique d'un aliment de bonne valeur alimentaire est supérieur ou égal à 50% après 24 heures d'incubation dans le rumen de l'animal<sup>[57]</sup>.

La matière organique n'est jamais totalement digérée par l'animal. La dMO indique la part de matière organique qui l'est, le reste étant rejeté dans les matières fécales<sup>[55]</sup>. La teneur en parois végétales augmente avec la croissance de la plante, et que la digestibilité des parois diminue avec le vieillissement des tissus<sup>[57]</sup>.

## Problématique

Dans la région du nord au Maroc l'élevage des caprins est l'activité la plus dominante chez les agriculteurs. La productivité de cet élevage est faible. Cette faiblesse de production est en grande partie liée essentiellement à une mauvaise alimentation du troupeau, tant sur le plan quantitatif que qualitatif, ceci est dû à un déséquilibre de balance fourragère.

L'activité d'élevage des caprins fait face à plusieurs défis. Le défi majeur est l'alimentation et le choix d'un bon fourrage, l'utilisation des plantes pastorales et des parcours naturels une solution pour l'alimentation. Toutefois les données des valeurs nutritives et la composition chimique des plantes pastorales sont insuffisantes.

D'où le but de notre étude qui est la contribution à l'évaluation de la composition chimique et la qualité nutritionnelle de quatre plantes pastorales de la province de Chefchaouen utilisées comme fourrage pour les caprins.

## PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

Pour apprécier la qualité nutritive des ressources fourragères destinée aux ruminants, plusieurs analyses sont effectuées pour la détermination de la composition chimique et l'étude de la digestibilité.

Les échantillons étudiés ont été analysés pour leur contenu en : matière (sèche, minéral, organique, grasse), constituants pariétaux (NDF, ADF, ADL, cellulose brute), les composés phénoliques (tanin totaux, tanin condensé, lignine). La digestibilité de production de gaz et la digestibilité enzymatique.

Avant de passer à l'analyse chimique, on doit procéder une préparation des échantillons des plantes pastorales collectés dans la région de nord du Maroc.

### I. Matériel végétal :

Les quatre espèces pastorales sont collectées au début du mois Mars au niveau de parcour forestier de Dardara sur la province de Chefchaouen au Nord du Maroc.

On présente les espèces pastorales étudiées dans le tableau suivant :

**Tableau 1 : Classification de plantes pastorales étudiées**

Espèce	Nom français	Fmille	Genre	Classe
Quercus ilex	Yeuse ou Chêne vert	Fagaceae	Quercus	<u>Magnoliopsida</u>
Cistus monspeliensis	Ciste de Montpellier	Cistaceae	Cistus	<u>Magnoliopsida</u>
Calicotome villosa	--	Fabaceae	Calicotome	<u>Magnoliopsida</u>
Phillyrea latifolia	Filaire à large feuille	Oleaceae	Phillyrea	Magnoliopsida



**Photo 3 : L'espèce Quercus ilex**



**Photo 4 : L'espèce Cistus monspeliensis**



**Photo 5 : L'espèce Calicotome villosa**



**Photo 6 : L'espèce Phillyrea latifolia**

## II. Préparation des échantillons :

Pour préparer les échantillons aux différentes analyses, il faut passer par les étapes suivantes :

### 1. Séchage :

Les échantillons sont séchés à l'étuve sous une température de 40°C pendant 72 h, dont l'objectif de diminuer au maximum la teneur en eau et produire un aliment apte à la conservation pour une utilisation ultérieure.



**Photo 7** : L'espèce *Cistus monspeliensis* après le séchage

### 2. Broyage et Tamisage :

Les échantillons sont broyés à l'aide d'un broyeur à couteaux et puis tamisés par un tamis de taille très fines (1 mm)



**Photo 8** : Broyeur à couteaux  
tamisés



**Photo 9** : L'échantillon *Calicotome villosa* broyé et



### III. L'évaluation de la composition chimique des fourrages :

#### 1. Matière minérale et organique :

##### a. Principe :

Cette analyse permet de calculer le taux en cendres et en matière organique d'échantillon exprime en pourcentage, la matière organique sera brûlée et seule la matière minérale qui reste.

La teneur en cendres et en matière organique sont calculés selon la formule suivante :

$$\%MM = \frac{M2 - M1}{Mi} * 100 \qquad \%MO = 100 - \%MM$$

- M2 : Poids des creusets après l'incinération.
- M1 : Poids des creusets vides.
- Mi : Prise d'essai.

##### b. Matériel utilisé :

- Balance analytique.
- Fours à moufle.
- Creuset.
- Un dessiccateur

##### c. Mode opératoire :

- Numéroter les creusets de 1 à 10 plus un témoin.
- Peser les masses des creusets vides.
- Peser 1g d'échantillon broyé et tamisé pour chaque espèce ensuite mettre les creusets dans un four à moufle à une température de 550°C pendant 6 heures.
- Laisser les creusets refroidit dans un dessiccateur en gel de silices (qui protège les substances contre l'humidité), puis les peser.



**Photo 10 :** L'incinération de la matière organique dans le four à moufle.



**Photo 11 :** Présentation de la matière minérale.

## 2. La détermination des teneurs en constituants pariétaux :

Les constituants des parois cellulaires des plantes comprenant une grande variété de polysaccharides structuraux qui sont souvent liés à des protéines et des phénols, particulièrement à la lignine. La détermination des composés de la paroi végétale est réalisée selon le procédé décrit par Van Soest. Ils sont caractérisés par l'appareil Ankom 200 Fibre Analyzer.



**Photo 12** : L'appareil Ankom Fiber Analyzer.

### 2.1 Fibre détergent neutre (NDF) :

#### a. Principe :

Les fibres insolubles dans les détergents neutres, souvent abrégé en NDF, de l'anglais « Neutral Detergent Fiber », sont une mesure d'analyse des fibres utilisées dans l'alimentation animale.

Le processus de détermination de NDF comprend un détergent neutre qui dissout les protéines, les pectines, les sucres et les lipides. Il laisse de côté la partie fibreuse composée de cellulose, hémicellulose et de lignine. Cette partie n'est pas aisément digestible, elle est donc indésirable dans la ration alimentaire.

**b. Matériel et réactif utilisé :**

On représente les réactifs et le matériel utilisés dans le tableau suivant :

**Tableau 2 : Matériel et réactifs utilisé dans NDF**

Réactif	Rôle	Matériel
Lauryl Sulfate de Sodium (C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> NaO <sub>4</sub> S)	Formation de complexes solubles avec les protéines	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balance analytique</li> <li>• Sacs filtrants</li> <li>• Thermo-scelleuse (sceller les sacs filtrants)</li> <li>• L'appareil ANKOM</li> <li>• Etuve</li> <li>• dessiccateur</li> <li>• pH mètre.</li> </ul>
L'EDTA (Éthylènediamine-tétraacétique) (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> )	Eviter la formation de matrices calcium-pectine, et donc dissoudre la pectine ainsi limite ainsi l'hydrolyse des protéines dans les extraits cellulaires	
Borate de Sodium (Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> •10H <sub>2</sub> O)	Maintenir un pH de 7 et éviter l'hydrolyse de l'hémicellulose	
Phosphate de Sodium Dibasique (anhydre) (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	Agents émulsifiants	
Triéthylène Glycol (C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> )	Retrait des matériaux solubles non fibreux	
Alpha-amylase	Thermo résistante, hydrolyse de l'amidon	
Sulfite de Sodium(Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> )	Agent de conservation	
Acétone (C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O)	Dissolvant pour dissoudre les fibres cellulosiques	

**c. Mode opératoire :**

**Préparation de la solution NDF :** Dissoudre 60 g de lauryl sulfate de sodium + 37,22 g d'EDTA + 9,12 g de Phosphate dibasique + 13,62 g de Borate de sodium. Ensuite ajouter, 20 ml triéthylène glycol+ 20 g sodium sulfite et 4ml de α-amylase, à l'aide d'une pipette graduée.

**Préparation d'échantillon :** Numéroté les sacs filtrants et introduire 0,5 g d'échantillon. Inclure un échantillon vide, qui va être utilisé comme témoin (indicateur de la perte de particules).

Les sacs sont alors scellés par une thermo-scelleuse et on les met un bécher remplie par l'acétone pendant 10 min avec agitation. Mettre les sachets dans un plateau et les laisser sécher à l'aire et vérifier que le pH de la solution varie entre 6,9-7,1.

L'appareil est rempli par 2L de la solution NDF. Les sacs introduits dans l'appareil sont portés à 90 °C pendant 1h 30 min, l'appareil est vidangé de la solution NDF, les sacs sont rincés deux fois avec l'eau distillée pour chaque rinçage pendant 5 min.

Les sacs sont ensuite lavés par l'acétone pendant 10 min puis séchés dans l'étuve pendant 5-7 heures à une température de 60°C. Mettre les sachets dans le dessiccateur.

Peser les sachets et calculer les résultats selon la formule suivante :

$$\% \text{ NDF} = \frac{100 * (W3 - (W1 * C1))}{W2}$$

Sachant que :

- W1 : Poids à vide du sac (g).
- W2 : Poids de l'échantillon (g).
- W3 : Poids séché du sac avec de la fibre après le processus d'extraction (g)
- C1 : Facteur de correction du sac vierge (moyenne mobile du poids final séché au four divisé par le poids du sac vierge d'origine)



**Photo 13** : Vérification de pH de la solution NDF



**Photo 14** : Sachet contenant les sacs filtrants



**Photo 15 :** Traitement des sacs filtrants par l'acétone

## 2.2 Fibre détergent acide (ADF) :

### a. Principe :

Le procédé est basé sur la solubilisation de protéine, pectine, sucre, lipide et l'hémicellulose par une solution acide d'un détergent tensioactif. Le résidu composé par : la cellulose et la lignine.

### b. Matériel et réactif utilisé :

Le matériel et les réactifs utilisés sont présentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 3 :** Matériel et réactifs utilisé dans ADF

Réactif	Rôle	Matériel
Cétyl Triméthyl-Ammonium Bromide (CTAB) [(CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )]Br	Un tensioactif utilisé pour l'extraction de l'ADN afin de dissoudre la membrane plasmique des cellules	<ul style="list-style-type: none"><li>• L'appareil ANKOM</li><li>• Etuve</li><li>• dessiccateur.</li><li>• pH mètre.</li></ul>
Acide Sulfurique(H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )98%	Rompres les hémicelluloses en leurs monomères	<ul style="list-style-type: none"><li>• Balance analytique</li></ul>

**c. Mode opératoire :**

**Préparation de la solution ADF :** 40g de cétyl triméthylammonium bromide (CTAB) sont mis le dans un bécher de 800 ml qui contient déjà un peu d'eau distillée. A l'aide d'une éprouvette, on ajoute 54.39 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 98%. Agiter la solution jusqu'à ce que sa couleur devienne transparente.

**Préparation d'échantillon :** Les sacs récupérés après l'analyse NDF sont traités par la solution ADF. On suit les même étapes de préparation d'échantillon de la solution NDF sauf que :

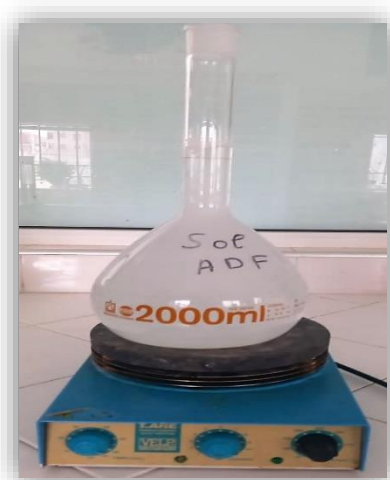
- Le pH de la solution ADF doit être inférieur à 5.
- La durée d'incubation des échantillons dans la solution ADF par l'analyseur des fibres (appareil Ankom) est 60 min à une température de 90 °C.

Peser les sachets et calculer les résultats selon la formule suivante :

$$\% \text{ ADF} = \frac{100 * (W3 - (W1 * C1))}{W2}$$

Sachant que :

- W1 : Poids à vide du sac (g).
- W2 : Poids de l'échantillon (g).
- W3 : Poids séché du sac avec de la fibre après le processus d'extraction (g)
- C1 : Facteur de correction du sac vierge (moyenne mobile du poids final séché au four divisé par le poids du sac vierge d'origine)



**Photo 16** : Préparation de la solution  
ADF



**Photo 17** : Pesage des échantillons  
après séchage

## 2.3 Lignine détergent acide (ADL) :

### a. Principe :

Le procédé est basé sur la solubilisation de la cellulose par l'acide sulfurique concentré afin d'obtenir la lignine qui peut contenir une partie de la cutine. Les résidus correspondent la lignine brute et les cendres.

### b. Matériel et réactif utilisé :

On présente le Matériel et réactifs utilisés dans le tableau suivant :

**Tableau 4 : Matériel et réactifs utilisé dans ADL**

Réactif	Rôle	Matériel
Acide Sulfurique(H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )98%	Dissoudre la cellulose	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etuve</li> <li>• dessiccateur.</li> <li>• pH mètre.</li> <li>• Balance analytique</li> </ul>

### c. Mode opératoire :

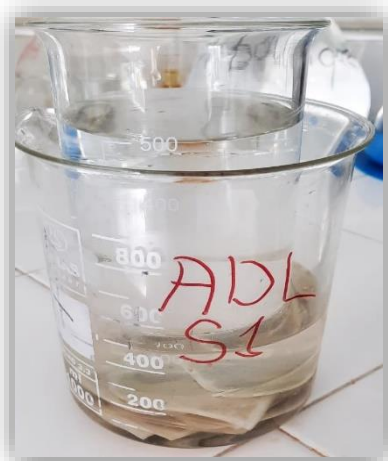
**Solution ADL :** Dans un bécher, ajouter 114,38 ml d'eau distillée et 163,109 ml d'acide sulfurique à 98 %.

Après le traitement d'ADF, les mêmes sacs filtrants sont utilisés pour déterminer l'ADL. Mettre les sachets dans un grand bécher. Ajouter la solution ADL et mettre au profond du bécher un moyen rempli d'eau pour exercer une pression sur les sachets, agiter les sachets pendant chaque 30 min durant 3 heures. Après l'écoulement de 3 heures, verser la solution et Rincer les sacs filtrants plusieurs fois avec l'eau distillée froide et mettre les sacs dans l'acétone pendant 3 min. Les sacs sont ensuite lavés par l'acétone pendant 10 min puis séchés dans l'étuve pendant 2-4 heures à une température de 102 °C. Mettre les sachets dans le dessiccateur. Peser les sachets et calculer les résultats selon la formule suivante :

$$\% \text{ ADL} = \frac{100 * (W3 - (W1 * C1))}{W2}$$

Sachant que :

- W1 : Poids à vide du sac (g).
- W2 : Poids de l'échantillon (g).
- W3 : Poids séché du sac avec de la fibre après le processus d'extraction (g)
- C1 : Facteur de correction du sac vierge



**Photo 18** : Les sacs filtrants pressés  
Dans la solution ADL



**Photo 19** : Refroidissement des sacs  
filtrants dans le dessiccateur

### 3. L'extraction des composés phénoliques :

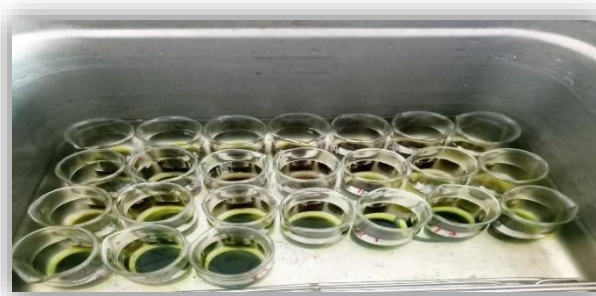
L'objectif est de diffuser quantitativement les composés phénoliques présents dans le matériel végétal en phase liquide.

#### 3.1 Préparation de l'extrait :

Pour le processus d'extraction, le solvant utilisé est une solution aqueuse d'acétone (70 %). Ce dernier s'est montré le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols dans de nombreuses études.

#### ❖ Procédure :

Le matériel végétal sec (200mg) est introduit dans un bécher de 25ml de capacité, contenant 10ml d'une solution d'acétone 70 % (pour préparer 1l = 700ml acétone + 300ml d'eau distillé). L'extraction est faite pendant 20min dans un bain marie à ultrasons (Branson 3210) à température ambiante.



**Photo 20** : Le traitement ultrasonique



Le contenu du bécher est ensuite transféré dans des tubes à centrifuger et soumis à une centrifugation pendant 10 min à environ 3000 g à 4 ° C. Le surnageant est collecté et maintenu dans des tubes en verre qui sont gardé dans un réfrigérateur à une température de -4°C. Par contre, le culot est transféré au bécher en utilisant deux portions de 5ml de solution d'acétone (70 %), le même traitement que précédemment est réalisé (extraction pendant 20min dans un bain marie à ultrasons). Une centrifugation est ensuite effectuée, le surnageant est récupéré et traité comme il a été décrit antérieurement.



**Photo 21 : L'étape de centrifugation**



**Photo 22 : La récupération des surnageants dans des tubes en verre**

### 3.2 Dosage des polyphénols totaux (Méthode de Folin Ciocalteu) :

#### a. Principe :

Le dosage des polyphénols a été effectué à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible. Il est réalisé selon le procédé décrit par Makkar. Ces tests sont basés sur le principe de l'oxydoréduction et l'utilisation du réactif Folin-Ciocalteu ou Folin-Denis réactifs.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). La technique repose sur la réduction de ce mélange d'acide, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène. La coloration produite est due à la formation d'un composé stable d'oxyde de tungstène et de molybdène, qui a un maximum d'absorption à 760 nm. La coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

La méthode des phénols totaux est utile pour connaître l'efficacité d'extraction des phénoliques dans les solvants. Cette méthode peut être couplée à l'utilisation d'une matrice insoluble, la polyvinyl polypyrrolidone (PVPP qui lie les tanins-phénoliques) pour la mesure des tanins. Les résultats peuvent être exprimés en équivalent d'acide tannique.

**b. Préparation des solutions :**

- ❖ Solution de Folin Ciocalteu (1N) : le réactif de Folin (2N) est dilué avec un volume égal d'eau distillée. La solution est stockée et à 4°C dans une bouteille sombre
- ❖ Carbonate de Sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) : 40 g de carbonate de sodium sont dissout dans 200 ml d'eau distillée.
- ❖ Insoluble Polyvinylpyrrolidone.
- ❖ Acide tannique ( $\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$ ) (0,1 mg/ml) : 25 mg d'acide tannique (Merck) sont dissout dans 25 ml d'eau distillée. Cette solution est ensuite diluée au 1/10<sup>ème</sup>.

**c. Préparation de la courbe d'étalonnage :**

On suivre le tableau suivant pour préparer six solutions étalons pour le dosage des Polyphénols.

**Tableau 5 : Composition de la solution étalon pour le dosage des Polyphénols**

Tube	Acide tannique (ml)	Eau distillée (ml)	Folin Ciocalteu (ml)	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ (20%) (ml)
B	0	5	2.5	12.5
T1	0.2	4.8	2.5	12.5
T2	0.4	4.6	2.5	12.5
T3	0.6	4.4	2.5	12.5
T4	0.8	4.2	2.5	12.5
T5	1	4	2.5	12.5

On détermine la densité optique des solutions (T1 jusqu'à T5) à 725 nm par rapport au témoin.



**Photo 23 : Les solutions étalons de préparation de courbe d'étalonnage**

On trace la courbe d'étalonnage (absorbance en fonction de concentration d'acide tannique ( $\mu\text{g/ml}$ )).

**d. Analyse des phénols totaux :**

Des échantillons aliquotes de l'extrait contenant les tanins (0.02, 0.05 et 0.1) sont mis dans des tubes puis complétés avec 0,5 ml d'eau distillée et 0,25ml de réactif de Folin puis 1,25 ml de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Les tubes sont mélangés au Vortex et leur absorbance mesurée après 40min. La quantité de phénols totaux est calculée comme équivalent d'acide tannique à partir de courbe étalon, le taux de phénols totaux.



**Photo 24 :** La lecture de l'absorbance par le spectrophotomètre UV-visible

**3.3 L'élimination des tanins totaux de l'extrait :**

**a. Principe :**

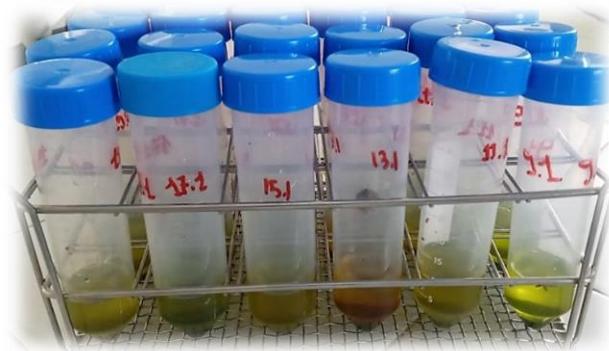
Les tanins sont distingués des non tanins par une matrice solide, le PolyVinyl PolyPyrrolidone (PVPP). Une partie de l'extrait de plante est traitée avec du PVPP qui possède une haute affinité pour les tanins, éliminés de la solution par centrifugation après le traitement au PVPP. La différence entre la valeur totale des phénols avant et après le traitement (PVPP) donne la mesure des tanins totaux

On calcule le taux des tanins totaux selon la relation suivant :

$$\% \text{Tanins Totaux} = \% \text{Phénol totaux} - \% \text{Phénols qui ne précipitent pas avec PVPP}$$

**b. Procédure :**

- Peser 100 mg de PVPP dans des tubes à essai.
- Ajouter 1 ml d'eau distillée et 1 ml de l'extrait (la quantité de PVPP est suffisante pour fixer 2 mg de phénols totaux). Si le contenu de l'aliment est plus que 10 % de la MS, diluer l'extrait.
- Mélanger au Vortex et maintenir le tube à 4°C pendant 15min puis mélanger au Vortex une seconde fois.
- Centrifuger (3000 g pendant 10min) et collecter ensuite le surnageant. Ce dernier contient les phénols simples, autres que les tanins (les tanins sont précipités par le PVPP).
- Mesurer les phénols du surnageant comme précédemment (prendre le triplet du volume utilisé pour les phénols totaux).



**Photo 25 :** L'extrait des tanins à PVPP dans les tubes à centrifugation

### 3.4 Extraction des tanins condensés libres Proanthocyanidines (Méthode du HCl- Butanol) :

#### a. Principe :

Cette analyse est faite selon la technique de Porter.

La méthode de dosage au butanol-HCl, basée sur la dépolymérisation oxydante des TC avec l'apparition d'un précipité de couleur rouge. C'est une méthode utilisée classiquement dans les laboratoires. Elle a pour avantage de confirmer la présence de polymères interflavanes. Cependant cette méthode a une variabilité élevée du fait de la complexité de structure des TC, de la nature du standard utilisé et de la présence d'eau ou de métaux ( $Fe^{3+}$ ) dans le milieu réactionnel.

#### b. Préparation des solutions :

- ❖ Réactif Butanol-HCl : Mettre 950 ml de n-butanol avec 50 ml de HCl concentré (37%)
- ❖ Réactif Ferrique (Sulfate d'Ammonium Ferrique à 2% dans HCl 2N) : Faire 16,6 ml de HCl concentré et compléter jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée pour faire HCl 2N. Dissolvez 2,0 g de Sulfate d'Ammonium Ferrique dans ce volume d'HCl 2N. Ce réactif doit être conservé dans une bouteille sombre.

#### c. Procédure :

Dans un tube à essai en verre, pipeter 0,50 ml d'extrait de tanin dilué avec 70% d'acétone. La quantité d'acétone doit être suffisamment importante pour éviter que l'absorbance (550nm) du test ne dépasse 0,6. Cela dépendra de la quantité de tanin condensé attendue dans l'échantillon et devra parfois être déterminée par essais et erreurs. Aux tubes, ajoutez 3,0 ml de réactif butanol-HCl et 0,1ml de réactif ferrique. Vortexer les tubes. Couvrir l'embouchure de chaque tube avec une bille de verre et placer les tubes dans un bain marie bouillant ajusté entre 97 et 100 ° C pendant 60 min. Refroidir les tubes et enregistrer l'absorbance à 550 nm.

Soustrayez un blanc approprié, qui est généralement l'absorbance du mélange non chauffé. Si l'extrait contient des flavan-4-ols, une couleur rose se développe sans chauffage. Si ça arrive, utiliser un blanc chauffé pour chaque échantillon, comprenant 0,5 ml d'extrait, 3 ml de butanol et 0,1 ml de réactif ferrique



**Photo 26 :** Les tubes en verre dans le bain marie

Les tanins condensés sont calculés par la formule :

$$\% \text{ Tanin Condensé} = A \text{ bs} * 78,26 * \text{Facteur de dilution}$$

Le facteur de dilution est égal à 1 si aucune acétone à 70% n'a été ajoutée et que l'extrait a été fabriqué à partir d'échantillon de 200 mg dans 10 ml de solvant. Lorsque 70% d'acétone est ajouté (par exemple pour éviter que l'absorbance ne dépasse 0,6), le facteur de dilution est :

$$\text{Facteur de dilution} = 0,5 \text{ ml} / (\text{volume d'extrait prélevé})$$

#### 4. La digestibilité in vitro :

##### 4.1 La digestibilité de production de gaz :

###### a. Principe :

Proposée par **Menke et al. (1979)**, cette méthode est basée sur la mesure des gaz produits lors de la fermentation des aliments, inoculés avec le jus de rumen et incubés dans des seringues à piston. Cette méthode est utilisée dans l'étude de la cinétique de fermentation (**Makkar, 2003**), puisque l'évolution de la production de gaz est associée aux fermentations dans le rumen (**Beeveret Mould, 2000**) et à la valeur nutritive des fourrages (**William, 2000**). Selon **Menke et Steingas, (1988)**, la quantité de gaz est étroitement liée à la digestibilité. Le gaz est composé essentiellement de méthane  $\text{CH}_4$  et du dioxyde de carbone  $\text{CO}_2$ . D'autres éléments peuvent être présents comme les acides à chaîne courte (acétique, propionique et butyrique, appelés Acides Gras Volatils ou AGV).

La méthode in vitro de production de gaz par l'utilisation de jus de rumen est très utilisée en raison de sa commodité pour le traitement de plusieurs échantillons simultanément. L'utilisation des méthodes de production de gaz pour l'étude de la cinétique de digestion dans le rumen pourrait éviter de nombreux problèmes car la production de gaz provient des fractions fermentées de l'aliment et les pertes sont par conséquent éliminées. Il est évident que la méthode de production de gaz permet de prévoir la digestibilité de la matière organique des fourrages de manière plus précise parce qu'elles utilisent les micro-organismes du rumen et permettent d'isoler un résidu pariétal indigestible. De plus, cette méthode présente l'avantage de permettre le calcul des cinétiques de dégradation qui donne des informations précieuses sur la dynamique des fermentations dans le rumen.

### **b. Les facteurs influençant la méthode de production de gaz :**

#### **❖ Nature et qualité du jus de rumen :**

La nature de la ration des animaux donneurs de jus influence largement l'environnement du rumen et par conséquent, son activité. Dans quelques travaux, les auteurs utilisent le jus de rumen provenant d'animaux alimentés uniquement au fourrage, alors que dans d'autres, les animaux sont nourris avec des fourrages complétés avec différentes proportions de concentrés.

Cette différence dans les rations des animaux donneurs de jus de rumen affecte largement l'activité de l'inoculum, ce qui constitue la principale source de variation dans les valeurs obtenues de production de gaz entre laboratoire pour un même aliment.

Le prélèvement du jus avant le repas du matin présente une activité moindre par rapport à celui prélevé 2 heures après le repas, mais la composition et l'activité du jus des animaux après un jeûne nocturne sont beaucoup plus consistantes.

Le taux de dilution du jus de rumen avec le tampon est aussi un paramètre important qui affecte la production de gaz. Avec un taux de dilution élevé, une faible concentration de micro-organismes est incubée, ce qui permet une croissance microbienne élevée et un lent épuisement des nutriments dans le temps, ce qui conduit à une erreur standard de production totale de gaz plus élevée que dans le cas de faible taux de dilution.

#### **❖ Quantité de substrat à incuber :**

Ayant testé des prises d'essai de 50, 100, 150 et 200 mg, Menke et Steingass ont constaté une corrélation hautement significative entre ces prises d'essai pour une durée d'incubation de 24h. L'utilisation de quantités d'échantillon variant de 200 à 500 mg, a permis à d'autres auteurs de constater que la corrélation n'est plus linéaire quand le volume de gaz dépasse 90ml. Ceci serait dû à l'épuisement du tampon dans le milieu.

Le même constat a été rapporté par Getachew qui a noté une réduction significative de la production de gaz liée à une augmentation de la prise d'essai de 1 à 2 g. Menke et Steingass recommandent que pour des aliments très digestibles, la prise d'essai ne doit pas excéder 200mg alors qu'elle pourrait atteindre 300 mg pour des aliments moins digestibles comme les fourrages.

La granulométrie de l'échantillon et aussi tenue en compte dans cette méthode constatent une différence entre la digestibilité in vitro et la production de gaz entre des aliments dont la granulométrie varie entre 1 et 2mm. Le broyage fin des aliments concentrés détruit leur matrice protéique et affecte le taux de production de gaz. De ce fait il est recommandé que les aliments soient grossièrement broyés dans un mortier. Cette procédure permet l'obtention d'aliments ayant une granulométrie d'environ 2 à 3 mm.

### ❖ **Durée de l'incubation :**

La durée d'incubation des aliments en seringues est variable et dépend généralement de la nature de l'aliment. Cette durée doit aussi être dictée par le temps de séjour de cet aliment dans le rumen pour avoir des corrélations suffisantes avec les données de la digestibilité in vivo. Pour les aliments riches en hydrates de carbone rapidement fermenté, la production de gaz augmente rapidement durant les 12 premières heures d'incubation et accuse une diminution par la suite. Elle traduit la diminution de nutriments pour les micro-organismes et leur lyse dans le milieu. Les durées d'incubation préconisées par les auteurs varient de 24 heures à 144h.

### ❖ **Conditions de température et d'anaérobiose :**

Les bactéries du rumen sont très sensibles à l'oxygène et doivent idéalement évoluer dans un potentiel d'oxydoréduction relativement bas, correspondant à l'environnement du rumen. Les conditions d'anaérobiose doivent par conséquent être strictes et maintenues tout au long de la manipulation de l'inoculum (échantillon + jus rumen avec tampon) par un travail sous une atmosphère de CO<sub>2</sub>. La tolérance du système à l'oxygène est limitée et des bulles d'air équivalentes à un volume de 1 ml est admissible pour une utilisation de la méthode en routine.

La température a aussi la même importance que l'anaérobiose pour la méthode de production de gaz. Elle peut affecter négativement les valeurs de gaz mesurées, vue la sensibilité des microorganismes aux températures avoisinantes celles optimales. La baisse de température réduit la production de gaz de 0,25 à 0,34 ml. Par contre, une surchauffe pourrait causer des dommages sélectifs à la flore microbienne.

### ❖ Nature du milieu réactionnel ou tampon :

Les milieux tampon utilisés dans la méthode de production de gaz doivent apporter des éléments minéraux aux micro-organismes de l'inoculum. Ces tampons doivent aussi permettre le maintien d'un niveau de pH optimal pour cette flore. Parmi ces tampons on trouve les macro-minéraux et les micro-minéraux. En effet, les macro-minéraux exercent un rôle à la fois sur certaines propriétés physico-chimiques de l'environnement microbien (pression osmotique du milieu, taux de renouvellement de la phase liquide) et sur le métabolisme propre des micro-organismes.

### c. Le prélèvement du jus de rumen :

Nous avons appliqué la méthode *in vitro*, mise au point par Menke et améliorée par Menke et Steingass.

Le jus de rumen utilisé comme inoculum est prélevé de 4-6 caprins à partir de l'abattoir d'Ain Dalya. Dans cette région, le cheptel caprin utilise uniquement les parcours forestiers et hors le forêt. Ces derniers constituent pour les ruminants des ressources alimentaires à teneur élevée en constituants pariétaux. La richesse en fibre de ces ressources permet d'obtenir un jus de rumen adapté à l'utilisation des aliments difficiles à digérer.

Directement après l'abattage de l'animale, le contenu du rumen est versé dans un seau. Ceci permet d'obtenir un jus de rumen frais et d'éviter les pertes de micro-organismes dues au choc thermique. Le jus prélevé est filtré à l'aide d'un tamis de 250 $\mu$ m de porosité. Une quantité de 800 ml de jus de rumen est conservée à 39°C dans un thermos contenant de l'eau chaud puis transportée au laboratoire.



**Photo 27 : Le tamisage de jus de rumen frais**



**d. Préparation des solutions :**

La veille de l'incubation, cinq solutions ont été préparées et mélangées. La solution d'incubation obtenue est placée dans un bain marie à une température de 39°C.

**Tableau 6 :** Les réactifs incluent dans la préparation des solutions.

Solution	Formule	Nomenclature	Quantité
<b>Solution A</b> (microminéraux)	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	- Chlorure de calcium dihydraté	13.2 g
	MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	-Chlorure de manganèse tetrahydraté	10 g
	CaCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	- Chlorure de cobalte hexahydraté	1 g
	FeCl <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	- Chlorure de fer hexahydraté	8 g
			/100 ml H <sub>2</sub> O
<b>Solution B</b> (tampon)	Na HCO <sub>3</sub>	-Bicarbonate de sodium (=hydrogène carbonate de sodium)	35g
	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	-Bicarbonate d'ammonium (=hydrogène carbonate d'ammonium)	4g
			/1000ml H <sub>2</sub> O
<b>Solution C</b> (macrominéraux)	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	-Monohydrogénophosphate disodique	5,7g
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		6 ,2g
	Mg SO <sub>4</sub>	-Dihydrogénophosphate de potassium	0 ,6g
		- Sulfate de magnésium	/1000ml H <sub>2</sub> O
<b>Solution D</b> (indicateur)	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OH) <sub>2</sub>	- Résaurine	0,1g
			/100ml H <sub>2</sub> O
<b>Solution E</b> (réducteur)	NaOH 1N	- Hydroxyde de sodium 1N	1.7 ml
	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> S	-L-cyctein hydrochloride hydraté 99%	269 mg
			/41 ml H <sub>2</sub> O



**Photos 28** : Les cinq solutions préparées

Une fois préparées, les solutions d'incubation sont mélangées dans les proportions suivantes :

- ✓ L'eau distillée : 531ml
- ✓ Micro-minéraux : 0.11ml
- ✓ Tampon : 212 ml
- ✓ Macro-minéraux : 212 ml
- ✓ Solution réducteur : 43 ml

La solution d'incubation n'est utilisée que lorsque la coloration violet devient rose à transparente indiquant que celle-ci est dépourvu d'oxygène



**Photo 29** : La solution tampon avec la présence de l'oxygène



**Photo 30** : La solution tampon dépourvue d'oxygène

### e. Préparation des échantillons :

La veille de l'incubation, on pèse 300 mg d'échantillon en triplet et on les met dans des seringues d'incubation de 100 ml en verre. Ces seringues sont gardées dans l'étuve à une température de 39°C.

### f. Incubation en seringues :

Au laboratoire, le jus de rumen est ajouté à la solution d'incubation dans des proportions respectives de 1/3 et 2/3 après un barbotage du jus au CO<sub>2</sub> pendant 15 minutes sous une température de 39°C à l'aide d'un bain marie. Le barbotage au CO<sub>2</sub> est maintenu tout au long du prélèvement du mélange. Dans les seringues d'incubation, une quantité de 30ml du mélange a été ajoutée, et elles sont ensuite placées dans le bain marie à 39°C. Afin de faciliter le déplacement des pistons et d'assurer une étanchéité absolue des seringues, les pistons sont lubrifiés en utilisant de la vaseline. Des seringues témoins, ne contenant pas d'échantillons, ont servi de référence pour connaître la production de gaz issue de substrat de jus utilisée dans l'incubation. L'incubation dure 144 heures pour les fourrages.



**Photo 31** : La saturation de mélange par CO<sub>2</sub>



**Photo 32** : Mise en place des seringues dans le bain-marie à 39°C

Les volumes de gaz produit sont relevés après 2h, 4h, 8h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h, 120 et 144h. A la fin de chaque incubation, le contenu de la seringue est récupéré dans des sachets de nylon qui ne laisse passer que la partie soluble de l'échantillon. Le résidu de fermentation est séché à 60°C pendant 48 heures, jusqu'à l'obtention d'un poids constant.



**Photo 33** : La lecture de volume de gaz



**Photo 34** : La récupération des résidus dans des sachets en nylon

Le résidu est pesé pour estimer la matière sèche (MS) dégradée. La matière organique dégradée (DMO) est déterminée par incinération au four (550°C/6heures) du résidu sec de la fermentation.

**g. Paramètres calculés :**

Les paramètres calculés sont :

- La matière sèche et la matière dégradable (DMS) et (DMO) et qui représente respectivement la différence en % de la teneur en MS et MO avant et après l'incubation.
- La production de biomasse microbienne (PBM) en mg
- Le facteur de partition (FP)

La matière sèche et la matière organique digestible (DMO *in vitro*) sont respectivement calculées selon les formules suivantes :

$$\text{(\% DMS in vitro)} = (\text{MSi}-\text{MSf})/\text{MSi}*100$$

**MSi** : la matière sèche incubée initialement, contenue dans la prise d'essai placée dans les seringues.

**MSf** : la matière sèche résiduelle après incubation.

$$\text{(\% DMO in vitro)} = (\text{MOi}-\text{MOf}) / \text{MOi}*100$$

**MOi** : la matière organique initiale incubée, contenue dans la prise d'essai placée dans les seringues.

**MOf** : la matière organique après incubation.

## 4.2 La digestibilité réelle avec le DAISY II :

### a. Principe :

L'incubateur Daisy II permet d'effectuer facilement et efficacement des études in vitro sur la digestion de la matière sèche. Il permet l'incubation simultanée de plusieurs aliments dans des sacs en polyester scellés et placés dans le même récipient d'incubation avec l'inoculum (jus du rumen) et une solution tampon. Le système Daisy II maintient une chaleur constante (39°C) et uniforme et une agitation dans une chambre contrôlée. Avec cette méthode, la matière qui disparaît du sac pendant l'incubation est considérée comme de la matière sèche digestible. Cette méthode a été modifiée et adaptée pour améliorer sa précision et sa capacité de prédiction de la digestibilité des aliments pour les ruminants

L'inoculum est très important pour les études de fermentation in vitro, mais il représente également la plus grande source de variation incontrôlée dans les systèmes de fermentation. L'inoculum doit créer un environnement similaire à celui du tube digestif.



**Photo 35 : L'incubateur Daisy II**

**b. Procédure :**

❖ **Préparation des échantillons :**

Numéroter les sacs filtrants qui sont rincé par l'acétone pendant trois minutes et séché complètement à l'air (le rinçage à l'acétone élimine un surfactant qui inhibe la digestion microbienne). et introduire 0,5 g d'échantillon. Inclure un échantillon vide, qui va être utilisé comme témoin (indicateur de la perte de particules). Les sacs sont alors scellés par une thermoscelleuse et placé dans le pot d'incubateur Daisy II (jusqu'à 25 échantillons par pot). Les échantillons doivent être uniformément distribués des deux côtés du diviseur de pot de digestion.

❖ **Préparation des solutions :**

La solution tampon est constituée par les deux solutions suivantes :

**Tableau 7 : Les réactifs incluent dans la préparation des solutions.**

Solution	Formule	Nomenclature	Quantité
Solution tampon A	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	-Phosphate de monopotassium	10 g
	$\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-Sulfate de magnésium	0,5 g
	NaCl	-Chlorure de sodium	0,5 g
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-Chlorure de cobalte dihydraté	0,1 g
	$\text{CH}_4\text{ N}_2\text{O}$	-Urée (qualité réactif)	0,5 g
			/1330 ml H <sub>2</sub> O
Solution tampon B	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	-Carbonate de sodium	15g
	$\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	-Sulfure de sodium	1g
			/266 ml H <sub>2</sub> O

❖ **Préparation de la solution tampon (combinée) :**

Pour chaque pot de digestion, préchauffer à 39 ° C les deux solutions tampons (A et B). Dans un récipient séparé, ajoutez ~ 266 ml de solution B à 1330 ml de solution A. La quantité exacte de A à B doit être ajustée pour obtenir un pH final de 6,8 à 39 ° C.

❖ **Préparation de l'inoculum et l'incubation :**

En utilisant la même procédure du prélèvement du jus de rumen. Ajouter 1600 ml de mélange A / B combiné dans chaque pot de digestion et placez les bouchons de digestion avec les échantillons et la solution tampon dans l'incubateur Daisy II.

Ajoutez les 400 ml de jus de rumen à la solution tampon et les échantillons. Purgez le pot de digestion avec du CO<sub>2</sub> gaz (L'action de mélange sert à déloger les microbes qui sont attachés au tapis et à assurer un représentant population microbienne pour la in vitro fermentation) pendant trente secondes et verrouiller le couvercle et incuber pendant 48 heures. Le système Daisy II maintiendra une température de 39,5 ° C. À la fin de l'incubation, retirez les bocaux et vidangez le liquide. Rincer soigneusement les sacs à l'eau froide du robinet jusqu'à ce que l'eau soit claire.

Lors de la détermination de la véritable digestibilité, il est nécessaire d'éliminer les débris microbiens et toutes les fractions solubles restantes à l'aide d'une solution détergente neutre. Après avoir rincé les sacs puis séchés dans l'étuve pendant 5-7 heures à une température de 60°C. Mettre les sachets dans le dessiccateur. Suivez la procédure pour déterminer le NDF. Enregistrer le message in vitro Poids NDF en W3

Calculer les résultats selon la formule suivante :

$$\% \text{ IVTD (comme base reçue)} = \frac{100 - (W3 - (W1 * C1)) * 100}{W2}$$

$$\% \text{ IVTD DM (base DM)} = \frac{100 - (W3 - (W1 * C1)) * 100}{(W2 * DM)}$$

Avec :

**W1** = Poids à vide du sac

**W2** = Poids de l'échantillon

**W3** = Poids final du sac après traitement in vitro et séquentiel ND

**C1** = Facteur de correction du sac vierge (poids final séché au four / poids du sac vierge d'origine)

### 4.2 La digestibilité enzymatique :

La digestibilité des fourrages destinés aux caprins est estimée à l'aide de test enzymatique. Dans notre étude, la méthode retenue est celle utilisant la pepsine cellulase, mise au point par **Aufrere (1982)**.

#### a. Principe :

La digestibilité par la pepsine cellulase se fait en deux étapes :

Une première étape consiste à utiliser la pepsine. Enzyme qui dégrade les protéines se trouvant dans les aliments. Une deuxième étape consiste en l'utilisation de la cellulase qui décompose la cellulose.

### b. Procédure :

#### ❖ Préparation des échantillons :

Numéroter les sacs filtrants et introduire 0,5 g d'échantillon. Inclure un échantillon vide, qui va être utilisé comme témoin (indicateur de la perte de particules). Les sacs sont alors scellés par une thermo-scelleuse et placés dans le pot d'incubateur Daisy II (jusqu'à 25 échantillons par pot). Les échantillons doivent être uniformément distribués des deux côtés du diviseur de pot de digestion.

#### ❖ Préparation des solutions :

##### Solution 1 :

Verser 125ml de HCL (1N) dans une fiole jaugée de 1250 ml, puis on ajoute l'eau distillé jusqu'au trait de la fiole. Ensuite ajouter 2,5 g de la pepsine et agiter pour homogénéiser la solution.

##### Solution 2 :

Dans une fiole jaugée de 1250 ml, dissoudre 8,5 g/l du tampon acétate de sodium, puis on ajoute l'eau distillée jusqu'au trait du jauge après ajouter 1,25g de cellulase et agiter. Ensuite à l'aide d'un pH-mètre, on ajuste le pH (pH=4.6) par l'ajout de HCL (1N).

#### ❖ L'incubation :

Ajoutez la solution1 à les échantillons et incubé à 40°C pendant 24heures avec agitation dans l'incubateur Daisy II. Après les 24 h, placer les béciers dans un bain-marie dans une période de 30 min exactement à 80°C (hydrolyse de l'amidon), filtrer et rincer tous les sachets avec l'eau distillée rapidement pour éviter une hydrolyse additionnelle, ensuite les pots de l'incubateur Daisy II et ajouter cette fois la solution 2, après on les recouvre comme précédemment. Filtrer et rincer à l'eau distillée, puis sécher les sachets contenant les résidus à l'étuve à 60 °C pendant 48 h, les mettre dans le dessiccateur puis peser. Ouvrir les sachets et placer les résidus dans des creusets en porcelaine déjà pesés et numérotés. Incinérer à 500°C pendant 4 h dans un four à moufle.

Les creusets seront refroidis dans un dessiccateur pour être enfin pesés avec leurs résidus.

Calculer les résultats selon la formule suivante :

$$dCs = 100 \times [ E(MS) - (P1-P0) ] / E(MS)$$

$$dCo = 100 \times [ E(Mo) - (P1-P2) ] / E(MS)$$

Avec :

**E (MS)**=Prise d'essai en MS

**E (MO)**=Prise d'essai en MO



**DCs** = Digestibilité pepsine cellulase de la matière sèche

**DCo** = Digestibilité pepsine-cellulase de la MO

**Po** : tare de creuset, **P1** : Poids du creuset + résidus en MS ; **P2** : Poids du creuset + résidu cendre.



**Photo 36** : Pot contenant les échantillons et la solution d'incubation



**Photo 37** : Les échantillons et la solution de la première incubation dans le bain marie

## PARTIE II : RESULTATS ET DISCUSSION

Notre étude est comme but de déterminer la qualité nutritive de quatre espèces sylvo-pastorales au Nord du Maroc (province Chefchaouen). Les résultats à présenter dans cette partie porteront sur : la composition chimique, la digestibilité et la cinétique de digestion.

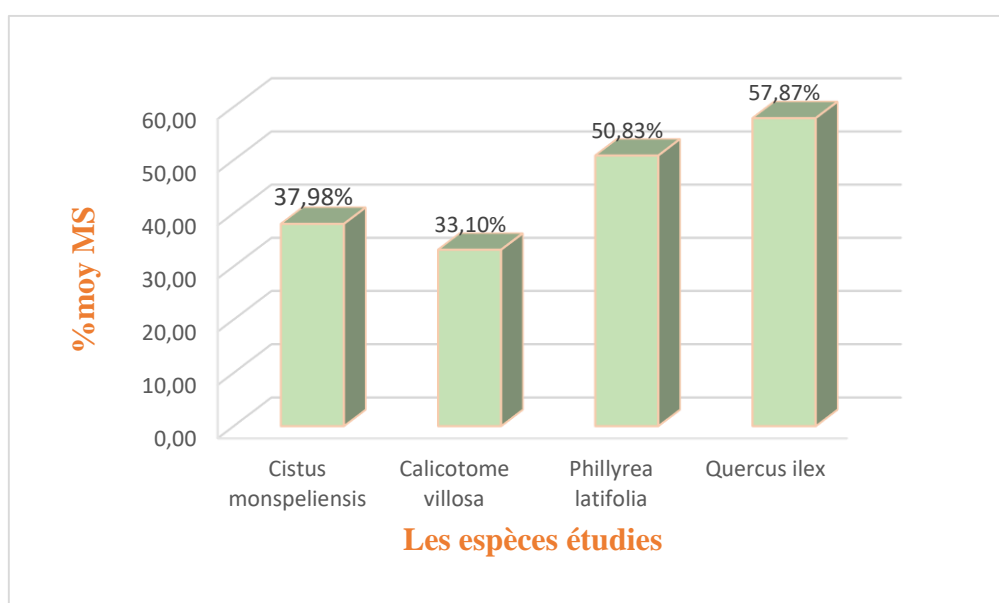
### I. Les paramètres de la qualité nutritive des fourrages :

Pour chaque grandeur mesuré on a calculé la moyennes des trois répétions pour chaque espèce sylvo pastorale étudiés.

#### 1. La détermination de la teneur en matière sèche :

D'après l'histogramme de la variation de la teneur en MS des quatre espèces sylvo-pastorales étudiés on constate que :

Le pourcentage moyen en matière sèche varie entre 57,87 et 33,1% MS, la teneur la plus faible est enregistrée pour l'espèce *Calicotome villosa*, alors que la valeur la plus élevé est enregistré pour l'espèce *Quercus ilex*.



**Figure 13 :** La teneur moyenne de la MS des espèces sylvo-pastorales étudiés

#### ❖ Traitement statistique :

On utilise l'anova à un seul facteur (facteur %MS) pour l'analyse des variances des espèces étudié et on trouve que :

Selon le test Shapiro-Wilk, les donnes suit une loi normale  $p\text{-val}=0,655 > \alpha \text{ critique}=0,05$ .

Selon le test de Fisher (analyse de variance à un seul facteur), les résultats montrent que la teneur en matière sèche diffère de façon très hautement significatif pour les quatre espèces étudiées avec une valeur de  $p\text{-val}=2,5*10^{-6}<0,05$ .

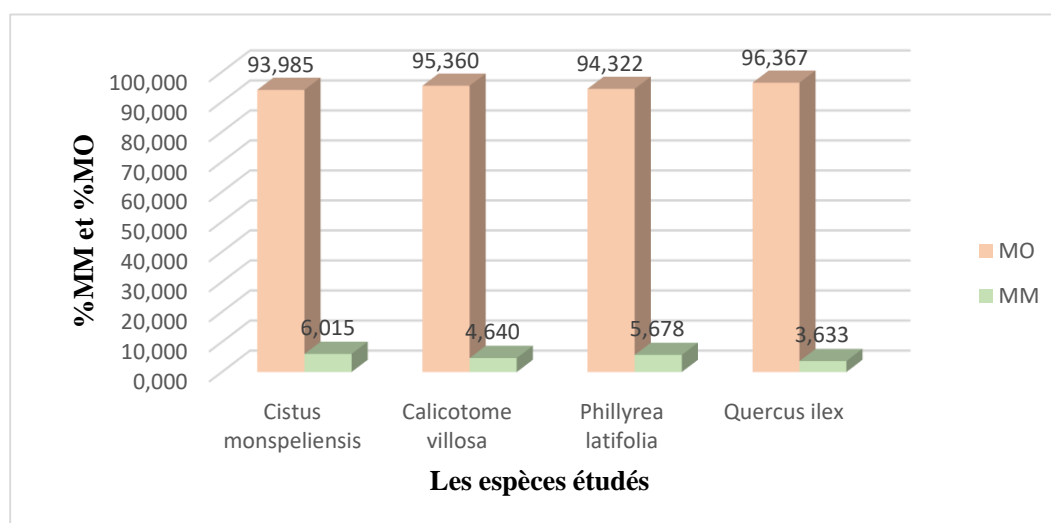
Un fourrage de matière sèche varie entre 40 et 60% est caractérisé comme une bonne fourrage pour les caprin [58].

On compare le plus grand %moyenne en MS, c'est celui de l'espèce *Quercus ilex* avec deux autres études de la même espèce et on trouve que :

Nos résultats (% MS d'espèce *Quercus ilex* égale 57,87%) sont supérieurs aux résultats mentionnés pour une autre étude qui a été réalisé sur les ressources fourragère au pâturage pour les bovins laitiers qui donnent une % MS (*Quercus ilex*) égale 54,4% [59]. Alors qu'une deuxième étude a été réalisée sur la valeur nutritive des ressources fourragères utilisées en Algérie donnent une % MS (*Quercus ilex*) égale 52,2% [60].

### 2. La détermination des teneurs en matière minérale et organique :

L'histogramme suivant montre que l'espèce *Quercus ilex* est le plus riche en matière organique d'une valeur de 96,367 %MO en moyenne. Toutefois, on note des valeurs très proches entre les espèces pour ce paramètre qui varie entre 96,367 % et 93,985 %MO. Plus la plante accumule de la matière organique plus la teneur en minéraux diminue, c'est pour cela la plante *Quercus ilex* note la plus faible teneur en minéraux 3,633%MS en moyenne. Par contre l'espèce *Cistus monspeliensis* est la plus concentrée en matière minérale avec une valeur de 6,015%MM en moyenne, et la plus faible teneur en matière organique de 93,985%MO en moyenne.



**Figure 14** : La teneur moyenne en MO et MM des plantes pastorales étudiés

❖ **Traitement statistique :**

**Analyse de variances à un seul facteur (facteur %MM et facteur %MO) :**

Avant de comparer les variances des quatre espèces étudiés avec l'anova à un seul facteur, il faut vérifier la normalité des données par le test de Shapiro-Wilk. On résume les résultats dans le tableau suivant :

**Tableau 8 : L'analyse statistique des données du %MM et %MO**

Nom du test	Vérification de normalité		Analyse de variance	
	Test de Shapiro-Wilk		Test de Fisher	
Facteur(%)	%MO	%MM	%MO	%MM
P-val	0,181	0,072	2,087E-05	2,64E-04

Pour les 2 facteurs %MM et %MO on a  $p\text{-val} > \alpha \text{ critique} = 0,05$ , donc selon le test de Shapiro-Wilk les données suivent une loi normale.

Selon le test de Fisher, les résultats montrent que la teneur moyenne en matière organique et en cendres diffèrent de façon très hautement significatif pour les quatre espèces étudiées avec une valeur de  $p\text{-val} < 0,05$ .

Selon les résultats d'étude des ressources fourragères au pâturage pour les bovins laitiers, les teneurs moyennes en matière organique et minérale pour l'espèce *Quercus ilex* sont : 35% MM et 65% MO [59]. Ces résultats sont différents à celui trouvé par une étude sur la valeur nutritive des ressources fourragères utilisées en Algérie. Soit 98,6% de MO et 2,4% de MM de même espèce *Quercus ilex* [60].

En revanche, nos résultats semblent être en moyenne plus proches de l'étude de la valeur nutritive des ressources fourragères utilisées en Algérie. Par contre les résultats d'étude des ressources fourragères au pâturage pour les bovins laitiers sont plus inférieurs à nos résultats. Cette différence peut être expliquée par les différents climats des milieux des récoltes, La province de Chefchouen et Lusignan qui est située dans le département de la Vienne.

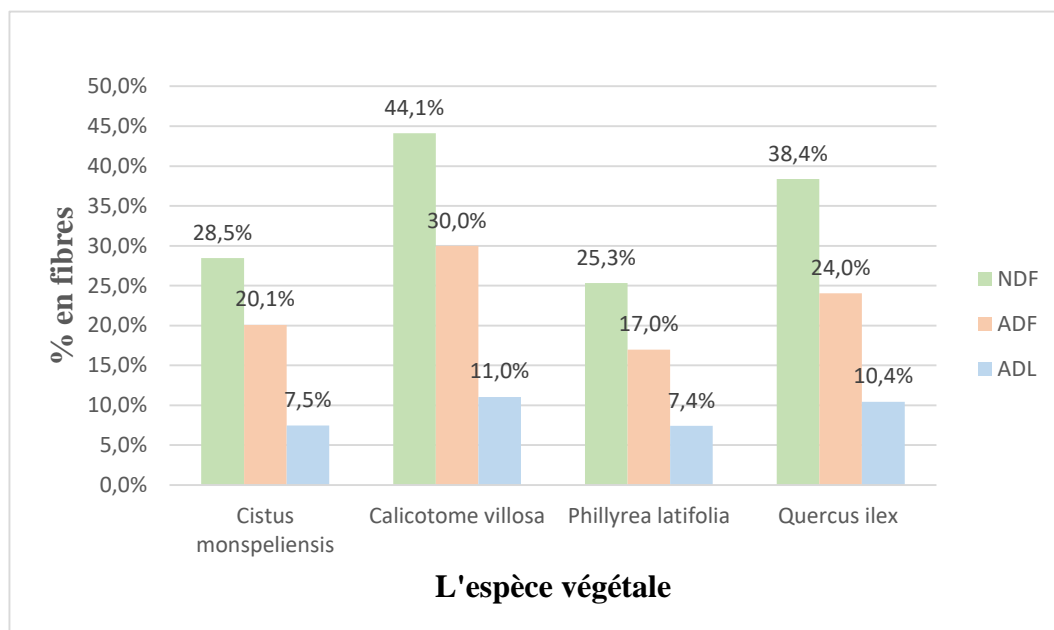
La matière organique est la source d'énergie donc plus la teneur en matière organique augmente plus les valeurs de UF (unité fourragère) et PDIE (protéine digestible dans l'intestin permise par l'énergie) augmentent et donc on peut qualifier les espèces sylvo-pastorales comme des bonnes fourrages [60].

On peut dire que l'espèce *Quercus ilex* est le bon fourrage parmi les quatre espèces sylvo-pastorales étudiées selon les facteurs suivants %MS, %MM, %MO.

### 3. La détermination des teneurs en fibres (NDF, ADF, ADL) :

L'histogramme de teneur en fibres en fonction d'espèces végétale montre que :

Les plus faibles teneurs en parois totales (NDF), en lignocellulose (ADF) et en lignine (ADL) sont notées chez l'espèce *Phillyrea latifolia*, soit de 25,3%NDF, 17%ADF, 7,4%ADL, tandis que de fortes teneurs sont rencontrées chez *Calicotome vilosa* avec 44,1%NDF, 30%ADF, 11%ADL.



**Figure 15 :** Teneur en fibres en fonction d'espèce végétale

#### ❖ Traitement statistique :

Le tableau suivant donne les résultats d'analyse des variances et des vérifications de normalité des quatre espèces étudiées.

**Tableau 9 :** L'analyse statistique des teneurs en fibres

Nom du test	Vérification de normalité			Analyse de variance		
	Test de Shapiro-Wilk			Test de Fisher		
Facteur(%)	NDF	ADF	ADL	NDF	ADF	ADL
P-val	0,01	0,106	0,053	2,61 E-08	8,96 E-08	2,39 E-07

On a  $p\text{-val} (\%NDF, \%ADF, \%ADL) > \alpha \text{ critique}=0,05$ , donc selon le test de Shapiro-Wilk les données suivent une loi normale.

**Significativement différentes**

On a  $p$ -val (%NDF, %ADF, %ADL)  $< 0,05$  donc selon le test de Fisher notre étude montre que les teneurs en NDF, ADF et ADL varient de façon significative en fonction de l'espèce.

La digestibilité des ligneux par les ruminants est en grande partie conditionnée par leur teneur en parois totales. Van-Soest note que la richesse en parois cellulaires notamment en lignocellulose a une influence négative sur la digestibilité [60]. Donc les faibles valeurs en %NDF et %ADF chez l'espèce *Phillyrea latifolia* pourrai être associée à une haute digestibilité. Le taux élevé en lignine dans les feuilles des espèces *Calicotome vilosa* (44,1%) et *Quercus ilex* (38,4%) pourrait être associé à une faible digestibilité.

Les plantes fourragères, avec un contenu relativement faible en parois cellulaires, ont par conséquent une valeur nutritive plus élevée donc les fourrages avec une teneur plus faible en ADL sont facilement digérés, donc l'espèce *Phillyrea latifolia* qui a la plus faible teneur en ADL (7,4%) est notée comme un bon fourrage.

Le contenu en fibres augmente avec la maturité avancée du feuillage en raison de la lignification [61].

Les teneurs en fibres obtenues dans cette étude pour l'espèce *Phillyrea latifolia* sont inférieure à celles rapportées par une étude de la Composition chimique et facteurs antinutritionnels de quelques feuilles de ligneux fourragers des zones humides du nord-est de l'Algérie (la wilaya d'El Tarf), soit 45.45 %NDF, 30.36% ADF, 19.98 %ADL.

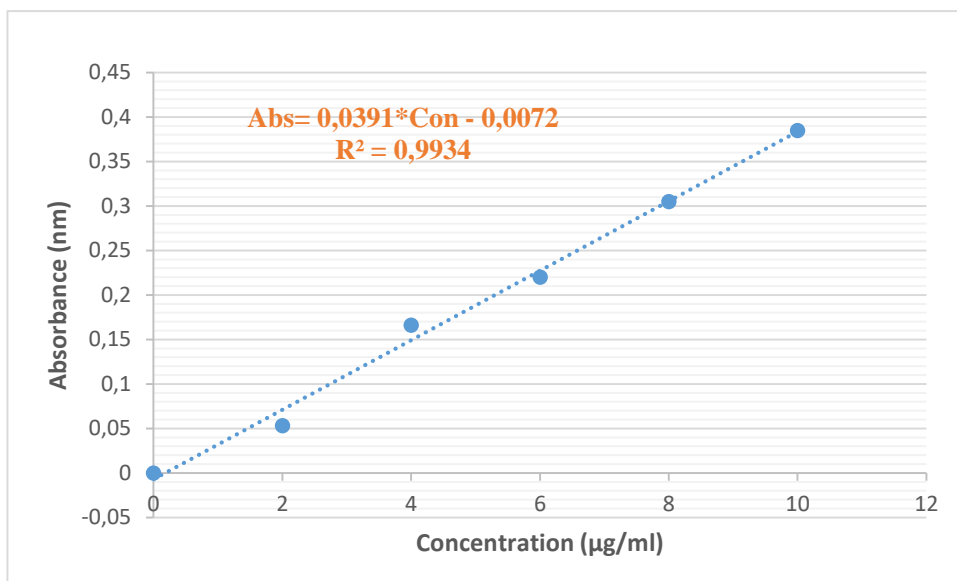
Les différences en NDF, ADF et ADL pourraient être dues à la différence climatique entre la zone d'étude la wilaya d'El Tarf qui se situe dans l'étage bioclimatique de type sub-humide à humide chaud, avec des hivers doux et des étés secs et la province de Chefchaouen bénéficie d'un climat tempéré chaud. L'été, à Chefchaouen, les pluies sont moins importantes qu'elles ne le sont en hiver [62].

#### 4. La teneur en Polyphénols :

Avant de procéder à la détermination de la teneur en composés phénoliques, nous avons établi une courbe d'étalonnage en utilisant l'acide tannique comme composé de référence.

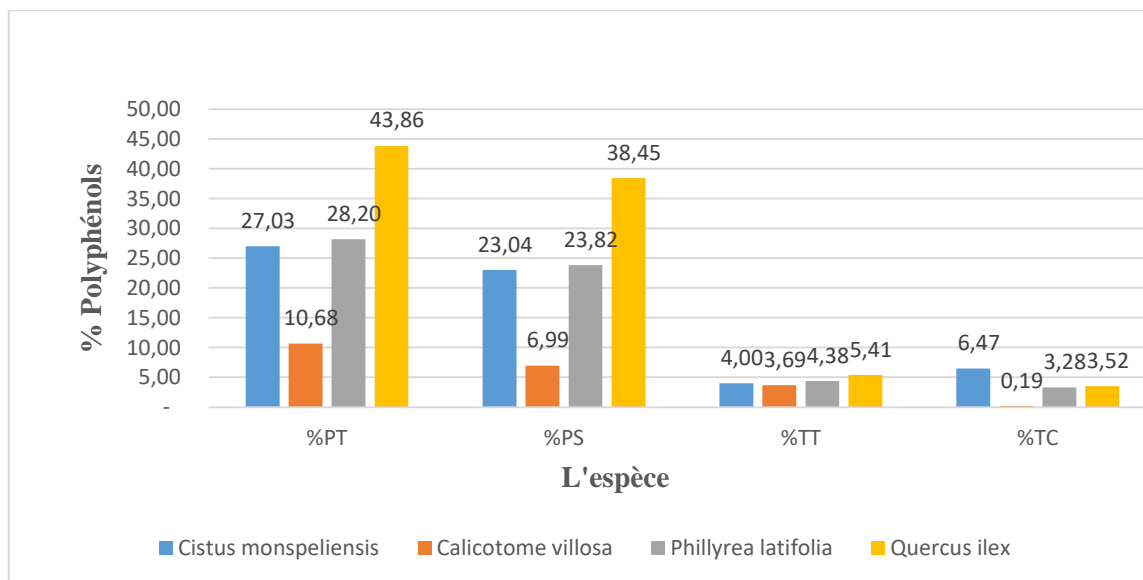
La courbe d'absorbance en fonction de concentration d'acide tannique ( $\mu\text{g/ml}$ ), nous permettons de calculer la concentration des phénols totaux et des phénols non tanniques par la prédiction inverse d'équation de la courbe linéaire à partir de mesure de l'absorbance de solutions de concentration connues.

On a une forte corrélation entre les différents point de courbe avec une valeur de  $R^2 = 99,34\%$ .



**Figure16 :** La variation d’absorbance en fonction de Concentration (µg/ml)

Le dosage des polyphénols totaux, nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenus dans les espèces sylvo-pastorales. L’histogramme suivant donne la teneur en polyphénols en fonction des espèces fourragères étudiées.



**Figure17 :** Teneur en Polyphénols des espèces fourragères étudiées

L'espèce *Quercus ilex* montre la plus grande teneur en phénols totaux, phénols simples et tannin totaux, soit de 43.86 %PT, 38.45%PS, 5.41%TT. Les valeurs les plus basses sont enregistrées chez *Calicotome villosa*, soit de 10.68 %PT, 6.99%PS, 3.69%TT.

La valeur teneur des tanins condensés libres est la plus élevée chez *Cistus monspeliensis* avec une valeur de 6,47%TC, par contre *Calicotome villosa* qui a une valeur en TC la plus faible de 0,19%TC, les autres fourrages présentent des valeurs moyennes variant de 3,52 %TC et 3,28 chez *Quercus ilex* et *Phillyrea latifolia*.

Les variations considérables entre les différents composés phénoliques affichée peuvent être liés, non seulement aux espèces fourragères elles même, mais aussi à la méthode d'analyse. Avec des plantes riches en tanins, une difficulté majeure est le manque de techniques de laboratoire précises pour leurs dosages [61].

Des études antérieures ont montré que les tanins condensés peuvent provoquer un fort effet dépressif sur l'activité microbienne et par conséquent sur la production de gaz mesurée in vitro et sur l'efficacité de la croissance microbienne. Aussi une diminution de l'ingestion volontaire des animaux lorsque la teneur en tanins condensés est élevée [60].

En revanche, les taux moins importants en tanins des feuilles des plantes pastorales pourraient présenter un avantage en augmentant le flux d'azote non ammoniacal et des acides aminés essentiels à partir du rumen. Ainsi, la précipitation des protéines par les tanins protège les micro-organismes du rumen de leurs effets délétères et permet également le recyclage de l'urée [60].

Pour ces raisons on peut dire qu'un bon fourrage est celui qui a composé par des teneurs faibles en TC et TT. Dans notre étude.

Les teneurs en TC et TT obtenues dans cette étude pour l'espèce *Calicotome villosa* sont plus proche à celles rapportées par une étude de la composition chimique et teneur en composés phénoliques des espèces arbustives du Nord-Ouest de la Tunisie, soit de 0.19%TC et 3.69% TT [62].

Cette différence pourrait être due aux conditions climatiques, au temps de la récolte et aux cultivars, mais aussi à la méthode de dosage (pas les mêmes conditions de travail) et au solvant d'extraction utilisé. La différence entre les teneurs en phénols totaux de deux variétés de la même plante, résulte de l'effet d'un certain nombre de facteurs dont les principaux sont la génétique, la lumière, les précipitations, la topographie, la fertilisation et le type de sols, la saison et la maturité [61].



### 5. La cinétique de production de gaz et digestibilité à 144 heures :

Les résultats de la fermentation et la production de gaz *in vitro* durant 144 heures de différentes espèces analysées sont rapportés dans le tableau suivant.

Aux termes des 144 heures *Calicotome villosa* s'est montrée la plus productive en gaz avec 204,67 ml / g MS, suivie par *Cistus monspeliensis* avec 180,56 ml / g MS. La performance la plus faible est enregistrée chez *Quercus ilex* avec 158,67 ml / g MS.

Il faut rappeler que la méthode production de gaz *in vitro* est aujourd'hui largement utilisée pour estimer la digestibilité et l'énergie métabolisable des aliments pour les ruminants.

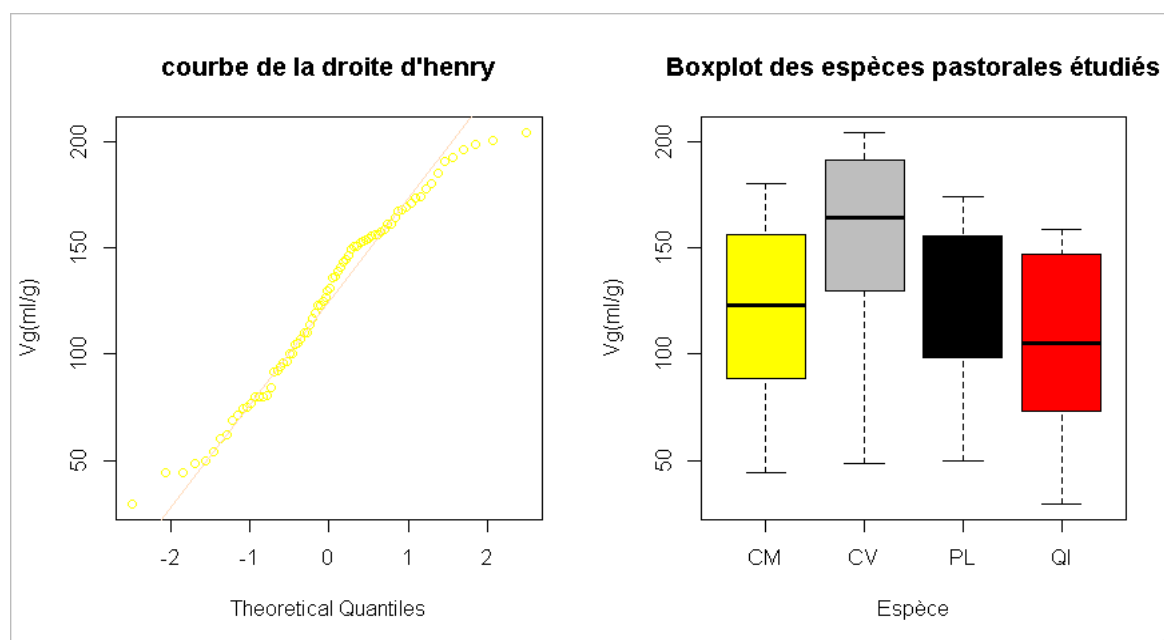
**Tableau 10 :** Production de gaz cumulative en (ml/g MS) des fourrages étudiés.

Numéro d'échantillon (ml/g)	<i>Cistus monspeliensis</i>	<i>Calicotome villosa</i>	<i>Phillyrea latifolia</i>	<i>Quercus ilex</i>
2h	44,17	48,67	49,67	29,33
3h	60,00	76,67	69,00	44,00
4h	74,44	96,00	80,33	54,00
6h	80,00	114,00	91,67	62,00
8h	84,44	123,33	96,67	71,33
9h	92,22	136,00	100,33	75,00
12h	100,00	139,33	104,67	80,00
16h	107,00	146,67	110,00	80,00
21h	116,67	156,00	119,67	94,00
24h	123,33	164,67	126,67	105,33
26h	130,00	169,33	131,33	110,00
31h	144,44	178,00	140,67	124,67
36h	151,11	185,33	149,33	136,67
48h	156,67	190,67	154,00	143,33
60h	156,67	192,67	157,67	150,67
72h	161,11	196,67	161,33	152,67
96h	167,78	198,67	167,33	153,33
120h	173,89	200,67	171,00	154,67
144h	180,56	204,67	174,33	158,67

❖ **Traitement statistique :**

**L'analyse graphique des données :**

On trace le box plot et le droit d'Henry pour l'analyse des quatre espèces étudiées.



**Figure 18 :** L'analyse graphique des volumes de production de gaz

On remarque que la majorité des points sont attaché sur la droite d'Henry donc les données suit une loi normale.

D'après le box plot on remarque l'absence d'une valeur qui s'éloigné aux variations des mesures donc il n'y a pas des valeurs aberrantes.

**Les hypothèses : test de la normalité**

H0 : les données suit une loi normale

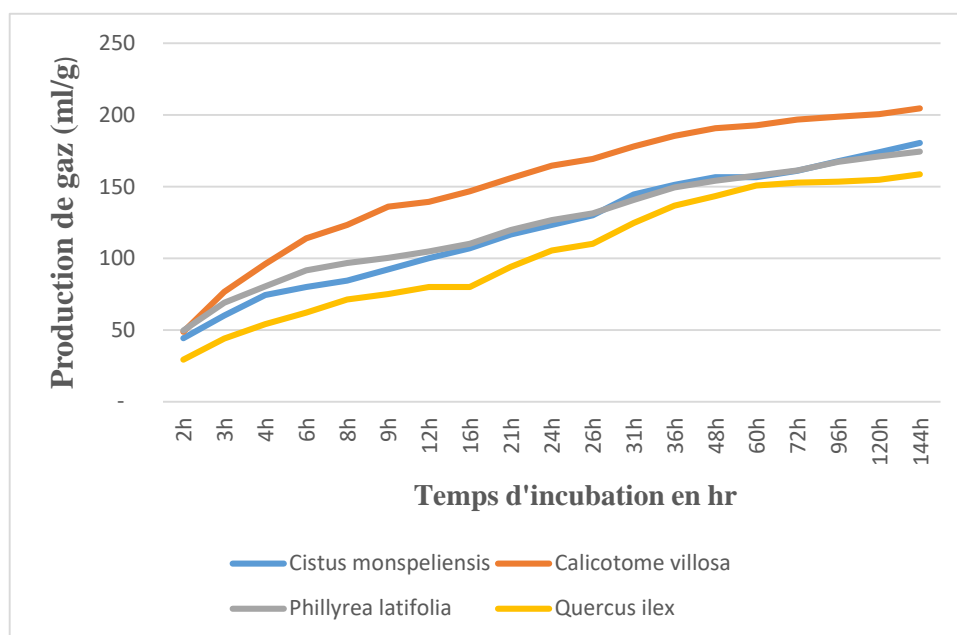
H1 : les données ne suit pas une loi normale

On a selon le test de Shapiro-wilk  $p\text{-value}=0,0719 > \alpha \text{ critique}=0.05$  donc on accepte la normalité des données.

Selon l'anova à une seul facteur (volume de gaz produit) Les profils fermentaires sont significativement différents ( $p\text{-val}= 0,0050 < 0,05$ ).

La méthode de production de gaz permet d'évaluer rapidement la valeur nutritive des aliments et de mettre en évidence la présence d'éléments ayant des propriétés anti-nutritionnelles dans leur composition. Elle simule le processus de fermentation des aliments dans le rumen à partir duquel les gaz CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub> sont produits.

La production de gaz "in vitro" des espèces étudiées évolue progressivement juste après l'incubation de la même façon, suivant une allure ascendante pour atteindre un pic vers 120 h d'incubation pour la plupart des échantillons (figure 18). Le profil de fermentation des substrats s'allonge jusqu'à 120 heures pour se stabiliser. Ce profil est justement caractéristique des fourrages fibreux qui manifestent un temps de latence plus ou moins élevé et passent une période de séjour long dans le rumen.



**Figure 19 :** Cinétique de production de gaz (ml / g MS) des fourrages collectés.

Pour qu'il y ait production de gaz il faut un substrat fermentescible et des microorganismes capables de le dégrader. La faible production de gaz chez *Quercus ilex* pourrait être due, d'une part à l'incapacité du microbiote ruminal à se développer et, d'autre part, de l'existence de substances anti-nutritionnelles qui inhiberaient la croissance bactérienne. C'est le cas, le fait que les feuilles de la légumineuse *Calicotome villosa* soit plus fermentescible que les autres légumineuses arbustives s'expliquerait par l'adaptation progressive des microorganismes à des substances inhibitrices à des doses assez faibles. Il faut rappeler que *Calicotome villosa* est une légumineuse cultivée avec la concentration la plus faible en Tannins Condensés (0,19%).

Une production de gaz basse indique une faible dégradabilité. Mais il est important de remarquer que certains fourrages riches en %ADL, le cas échéant chez *Quercus ilex* de notre étude, peuvent produire moins de gaz pendant la fermentation.

Par conséquent, le faible niveau de G144 enregistré chez *Quercus ilex* pourrait être dû à leur teneur élevée en ADL. En effet la fraction ADL est reconnue comme étant un rempart indigestible pour toute la microflore ruminal.

### 6. L'analyse des teneurs en MS et MO dans les digestibilités in vitro :

D'après le graphe suivant on constate que :

#### Pour la digestibilité de production de gaz :

Le taux de matière sèche dégradée après une durée d'incubation déterminée est pris comme index de la digestibilité des fourrages. La précision de la prévision de la digestibilité augmente avec la durée d'incubation des échantillons dans le jus rumen.

Les teneurs les plus élevées en MS et MO sont 56,09%MS et 51,5%MO noté par l'espèce *Calicotome villosa*. Alors que les teneurs les plus faibles en MS et MO sont enregistrés par *Quercus ilex*, soit de 38,3%MS et 27,9%MO. Ces résultats confirment ce qu'on obtient sur l'analyse de production de gaz.

#### Pour la digestibilité enzymatique :

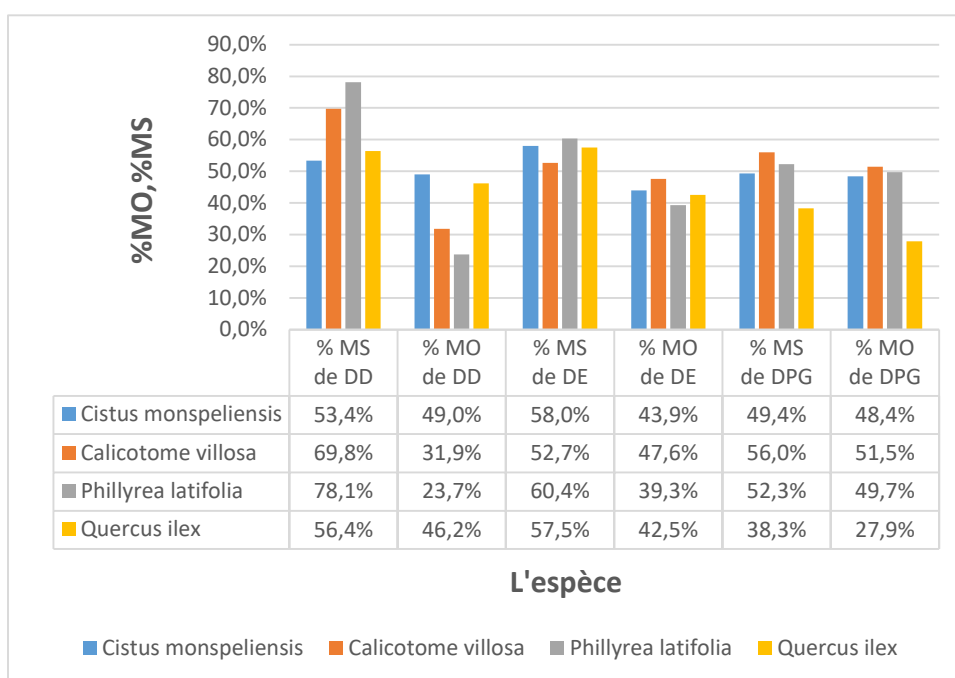
L'espèce *Phillyrea latifolia* montre la plus grande teneur en MS avec une valeur de 60,4%MS et une faible valeur de 52,7%MS chez l'espèce *Calicotome villosa*.

Pour la teneur en MO la valeur la plus basse enregistrée chez *Phillyrea latifolia* par 39,3%MO et la plus haute enregistrée chez *Calicotome villosa* par 47,6%MO

#### Pour la digestibilité réelle Daisy :

La plante *Phillyrea latifolia* note la plus faible teneur en MO de 23,7%MO en moyenne. Par contre l'espèce *Cistus monpeiliensis* est la plus concentrée en MO avec une valeur de 49%MO en moyenne.

L'espèce *Phillyrea latifolia* montre la plus grande teneur en MS avec une valeur de 78,1%MS et une faible valeur de 53,4%MS chez l'espèce *Cistus monpeiliensis*.



**Figure 20 :** La dégradabilité des MM et MO en fonction des espèces étudiés

❖ **Traitement statistique :**

**Tableau 11 :** L'analyse statistique des données du %MS et %MO

Nom du test	Véri de normalité		Analyse de var	
	Test de SW		Test de Fisher	
Facteur(%)	%MS	%MO	%MS	%MO
P-val	0,35	0,057	0,005	0,0059

On a  $p\text{-val} (\%MS, \%MO) > \alpha \text{ critique} = 0,05$ , donc selon le test de Shapiro-Wilk les données suivent une loi normale.

On a  $p\text{-val} (\%MS, \%MO) < 0,05$  donc selon le test de Fisher notre étude montre que les teneurs en (%MS, %MO) varient de façon significative en fonction de l'espèce.

Dans cette étude les plus grands teneurs en dégradabilité des %MS et %MO est enregistré pour la méthode de digestibilité enzymatique qui consiste à l'utilisation des enzymes de dégradation des protéines et de cellulose. La différence des résultats entre les digestibilités in vitro peut être due à la méthode de travail.

La matière organique dépend de l'importance de la fraction non soluble, quand le degré des fibres et la lignification augmente la digestibilité diminue c'est le cas de l'espèce Quercus ilex dans la digestibilité de production de gaz.

# Conclusion

Le domaine d'élevage caprin au Maroc a connu plusieurs programmes pour développer la production des viandes et du lait, la faiblesse de production de ces composés est liée essentiellement à une mauvaise alimentation du troupeau, tant sur le plan quantitatif que qualitatif, ceci est dû à un déséquilibre de balance fourragère. D'où le but de notre étude qui est la contribution à l'évaluation de la composition chimique et la qualité nutritionnelle de quatre plantes pastorales au Nord du Maroc utilisées comme fourrage pour les caprins.

Les quatre plantes étudiées présentent un intérêt nutritif important en termes de composition chimique, la composition en matière sèche (57,87%MS pour *Quercus ilex* et 50,83%MS pour *Phillyrea latifolia*), aussi pour la matière organique qui note des teneurs très élevées pour les quatre espèces et varie entre 96,367 % et 93,985 %MO, la plus haute valeur est enregistrée par *Quercus ilex*. Plus la plante accumule de la matière organique plus sa teneur en minéraux diminue, c'est pour cela la plante *Quercus ilex* note la plus faible teneur en minéraux 3,633%MS en moyenne. Par contre l'espèce *Cistus monspeliensis* est la plus concentrée en matière minérale avec une valeur de 6,015%MM en moyenne.

Pour les teneurs en constituants pariétaux les plus faibles teneurs en parois totales (NDF), en lignocellulose (ADF) et en lignine (ADL) sont notées chez l'espèce *Phillyrea latifolia*, soit de 25.3%NDF, 17%ADF, 7.4%ADL, tandis que de fortes teneurs sont rencontrées chez *Calicotome vilosa* avec 44.1%NDF, 30%ADF, 11%ADL.

Concernant les polyphénols, l'espèce *Quercus ilex* montre la plus grande teneur en phénols totaux, phénols simples et tannin totaux, soit de 43.86 %PT, 38.45%PS, 5.41%TT, Les valeurs les plus basses sont enregistrées chez *Calicotome villosa*, soit de 10.68 %PT, 6.99%PS, 3.69%TT.

La valeur teneur des tanins condensés libres est la plus élevée chez *Cistus monspeliensis* avec une valeur de 6,47%TC, par contre *Calicotome villosa* qui a une valeur en TC la plus faible de 0,19%TC, les autres fourrages présentent des valeurs moyennes variant de 3,52 %TC et 3,28 chez *Quercus ilex* et *Phillyrea latifolia*.

Dans la cinétique des digestions, *Calicotome villosa* s'est montrée la plus productive en gaz avec 204,67 ml / g MS, suivie par *Cistus monspeliensis* avec 180,56 ml / g MS. La performance la plus faible est enregistrée chez *Quercus ilex* avec 158,67 ml / g MS, cette faiblesse pourrait être due à leur teneur élevée en ADL. En effet la fraction ADL est reconnue comme étant un compartiment indigestible pour toute la microflore ruminal.

Le taux de matière sèche dégradée après une durée d'incubation déterminée est pris comme index de la digestibilité des fourrages. La précision de la prévision de la digestibilité augmente avec la durée d'incubation des échantillons dans le jus rumen.

Les teneurs les plus élevées en dégradabilité de la MS et MO sont 56,09%MS et 51,5%MO noté par l'espèce *Calicotome villosa*. Alors que les teneurs les plus faibles en MS et MO sont enregistrés par *Quercus ilex*, soit de 38,3%MS et 27,9%MO. Ces résultats confirment ce qu'on obtient sur l'analyse de production de gaz.

Les teneurs de la digestibilité enzymatique en %MS varient entre 60,4 et 52,7%MS, L'espèce *Phillyrea latifolia* montre la plus grande teneur en MS alors que la teneur la plus basse en %MO est enregistrée par la même espèce (39,3%MO) et la plus haute enregistrée chez *Calicotome villosa* par 47,6%MO.

Pour la digestibilité réelle Daisy la plante *Phillyrea latifolia* note la plus faible teneur en MO de 23,7%MO en moyenne. Par contre l'espèce *Cistus monpehensis* est la plus concentrée en MO avec une valeur de 49%MO en moyenne.

L'espèce *Phillyrea latifolia* montre la plus grande teneur en MS avec une valeur de 78,1%MS et une faible valeur de 53,4%MS chez l'espèce *Cistus monpehensis*.

La différence des résultats entre les digestibilités *in vitro* peut être due à la méthode de travail.

Selon notre étude et la comparaison avec des fourrages des mêmes espèces on conclure qu'un bon fourrage est celui qui est riche en %MO et %MS d'une façon que sa teneur en %ADL et en %TT doit être la plus faible, par contre sa digestibilité doit être la plus élevée.

D'après ces caractéristiques, on constate que parmi les quatre plantes pastorales étudiées *Calicotome villosa* est une bonne solution pour l'amélioration de l'alimentation des caprins, donc on peut considérer comme un bon fourrage.

## *Références Bibliographiques et Webographies*

- [1] <https://www.inra.org.ma/tanger/>
- [2] <https://www.inra.org.ma/>
- [3] **Moutiq, Rkia .(2011)**. Centre Régional de la Recherche Agronomique.
- [4] **Aclimas, P. (2013)**. Centre Régional de la Recherche Agronomique de Settat.
- [5] <http://www.fao.org/3/w3586f/w3586f06.htm>
- [6] **Joute ,J.(2012)**. Situation et stratégies de développement de l'élevage caprin laitier.
- [7] **Chentouf M.,BisterJ.L.et BoulanouarB.,(2011)**. Reproduction characteristics of North Moroccan indige-nous goats .Dans : Small Rum.Res.,98,pp.185-188.
- [8] **Chentouf, M, Ayadi, M., et Boulanouar, B. (2004)**. Typologie des élevages caprins dans la région de Chefchaouen au nord du Maroc : Fonctionnement actuel et perspectives. Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens, L'évolution Des Systemes de Production Ovine et Caprine: Avenir Des Systemes Extensifs Face Aux Changements de La Societe, 61, 255–261.
- [9] **Chentouf M., Zantar S., Doukkali MR., Farahat LB., Joumaa A., Aden H.(2011)**. Performances techniques et économique des caprins dans le nord du Maroc. Options méditerranéennes ; 100 : 151 – 156.
- [10] **Benlekhal A.** Introduction. **Dans Chriqi A.** (Ed). Elevage caprin : Quelle stratégie de développement ? 7e édition de la foire caprine de Chefchaouen. 12 et 13 mai, Chefchaouen, Maroc ; **(2016)**.
- [11] <https://www.gbif.org/fr/species/2956364>
- [12] **Belvaux, E., Webbe, J., Cung, A., Saad, N., et Hogan, C. (2010)**. Pastoralisme, Conservation De La Nature Et Développement : Un Guide Des Bonne Pratiques. In Secrétariat de la Convention sur la diversité biologique.
- [13] **Carriere M. et Toutain B. (1995)**. Utilisation des terres de parcours par l'élevage et interactions avec l'environnement par. 93.
- [14] **Fagouri S., Bouissa M.. (2008)**.Typologie des systèmes d'élevage caprin au Nord du Maroc : Voie de développement. L'éleveur – Spécial Caprin 16: 58-60
- [15] **Mesbahi A. (2006)**.Conduite et productivité des élevages caprins laitiers dans la région de Chefchaouen (Cas des élevages de l'ACEC). Mémoire de 3e cycle en Agronomie. Ecole Nationale d'Agriculture de Meknès, Meknès, Maroc.
- [16] **Ben Bati M. (2006)**Elevage caprin et utilisation de l'espace sylvopastoral dans la province de Chefchaouen. Rapport fin de stage. INRA – CRRA de Tanger, 101p.
- [17] **El Fadili Moussa. (2012)**. L'élevage caprin: Acquis de recherche, stratégie et perspectives de développement. Journal of Chemical Information and Modeling, 53(9), 1689–1699.



- [18] **Chentouf, Mouad, Boulanouar, B., & Bister, J. (2014).** L'Élevage Caprin Au Nord Du Maroc (Issue October).
- [19] **Maxin, G. (2018).** Connaître la valeur alimentaire de ses fourrages 2 . La bonne analyse pour caractériser son fourrage. 1–4.
- [20] **Yaakoub, Fedjeria .(2006).** Evaluation \"in vitro\" de la dégradation des principaux fourrages des zones arides [ressource textuelle, sauf manuscrits].
- [21] **Fierens, C. (2012).** Que veut dire « dire » ? In *Essaim* (Vol. 28, Issue 1, p. 133). <https://doi.org/10.3917/ess.028.0133>
- [22] **Berthiaume, R., Fournier, A., et Tremblay, G. (2015).** Composition chimique des fourrages. *par.* 1–12.
- [23] **Kulikova, V. A., Avdonin, Y. A., Mchedlishvili, B. V., et Bukhter, A. I. (1986).** Treatment of used motor oils by means of polymeric membranes. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*, 22(3), 154–156. <https://doi.org/10.1007/BF00726139>
- [24] **Rihani, N. (1991).** Valeur alimentaire et utilisation des sous-produits des agrumes en alimentation animale. In : Tisseran d J.-L. (Ed.), Alibés X. (Ed.). *Fourrages et Sous-Produits Méditerranéens Zaragoza*, January 1991, 113–117.
- [25] **Baeyens, J. (1967).** Nutrition des plantes de culture.
- [26] <https://www.infometha.org/pour-aller-plus-loin/la-matiere-organique>
- [27] [http://www.fourragesmieux.be/Documents\\_telechargeables/Cuvelier\\_C\\_Hornick\\_J\\_L\\_Beckers\\_Y\\_Froidmont\\_E\\_Knapp\\_E\\_Istasse\\_L\\_et\\_Dufasne\\_I\\_Livret\\_alimentation\\_des\\_VL\\_1\\_Besoins\\_et\\_physio.pdf](http://www.fourragesmieux.be/Documents_telechargeables/Cuvelier_C_Hornick_J_L_Beckers_Y_Froidmont_E_Knapp_E_Istasse_L_et_Dufasne_I_Livret_alimentation_des_VL_1_Besoins_et_physio.pdf)
- [28] <https://www.cours-pharmacie.com/biologie-vegetale/les-parois-vegetales.html>
- [29] **Lecerf, J.-M., et Schlienger, J.-L. (2016).** Chapitre 1 - Constituants des aliments. *Nutrition Préventive et Thérapeutique*, Mm, 3–36.
- [30] <http://www.valbiom.be/files/library/Docs/Biopolymeres/leshemicelluloses1323437241>.
- [31] **WERTZ, Jean Luc. (2009).** Structure de la cellulose et différentes voies de bioraffinage. 6èmes Rencontres de la Biomasse ; Gembloux.
- [32] <https://fr.sawakinome.com/articles/science/difference-between-cellulose-and-hemicellulose.html>
- [33] <https://elearning-deprecated.univannaba.dz/pluginfile.php/37450/modresource/content/1/Chap%2003>.
- [34] **Giger, Sylvie.(2018).** Revue sur les méthodes de dosage de la lignine utilisées en alimentation animale Sylvie Giger. *Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences*, 1985, 34 (1), pp.85-122. ff10.1051/animres : 19850107ff. ffhal-01869884f
- [35] **Berrima, Bisma. (2015).** Etude structurale et chimique de la lignine d'Alfa et sa valorisation comme macromonomère et/ou précurseur du charbon actif. *Génie des procédés. Université de Sfax. Faculté des sciences. Français.* ffNNT : 2015GREAI071ff. fftel-01259480f

- [36] <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/nutrition-flavonoide-15856/>
- [37] **Ghedira K. (2005)**. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* 3(4): 162-169.
- [38] <https://agronomie.info/fr/quelles-differences-entre-acides-phenols-flavonoïdes-tannins/>
- [39] **Moufida, Rira. (2019)**. Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. *Agronomie*. Université Clermont Auvergne. Français. ffNNT : 2019CLFAC065ff. fftel-02861917
- [40] **Cowan, M.M. (1999)**. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. MicrobiolRe*, 12 (4): 564- 582.
- [41] **Guingard J., (1996)**. Biochimie végétale. Lavoisier, Paris, 175-192 p
- [42] **Hemingway, R.W. (1992)**. Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In : *Plant polyphenols : synthesis, properties, significance*. Laks P.E, Hemingway R W New York
- [43] **Haslam, E. (1996)**. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J. Nat Pro*, 59: 205 215. medicinal plants. *Food Chem*, 112: 303–309.
- [44] <https://fr.xcv.wiki/wiki/Flavan-3-ol>
- [45] **Bruneton, J. (1999)**. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème édition, Techniques & Documentation, Paris.
- [46] **Swain T, (1979)**. Tannins and lignings. *Herbivorts, their interaction with secondary plant metabolites* (éd par Rosenthal G.A et jansen D.H), New York : Academic Press, pp.637-682.
- [47] **Faurie, B. (2015)**. Les sucres et l' astringence : effet des polysaccharides esents dans le vin sur les interactions tanins-prot 'eines L ' UNIVERSITÉ DE BORDEAUX.
- [48] **Galvi L., Mwalogo G.J., Wingira B.A.M., Reedl B., Shields J.A. (1995)**. Characterization of wattle- Tannin- Based adhesives for Tanzania. 49 (2).
- [49] **Hadj Salem, J. (2009)**. Extraction , identification , caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique To cite this version : HAL Id : tel-01748769 soutenance et mis à disposition de l.
- [50] **V.PAOLINI , Ph. DORCHIES , H. HOSTE (2010)** Effets des tanins condense et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. Unité Mixte Associée 1225 INRA/ENVT « Physiopathologie des Maladies infectieuses et Parasitaires des Ruminants ». 23, chemin des Capelles, 31076 Toulouse Cedex.
- [51] **P.G, (1984)** Food acquisition and processing as a function of plant chemistry. *Food acquisition in primates* (Ed par chivers D, Woods B.A et Bils A), pp.177-211, New York and London : Plenum Press
- [52] [https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/PalmaresNutriments/Fiche.aspx?doc=oligo-element\\_nu](https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/PalmaresNutriments/Fiche.aspx?doc=oligo-element_nu)
- [53] <https://www.caducee.net/Fiches-techniques/mineraux1.asp>

- [54] **Berchiche, M., Kadi, S. A., Mouhous, A., et Layazid, A. (2015).** Mémoire Thème Valeur nutritive des ressources fourragères.
- [55] [https://abiodoc.docressources.fr/index.php?lvl=notice\\_display&id=3653](https://abiodoc.docressources.fr/index.php?lvl=notice_display&id=3653)
- [56] **J. Andrieu, Rene Baumont. (2000).** Digestibilité et ingestibilité du maïs fourrage : Facteurs de variation et prévision. Fourrages, Association Française pour la Production Fourragère, pp.239-252. fhal02690175f
- [57] **Sylvie GIGER D. SAUVANT, J. HERVIEU Michelle DORLEANS. (1986).** Étude de la prévision de la digestibilité des rations mixtes distribuées à des chèvres laitières par ses caractéristiques analytiques.
- [58] **Léda Villeneuve. (2015).** L'analyse de fourrage : un outil de travail. Une version intégrale plus complète que ce que vous avez lu dans l'Édition Automne. Québec.
- [59] **J.C.Emilie,P.Barre,R .Delagarde, V.Niderkorn,S.Novak.(2017).** Les arbres, une ressource fourragère au pâturage pour les bovins laitiers
- [60] **Zembri-Zimri Nacima.(2015).** Valeur nutritive des ressources fourragères utilisées en Algérie
- [61] **Bouazza.Lyas.(2014).** Etude de la valeur nutritive de légumineuses arbustives du genre *Acacia*. Effets spécifiques de leurs hautes teneurs en tannins condensés sur la méthanogénèse ruminale d'ovins.
- [62] **Boubaker A., Kayouli C., Buldgen A. (2004).** Composition chimique et teneur en composés phénoliques des espèces arbustives du Nord-Ouest de la Tunisie. In : Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.). Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens . Zaragoza : CIHEAM. p. 315-317 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 62)



