

République Algérienne Démocratique et Populaire

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ MENTOURI CONSTANTINE
FACULTÉ DES SCIENCES**

DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

N° d'ordre : 116/MAG/2006

N° de série : 008/SN/2006

Mémoire

**Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister en : biochimie et
microbiologie appliquées.**

PAR : RIRA MOUFIDA

THÈME

**Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique
du microbiote ruminal d'ovins**

Soutenu le : 19/06/2006

Devant le Jury :

Président : BOULAHROUF A

Prof . Univ. Mentouri de Constantine.

Rapporteur : BOUSSEBOUA H

Prof . Univ. Mentouri de Constantine.

Examineurs : MERGHEM R

Prof. Univ. Mentouri de Constantine.

MECHAKRA A

M .C. Univ. Mentouri de Constantine.

ANNEE UNIVERSITAIRE :2005-2006

Remerciements

Je tiens à remercier très particulièrement M. BOUSSEBOUA H. Professeur à l'université Mentouri de Constantine pour avoir accepté d'être mon directeur de thèse, pour la confiance qu'il m'a accordée, pour la réussite de ce mémoire, pour sa rigueur scientifique et sa grande disponibilité.

Je suis très honorée et tiens à remercier les membres du jury :

M. BOULAHROUF A. Professeur à l'université Mentouri de Constantine pour avoir accepté de présider le jury.

Mme. MECHAKRA A et M. MERGHEM R. Maître de conférences et professeur à l'université Mentouri de Constantine pour avoir accepté d'être les examinateurs de ce travail, de le lire et de faire son analyse critique.

Je tiens également à remercier vivement M. ARHAB R. pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail durant ces deux années, pour m'avoir guidée et pour ses encouragements.

Enfin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
1. Généralités sur les facteurs antinutritionnels.....	3
2. Chimie des tanins.....	3
2.1. Définition.....	3
2.2. Classification.....	5
2.2.1 Les tanins hydrolysables.....	5
2.2.2 Les tanins condensés.....	5
2.3. Propriétés des tanins.....	6
2.4. Interaction des tanins avec les macromolécules.....	6
2.4.1 Les glucides.....	6
2.4.2 Les protéines.....	7
2.4.3. Les polymères synthétiques.....	8
3. Présence des tanins chez les végétaux.....	8
4. Localisation des tanins dans les différents tissus des plantes.....	9
5. Variation de la concentration des tanins.....	10
6. Biosynthèse des tanins.....	12
6.1. Voie du shikimate.....	12
6.2. La voie de l'acétate malonate.....	12
7. Fonctions naturelles des tanins chez les végétaux.....	12
8. Les tanins dans la nutrition animale.....	14
8.1. Effet toxique et antinutritionnel.....	14
8.1.1. Effets des tanins sur l'ingestion et l'appétit de l'animal.....	15
8.1.2. Effets sur la digestibilité.....	15
8.1.2.1. Digestibilité des glucides.....	15
8.1.2.2. Digestibilité des protéines.....	16

8.1.3. Toxicité au microbiote digestif.....	17
8.1.4. Effets sur l'animal hôte.....	19
8.2. Effets bénéfiques.....	19
9. Adaptation des animaux aux tanins.....	21
10. Mécanisme de détannification.....	22
10.1. Le stockage.....	22
10.2. Le séchage.....	23
10.3. Produits chimiques.....	23
10.4. Traitement biologique.....	24
10.5. L'incorporation du polyéthylène glycol (PEG).....	24

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	27
2. Matériel animal.....	27
3. Analyses phytochimiques	27
3.1.Préparation des extraits.....	27
3.2. Réaction de révélation des tanins.....	29
3.3. Réaction de révélation des saponines.....	29
4. Analyses chimiques.....	29
4.1. Détermination de la matière sèche.....	29
4.2. Détermination de la matière organique et minérale.....	29
4.3. Détermination des composés phénoliques.....	29
4.3.1. Extraction.....	29
4.3.2. Dosage des phénols totaux	30
4.3.3. Dosage des tanins totaux.....	30
4.3.4. Dosage des tanins condensés.....	30
4.3.5 Précipitation des protéines.....	30
4.3.5.1. Extraction.....	30
4.3.5.2. Méthode de la diffusion radial.....	31
5. Fermentation <i>in vitro</i> des substrats selon le procédé de la production de gaz.....	31

5.1. Technique de production de gaz <i>in vitro</i>	31
5.2. Description du système de fermentation.....	31
5.3. Source d' <i>inoculum</i>	32
5.4. Préparation de l' <i>inoculum</i>	32
5.5. Inoculation.....	32
5.6. Incubation.....	33
5.7. Détermination de la digestibilité réelle des substrats.....	33
5.7.1. Digestibilité de la matière sèche.....	33
5.7.2. Digestibilité de la matière organique.....	34
5.7.3. Estimation de la production de la biomasse microbienne.....	34
5.7.4. Détermination du facteur de partition.....	34
6. Analyse statistique.....	34

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Composition phytochimique.....	37
2. Composition chimique.....	37
2.1. La matière sèche.....	39
2.2. La matière organique.....	39
2.3. La matière minérale.....	40
2.4. Les composés phénoliques.....	40
3. Cinétique de production de gaz <i>in vitro</i>	45
3.1. Volume total de la production de gaz <i>in vitro</i>	45
3.2. Les paramètres de la production de gaz <i>in vitro</i>	46
3.2.1. Production de gaz à partir de la fraction soluble	46
3.2.2. Production de gaz à partir de la fraction insoluble.....	48
3.2.3. Vitesse de la production de gaz à partir de la fraction insoluble.....	50
3.3. Effet du PEG sur le volume total de la production de gaz <i>in vitro</i>	50
3.4. Effet du PEG sur les paramètres de la production de gaz <i>in vitro</i>	53
4. Digestibilité de la matière sèche.....	53
5. Digestibilité de la matière organique.....	55

6. Production de biomasse microbienne.....	56
7. Le facteur de partition.....	58
Discussion et conclusion générale.....	60
Références bibliographiques.....	63
Annexes.....	80

Liste des figures et des tableaux

Figure 1 : Classification des tanins.

Figure 2 : La voie de shikimate.

Figure 3 : La voie de l'acetate malonate.

Figure 4 : Photos des plantes.

Figure 5 : Cinétique de production de gaz des différents substrats en présence et en absence de PEG.

Figure 6 : Histogrammes représentatifs de la DMS, DMO, BMM et PF.

Tableau 1 : Facteurs antinutritionnels présents dans les feuilles d'arbres et d'arbustes couramment utilisés dans l'alimentation animale.

Tableau 2 : Exemples des effets antinutritionnels des tanins chez certaines plantes fourragères.

Tableau 3 : Description botanique des plantes.

Tableau 4 : Analyse phytochimique des différents fourrages.

Tableau 5 : Composition chimique des fourrages natifs des zones arides.

Tableau 6 : Teneur en composés phénoliques des différents fourrages.

Tableau 7 : Effet du PEG sur la production de gaz (ml/200 mg de MS) et sur ces paramètres caractéristiques.

Tableau 8 : Effet du polyéthylène glycol sur la digestibilité de la matière sèche (DMS), la digestibilité de la matière organique (DMO), la biomasse microbienne (BMM), et le facteur de partition (PF).

Liste des figures et des tableaux

Figure 1 : Classification des tanins.

Figure 2 : La voie de shikimate.

Figure 3 : La voie de l'acétate malonate.

Figure 4 : Photos des plantes.

Figure 5 : Cinétique de production de gaz des différents substrats en présence et en absence de PEG.

Figure 6 : Histogrammes représentatifs de la DMS, DMO, BMM et PF.

Tableau 1 : Facteurs antinutritionnels présents dans les feuilles d'arbres et d'arbustes couramment utilisés dans l'alimentation animale.

Tableau 2 : Exemples des effets antinutritionnels des tanins chez certaines plantes fourragères.

Tableau 3 : Description botanique des plantes.

Tableau 4 : Analyse phytochimique des différents fourrages.

Tableau 5 : Composition chimique des fourrages natifs des zones arides.

Tableau 6 : Teneur en composés phénoliques des différents fourrages.

Tableau 7 : Effet du PEG sur la production de gaz et sur ces paramètres caractéristiques.

Tableau 8 : Effet du polyéthylène glycol sur la digestibilité de la matière sèche (DMS), la digestibilité de la matière organique (DMO), la biomasse microbienne (BMM), et le facteur de partition (PF).

Introduction

L'élevage de ruminants constitue un réel enjeu en matière de développement économique et social de notre pays. La contrainte majeure et pénalisante de la production animale dans les pays en voie de développement est le manque de quantité et la fluctuation de la qualité des ressources alimentaires, cette situation s'étendant sur toute l'année. La production animale en Algérie est confrontée à des problèmes techniques, économiques et environnementaux, qui pourraient être partiellement résolus par l'incorporation, dans l'alimentation du bétail, de nouvelles plantes fort répandues et insuffisamment exploitées. Dans les régions arides et semi-arides d'Algérie, les ressources alimentaires animales intègrent souvent les graminées et les dicotylédones (légumineuses en particulier). En effet, et en raison de nombreuses vertus qu'elles présentent : profond enracinement, résistance à la chaleur, à la sécheresse, à la salinité et aux coupures répétées, de nombreuses espèces conservent leur fraîcheur pendant une bonne partie de l'année. Ces plantes vivaces sont traditionnellement utilisées comme source d'aliments pour le bétail, particulièrement durant la longue saison sèche où la qualité et la quantité des fourrages ne permettent pas une croissance soutenue. Ces régions se distinguent également par la prédominance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) qui génère annuellement des quantités considérables de sous-produits, fréquemment introduits dans les rations du bétail. Malheureusement, ces végétaux contiennent généralement un taux élevé de composés phénoliques, notamment les tanins, qui ont des propriétés antinutritionnelles, susceptibles de limiter leur potentiel nutritif. A l'heure actuelle, peu d'informations sont disponibles sur le devenir des tanins dans le rumen des ovins mais leur intérêt est de plus en plus reconnu. C'est pourquoi il semble important d'analyser leur taux dans les végétaux susceptibles d'être incorporés dans les rations alimentaires animales, afin d'obtenir une estimation de leur effet inhibiteur ou autre sur les activités du microbiote ruminal.

En raison de l'importance quantitative de ces ressources naturelles peu conventionnelles et compte tenu de leurs teneurs en composés phénoliques et en tanins, nous avons tenté d'étudier l'effet de ces composés sur les aptitudes fermentaires du microbiote ruminal d'ovins, à la fois par l'utilisation d'un sous produit issu de la phoeniciculture (palmes sèches) et de deux plantes caractéristiques de ces régions : *Aristida plumosa* et *Astragalus gombiformis*, comparativement au foin de vesce-avoine retenu comme substrat standard de référence. Pour cela, nous avons essayé de quantifier le taux de tanins et de composés phénoliques dans ces fourrages, d'évaluer leur activité biologique vis à vis du microbiote ruminal et au delà, sur la digestibilité et la disponibilité des nutriments. L'étude est menée *in vitro* par la technique des gaz fermentaires en présence et en absence d'un agent chélateur des tanins qui est le polyéthylène glycol.

Synthèse bibliographique

1. Généralités sur les facteurs antinutritionnels

Les facteurs antinutritionnels sont des substances naturellement présentes dans les plantes, on leur reconnaît la propriété de diminuer la qualité nutritionnelle des aliments. Il existe une très grande diversité de facteurs antinutritionnels végétaux, appelés également facteurs allelochimiques (5). Cette diversité peut être expliquée par l'existence d'une différence caractéristique entre le métabolisme animal et végétal. Les végétaux sont, en effet, caractérisés par le fait qu'ils possèdent des voies métaboliques qui n'existent pas chez les animaux et qui sont dites, pour cette raison, secondaires. Ces voies métaboliques secondaires, donc exclusives aux plantes, permettent la biosynthèse d'une large variété de métabolites secondaires qui, en dépit de leur énorme diversité, sont groupés dans les catégories suivantes : alcaloïdes, glycosides, terpénoïdes et polyphénols. Comme leur nom l'indique, ces composés ne sont pas impliqués dans les réactions fondamentales du métabolisme végétal (croissance, développement et reproduction) mais ils peuvent être utiles à la plante dans son ensemble. En effet, ces substances sont responsables des différentes couleurs, saveurs et odeurs des plantes. Ils sont également impliqués dans les mécanismes de défense et de résistance végétales.

Les métabolites secondaires sont plus complexes que les métabolites primaires dont ils dérivent. Leur synthèse s'effectue dans des cellules spéciales, durant des périodes déterminées du développement de la plante. Ils sont caractérisés par des structures carbonées uniques qui peuvent être différemment substituées par des fonctions alcooliques, phénoliques ou carboxyliques. Il en résulte l'existence dans chaque groupe de plusieurs centaines de dérivés, capables chacun d'un effet antinutritionnel différent.

Il existe en général trois types de facteurs antinutritionnels : protéiques, glucidiques et phénoliques (Tableau. 1).

Sur le plan nutritionnel, les composés phénoliques jouent un rôle très important, ils sont essentiellement représentés par la classe des flavonoïdes dont les tanins dérivent directement. La présence des tanins dans la plupart des plantes fourragères limite leur utilisation par les ruminants et diminue, par conséquent, la productivité animale. C'est pour cette raison que notre étude portera seulement sur ce groupe.

Tableau 1 : Facteurs antinutritionnels présents dans les feuilles d'arbres et d'arbustes couramment utilisés dans l'alimentation animale.

Substances antinutritionnelles	Espèces
Acides aminés non protéiques	
Mimosine	<i>Leucaena leucocephala</i>
Indospecine	<i>Indigofera spicta</i>
Glycosides	
a. Cyanogènes	<i>Acacia giraffe</i> <i>A. cunninghamii</i> <i>A. sieberiana</i> <i>Barteria fistulosa</i> <i>Manihot esculenta</i>
b. Saponines	<i>Albizia stipulata</i> <i>Bassia latifolia</i> <i>Sesbania sesban</i>
phytohemagglutinines	<i>Bauhinia purpurea</i> <i>Ricinus communis</i> <i>Robinia pseudoacacia</i>
Composés phénoliques	
a. Tanins	Toutes les plantes vasculaires
b. lignines	Toutes les plantes vasculaires
Alcaloïdes	
N-methyl-B-phen éthyle amine	<i>Acacia berlandieri</i>
Sesbanine	<i>Sesbania vesicaria</i> <i>S. punicea</i>
Triterpènes	
Azadirachtine	<i>Azadirachta indica</i>
Limonine	<i>Azadirachta indica</i> <i>Acacia aneura</i>
Oxalate	<i>Acacia aneura</i>

2. Chimie des tanins

2.1. Définition

Le mot tanin fait référence à un large groupe de composés (poly) phénoliques naturellement produits par les plantes. Ces composés, solubles dans l'eau, se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables. Ce sont des molécules assez volumineuses avec un poids moléculaire généralement compris entre 500 et 3000 Da (57, 65, 83, 93, 97, 139).

2.2 Classification

Du point de vue structural, les tanins constituent un groupe chimique hétérogène, avec des structures moléculaires variées. En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (65).

2.2.1. Les tanins hydrolysables

Ce sont des hétéropolymères possédant un noyau central constitué d'un polyol. Il s'agit souvent d'un D-glucose sur lequel les groupements hydroxyles sont, en partie ou en totalité, estérifiés avec l'acide gallique (cas des gallotanins) ou un dimère de l'acide gallique qui est l'acide hexahydroxydiphénique (cas des ellagitannins) (Figure.1). Comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques (75).

Quelques auteurs définissent deux classes supplémentaires de tanins hydrolysables : les taragotanins (l'acide gallique et l'acide quinique comme noyau) et les caffétanins (intégrant l'acide caféique et l'acide quinique) (34).

2.2.2. Les tanins condensés

Les tanins condensés sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités flavanoïdes. Les monomères précurseurs de ces molécules sont les flavan-3-ols (catéchine) et/ou les flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines), liés entre eux par des liaisons carbone-carbone très résistantes à l'hydrolyse (Figure.1). Les tanins condensés sont appelés proanthocyanidines parce que leur oxydation en milieu alcool-acide entraîne la formation de pigments anthocyanidiques tels que les cyanidines (à partir de procyanidines) et les delphinidines

(à partir de prodelphinidines). Les anthocyanidines sont responsables de la coloration variée des fleurs, des feuilles et des fruits en rose, rouge, mauve, violet et bleu. Leur présence dans les plantes est, de ce fait, détectable à l'œil nu (34, 58, 75). Plus récemment, un troisième groupe de tanins (phlorotanins) a été isolé de diverses algues brunes (*Eisenia*, *Fucus...*). Il est exclusivement constitué d'unités phloroglucinols liées de manière oxydative par des liaisons C-C et/ou C-O. Le flucofurorckol en est un exemple typique (Figure.1).

2.3. Propriétés des tanins

Les tanins étaient anciennement utilisés dans l'industrie du cuir (tannage) car en se liant aux protéines constitutives des peaux d'animaux, les tanins rendent le cuir solide, imputrescible et résistant aux microorganismes. Ils sont généralement non cristallisables, solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone et peu ou pas soluble dans l'éther. Ils précipitent en présence de protéines (gélatine et albumine), d'alcaloïdes et de certains colorants.

Les tanins forment avec les métaux lourds, et notamment les sels de fer, des précipités de couleur très foncée : noirs, bruns, bleus sombres, utilisés pour cette raison dans la fabrication de certaines encres. Ils sont également utilisés comme coagulants dans le caoutchouc.

Les propriétés biologiques des tanins sont principalement liées à leur capacité à former des complexes avec les macromolécules, en particulier les protéines. C'est pourquoi ils sont utilisés dans le traitement des aliments et la clarification des vins, des bières et des jus de fruits . Ils font également partie des formulations des agents de conservation du bois.

En solutions alcooliques, ils donnent avec le chlorure ferrique, très dilué, une coloration bleue (tanins galliques) ou verte (tanins catéchiqes).

Certains tanins, comme ceux de la noix de galle, sont hydrolysables par les acides ou par la tannase.

2.4. Interaction des tanins avec les macromolécules

En plus de leur affinité pour les protéines, les tanins peuvent interagir avec de nombreux types de molécules qui incluent : les glucides, les enzymes et les polymères synthétiques.

2.4.1. Les glucides

Parmi les glucides, l'amidon et la cellulose se caractérisent par leur habilité à interagir avec les tanins, spécialement avec les proanthocyanidines.

- Ø Interaction amidon-tanins : l'amidon a la capacité de former des cavités hydrophobes qui permettent l'inclusion des tanins et de beaucoup d'autres molécules apparentées. Parmi toutes les molécules qui se lient aux tanins, seul l'amidon a cette caractéristique d'incrustation.
- Ø Interaction cellulose-tanins: la cellulose se caractérise par sa surface qui lui permet de réagir directement avec les groupements phénoliques des tanins avec lesquels elle forme des liaisons hydrogène ou des liaisons covalentes.

Les interactions glucides-tanins sont surtout favorisées par les glucides ayant un haut poids moléculaire, une faible solubilité et une grande flexibilité conformationnelle. Ces interactions sont principalement basées sur les liaisons hydrophobes et les liaisons hydrogène (34, 75).

2.4.2. Les protéines

La capacité des tanins à se lier aux protéines est connue depuis des siècles. Le tannage du cuir est une pratique très ancienne qui montre bien la grande affinité des tanins pour les protéines. Les interactions protéines–tanins sont très spécifiques et provoquent la précipitation des protéines. Elles dépendent, à la fois, de la nature des protéines et des tanins qui doivent, tous les deux, disposer de quelques caractéristiques.

- Ø Caractéristiques des protéines : pour se complexer fortement aux tanins les protéines doivent avoir un haut poids moléculaire, une structure tertiaire ouverte et flexible et surtout être riches en proline (75, 83).
- Ø Caractéristiques des tanins : les caractéristiques qui favorisent la formation d'une liaison solide sont un haut poids moléculaire et une forte mobilité conformationnelle (75).
- Ø En ce qui concerne les liaisons chimiques impliquées, les interactions protéines- tanins sont principalement basées sur les liaisons hydrogène et hydrophobes. Alors que les liaisons ioniques et les liaisons covalentes sont moins impliquées (34).

Les groupements phénoliques des tanins sont un excellent donneur d'hydrogène. De ce fait, ils forment des liaisons hydrogène solides avec les groupements carboxyles des protéines, c'est pour cette raison que les tanins présentent plus d'affinité pour les protéines que pour l'amidon.

Les liaisons hydrophobes se forment entre les acides aminés hydrophobes (tyrosine, phénylalanine, tryptophane et proline) et les structures aromatiques des composés phénoliques.

Les liaisons covalentes se forment sous des conditions d'oxydation telles que l'auto-oxydation ou l'action d'enzymes oxydantes (polyphénoloxydase et peroxydase) .

Du point de vue nutritionnel, les liaisons covalentes sont très importantes car elles sont plus difficiles à rompre que les autres types de liaisons, à cause de leur nature irréversible (34).

2.4.3. Les polymères synthétiques

De nombreuses études montrent la grande affinité des tanins pour les polymères synthétiques et plus particulièrement pour le polyéthylène glycol (PEG) et le polyvinyl polypyrrolidone (PVPP). C'est pour cette raison que le PEG est employé comme substrat de contrôle pour l'étude des tanins (83, 88).

3. Présence des tanins chez les végétaux

Les tanins sont largement répandus dans le règne végétal, où on les retrouve aussi bien chez les Angiospermes que chez les Gymnospermes. Dans les Angiospermes, les tanins sont plus abondants dans les Dicotylédones que dans les Monocotylédones.

Les plantes riches en tanins se repartissent au sein de nombreuses familles botaniques de Dicotylédones, parmi lesquelles, on peut citer :

- Ø Les *Leguminosae* : *Acacia* sp. (robinier), *Sesbania* sp , *Lotus* sp. (trèfle) *Onobrichis* sp. (sainfoin).
- Ø Les *Anacardiaceae* : *Scinopsis balansae* (quebracho).
- Ø Les *Combretaceae* : *Terminalia chebula* (myrobalan).
- Ø Les *Rhizophoraceae* : *Rhizophora mangle* (manglier).
- Ø Les *Myrtaceae* : *Eucalyptus* sp., *Mirtus* sp (myrte).
- Ø Les *Myristicaceae* : *Myristica fragrans* (muscadier).
- Ø Les *Polinaceae* : *Rumex hymenosepalus* .

Chez la plupart des graminées, les tanins se rencontrent souvent en très faible quantité, parfois même à l'état de trace. Cependant, certaines plantes accumulent dans leurs organes des tanins en très grande quantité, c'est le cas du sorgho, de l'orge, du blé, de la fève et de la féverole.

D'autres plantes sont également riches en tanins telles que : *Quercus* sp. (chêne), *Acer* sp. (érable), *Betula* sp. (bouleau), *Salix caprea* (saule), *Pinus* sp. (pin).

Les monocotylédones sont généralement pauvres en tanins, cependant, la famille du palmier (*Palmae*) fait exception car elle comprend des espèces hautement riches en tanins.

4. Localisation des tanins dans les différents tissus des plantes

Les tanins peuvent se produire dans la quasi totalité des parties de la plante, on les trouve depuis les racines jusqu'aux fruits, en passant par les poils, les tiges, le tronc, les cosses, le bois, les écorces et les feuilles. Ils peuvent se produire dans des cellules individuelles isolées, en groupes ou en chaînes de cellules ce qui est le cas le plus commun. Ces cellules spéciales sont appelées iodoblastes tannifères et sont disséminées dans le parenchyme. Les tanins se localisent également dans des cavités spéciales et parfois dans des vacuoles. Dans les tissus vivants de la plante, ils se trouvent principalement en solution colloïdale dans le suc vacuolaire. Lorsque les cellules vieillissent et perdent leurs contenus protoplasmiques, les tanins sont, par conséquent, absorbés par la paroi cellulaire.

Les tanins se trouvent souvent dans les cellules des glandes et dans les tissus atteints d'une pathologie parasitaire, comme les galles du chêne qui contiennent 30 à 70% de tanins. De ce fait, certaines galles de plantes constituent la meilleure source de tanins. Les jeunes tissus activement croissants des plantes sont également très riches en tanins. Quelques espèces peuvent contenir jusqu'à 50% de tanins dans leurs matières sèches. Cependant, la plus haute concentration de tanins dans les plantes saines et normales se trouve généralement dans les écorces .

Les principaux tissus qui contiennent des tanins sont :

Les tissus du bourgeon : ils sont plus communs dans la partie externe du bourgeon, probablement comme protection contre la congélation ;

Ø Les tissus de la feuille : ils sont plus commun dans l'épiderme supérieur. Cependant, les tanins sont distribués dans tous les tissus des feuilles des plantes vivaces qui possèdent des feuilles persistantes. Ils servent également à réduire l'appétence et donc à protéger la plante des prédateurs ;

- Ø Les tissus des racines : ils sont plus communs dans l'hypoderme. Ils agissent probablement comme une barrière chimique contre la pénétration et la colonisation des racines par les plantes pathogènes ;
- Ø Les tissus des graines : ils sont principalement localisés dans la couche située entre le tégument externe et la couche de l'aleurone. Leur action est associée au maintien de l'état de latence de la plante. Ils possèdent des propriétés allélopatiques et bactéricides ;
- Ø Les tissus de la tige : ils se trouvent souvent dans les surfaces actives de la croissance des arbres, telles que le phloème secondaire, le xylème et la couche située entre l'épiderme et le cortex. Les tanins peuvent avoir un rôle dans la régulation de la croissance de ces tissus ;
- Ø Ils se trouvent également dans le cœur du bois des conifères et peuvent ainsi contribuer à la durabilité naturelle du bois en inhibant l'activité microbienne. Ces substances, localisées dans les différents sites, n'interfèrent pas avec le métabolisme de la plante. Ils ne peuvent avoir d'effets métaboliques qu'après la dégénérescence cellulaire et la mort de la plante.

5. Variation de la teneur en tanins

Le taux de tanins dans une plante dépend de deux facteurs principaux : le stade de développement végétatif et les conditions environnementales. Leur concentration varie considérablement entre les différentes espèces végétales et au sein de la même espèce où elle dépend du degré de maturité, de l'âge des feuilles, des fleurs et de la saison.

La teneur en tanins augmente corrélativement avec la maturité, ainsi dans le grand trèfle (*Lotus uliginosus*, syn. *L. pedunculatus*), la teneur des feuilles en tanins augmente avec l'augmentation de la maturité (127). D'autres auteurs ont signalé que le taux de tanins est plus élevé dans la saison sèche par rapport au reste l'année.

Les plantes peuvent produire des substances phénoliques (tannoïdes) en réponse à un stress environnemental, suscité par différents facteurs : déficience en éléments nutritifs, sécheresse, surchauffage (températures élevées) et l'intensité lumineuse (75). Ainsi, la concentration des tanins condensés augmente dans les feuilles d'*Eucalyptus* qui se développe sous une déficience nutritive ou sous une forte lumière (78). De même que le taux de tanins condensés dans le grand trèfle est supérieur quand il est cultivé dans un sol acide de basse fertilité par rapport à un sol fertile (24).

6. Biosynthèse des tanins

Parmi toutes les substances secondaires synthétisées par les plantes, les tanins constituent l'un des plus importants groupes de produits phénoliques naturels, environ 2% du carbone photosynthétique sont convertis en flavonoïdes ou en substances apparentées telles que les tanins. La biosynthèse des tanins commence par la condensation de deux voies métaboliques : la voie du shikimate et la voie de l'acétate malonate

6.1. Voie du shikimate

Tous les composés phénoliques sont formés via la voie du shikimate, appelée également la voie de phénylpropanoïde. Cette même voie conduit à la formation d'autres composés phénoliques tels que : les isoflavones, les coumarines, la lignine et les acides aminés aromatiques (tryptophane, phénylalanine et tyrosine).

La synthèse du noyau aromatique est achevée par la voie du shikimate, elle se fait par la condensation de l'acide phosphoenol pyruvique (PEP) et de l'érythrose-4-phosphate. Après une série de réactions successives, on aboutit l'acide shikimique (Figure. 2).

6.2. La voie de l'acétate malonate

Les systèmes aromatiques sont également formés par la condensation répétée d'unités acétate. La réaction entre les trois molécules (2 malonyl CoA et une molécule d'acétyl CoA) donne une chaîne latérale qui se cyclise pour donner naissance au noyau A Enfin, les deux voies (shikimate et acétate malonate) se condensent pour donner naissance aux différents types de flavonoïdes (Figure. 3).

7. Fonctions naturelles des tanins chez les végétaux

Les tanins, abondamment distribués dans les plantes, n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance et reproduction). Ces métabolites secondaires sont plutôt impliqués dans les mécanismes de défense, ils protègent la plante contre les attaques de microorganismes pathogènes (champignons et bactéries) et des prédateurs herbivores (animaux ou insectes folivores), ils présentent, de ce fait, un avantage agronomique très important (75).

Les tanins préviennent la dégradation rapide des plantes dans le sol, préservant ainsi un stock d'éléments nutritifs pour les prochaines périodes de végétations.

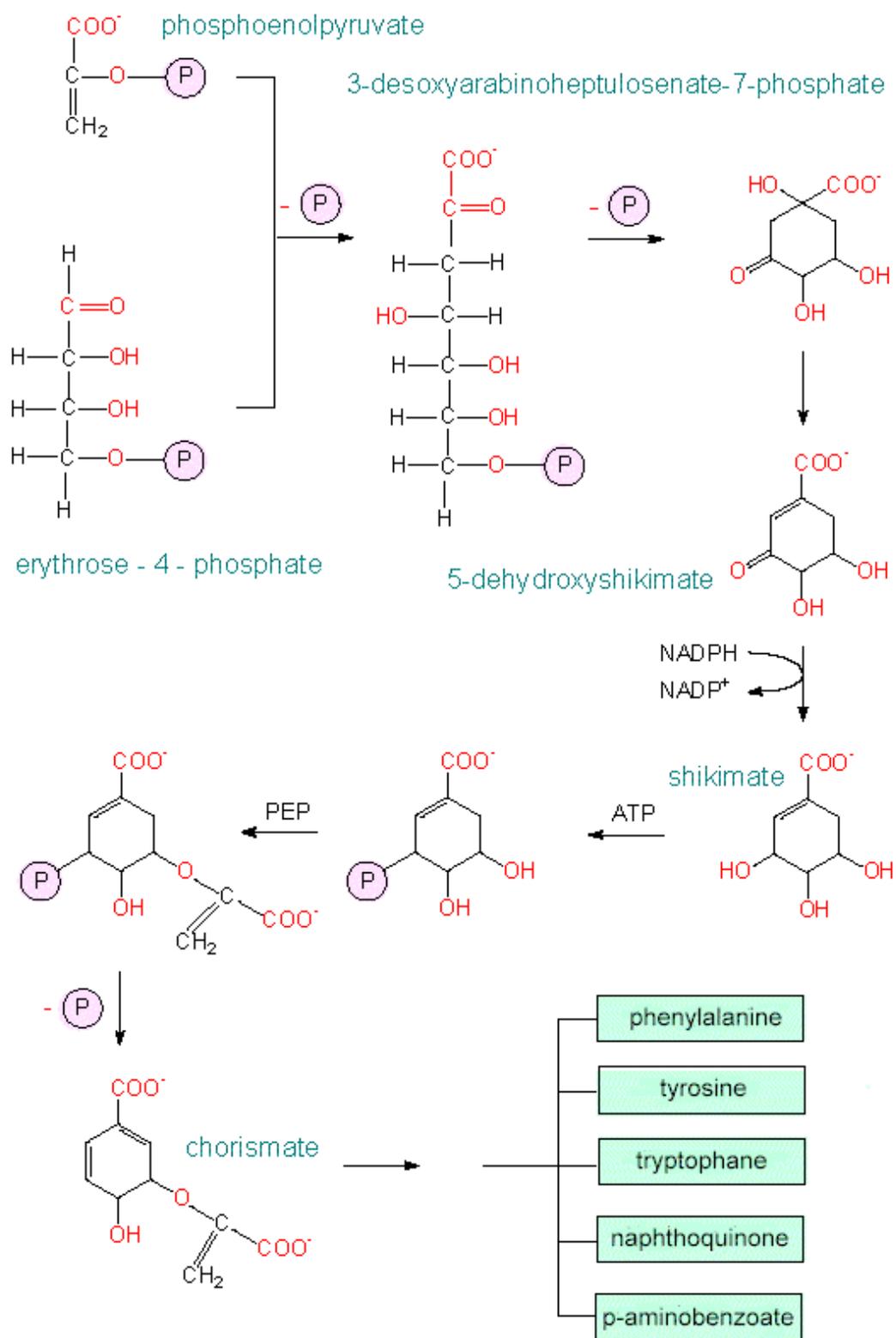


Figure 2 : La voie du shikimate

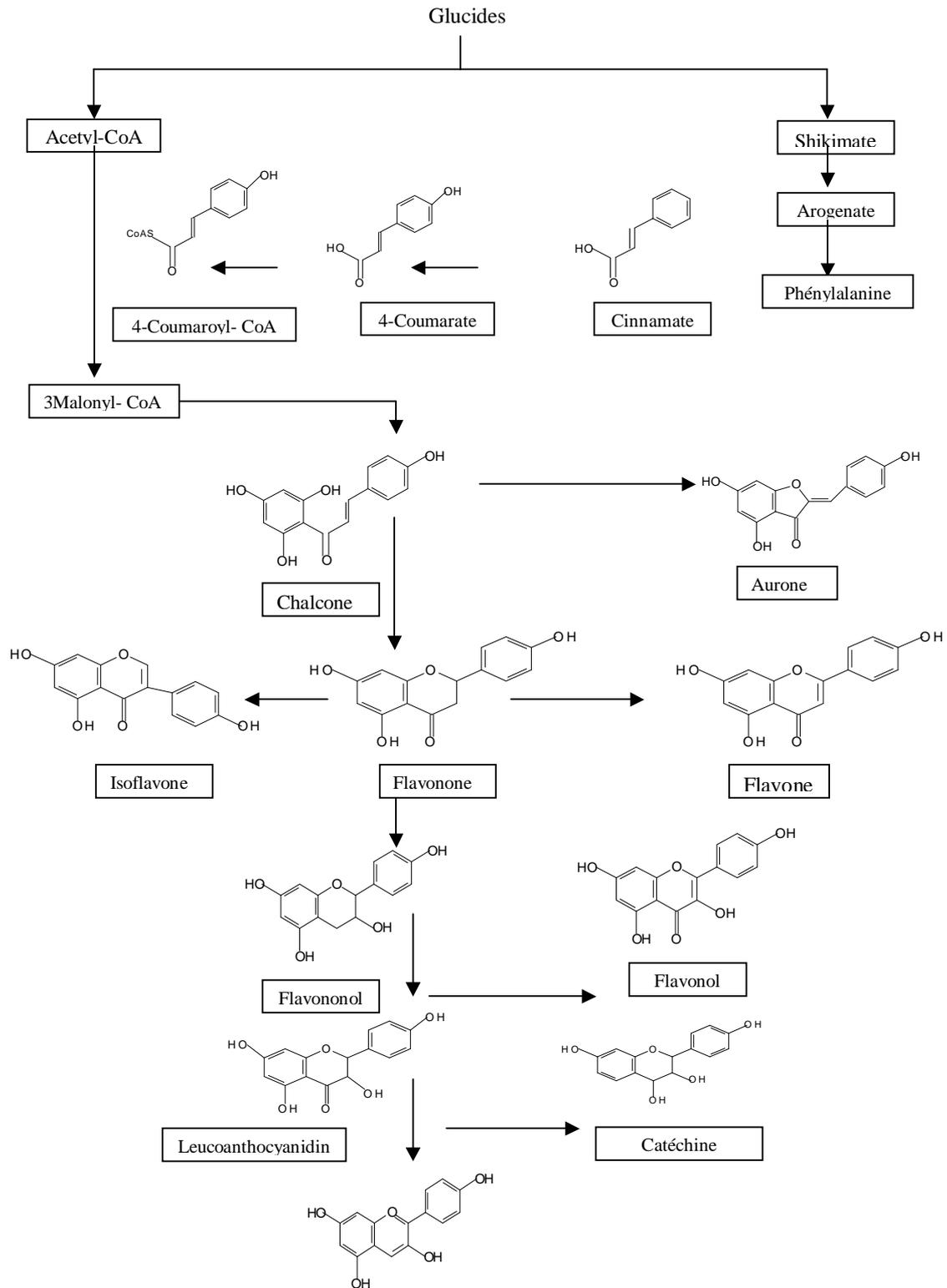


Figure 4: Condensation entre la voie de l'acétate malonate et du shikimate

Les tanins jouent aussi un rôle physiologique comme facteurs régulateurs de la croissance des végétaux, leur présence dans les cellules et l'augmentation de leur concentration en présence de lumière procurent une fonction protectrice contre le stress causé par le soleil.

Comme pour tous les flavonoïdes, la présence de noyaux aromatiques confère aux tanins une fonction antioxydante qui préserve les résines de la dégradation enzymatique et retarde l'auto-oxydation de l'acide ascorbique contenu dans certaines substances végétales.

Les tanins comptent parmi les principaux constituants du bois. Grâce à leur structure hélicoïdale, ils empêchent la dégradation des cellules du bois causée par une déficience en eau.

8. Les tanins dans la nutrition animale

Les arbres, les arbustes et les plantes herbacées constituent la principale source d'aliments pour la plupart des herbivores du monde. Ces fourrages contiennent des taux variés de composés phénoliques (tanins) qui jouent un rôle très important sur le plan organoleptique et nutritionnel. Leurs effets sur les animaux, qui les consomment, varient de bénéfiques à toxiques et ils peuvent même être létaux (83, 97). Ces effets dépendent du type et du taux de tanins, qui tous les deux varient à travers les différentes espèces végétales (34).

8.1. Effet toxique et antinutritionnel

Les effets antinutritionnels et/ou toxiques des tanins sont surtout associés à leur grande affinité à se combiner aux protéines endogènes et exogènes (protéines du tractus digestifs et diététiques), aux polymères (cellulose, hémicelluloses et pectine) et aux éléments minéraux, ralentissant ainsi leur digestion. Les associations protéines-tanins influent divers facteurs, tels que le goût et la valeur nutritive des aliments. En inhibant certaines enzymes, les tanins peuvent avoir des conséquences de destruction nutritionnelle envers les herbivores qui les ingèrent.

Lorsqu'ils sont consommés par les herbivores, les tanins induisent des réponses négatives. Ces réponses peuvent être instantanées comme l'astringence ou tardives liées donc à leurs effets toxiques et antinutritionnels.

La toxicité des tanins se manifeste à trois niveaux : l'ingestion, la digestibilité et le microbiote ruminal. Cette toxicité varie en fonction des tanins ingérés et de la tolérance de l'animal qui, à son tour, dépend de certaines caractéristiques telles que la nature du tractus digestif, le comportement alimentaire, la taille, l'âge et les mécanismes de détoxification (34).

8.1.1. Effets des tanins sur l'ingestion et l'appétit de l'animal

L'action des tanins sur l'ingestion des aliments se produit au niveau de la cavité buccale car les premières interactions entre les tanins et les protéines se déclenchent à ce niveau. En effet, la mastication entraîne la rupture des cellules des tissus de la plante et expose les protéines et le reste des constituants cellulaires à l'action des tanins. Il en résulte un phénomène d'astringence provenant de la formation de complexes entre les tanins et les glycoprotéines salivaires. Ces effets se manifestent du point de vue sensoriel par une sécheresse de la bouche due à la contraction des canaux salivaires (103). Le goût amer, qui en découle, réduit d'une façon considérable la sapidité de l'animal qui se répercute directement sur l'ingestion.

8.1.2. Effets sur la digestibilité

Les tanins (proanthocyanidines) ne sont pas généralement absorbés à travers le tractus digestif des ruminants, ils restent sous forme libre ou liée dans le rumen et diminuent la digestibilité de la matière organique, en particulier celle des protéines et des parois végétales (23, 34, 83).

Au niveau du tractus digestif, ces composés polyphénoliques peuvent réduire le processus d'activation des enzymes et inhiber l'activité des principales enzymes, surtout les protéases digestives en créant des complexes avec les mêmes enzymes (97).

8.1.2.1. Digestibilité des glucides

L'effet antinutritionnel des tanins dans la digestion des glucides est actuellement prouvé. La présence de ces substances dans les fourrages réduit considérablement la digestibilité des fibres (cellulose, hémicelluloses et pectine) et de l'amidon. Cette faible digestibilité est due, en premier lieu, à l'interaction directe des tanins avec ces molécules ou/et à l'inhibition des bactéries ruminales et des enzymes digestives impliquées dans leur dégradation : cellulase, amylase et pectinase. Ainsi, la présence de 30% de *Calliandra* (2-3% de tanins) dans le régime alimentaire des ruminants est associée à une diminution marquée de la population des bactéries cellulolytiques, en particulier *Fibrobacter succinogenes* et *Ruminococcus* Sp. (97). Dans certains cas, la faible digestibilité des fibres peut être le résultat de la formation de complexes cellulose-tanins ou amidon-tanins résistants à la dégradation (75).

8.1.2.2. Digestibilité des protéines

Des études *in vivo* montrent que la digestibilité des protéines est considérablement réduite lorsque les plantes tannifères font partie du régime alimentaire (83). Chez les ruminants, les

tanins peuvent affecter le métabolisme des protéines de différentes manières. Ils peuvent se combiner aux protéines diététiques et former des complexes insolubles, peu accessibles aux enzymes digestives. Les protéases digestives subissent, à leur tour, l'action dépressive des tanins qui les inhibent par la formation de complexes protéines enzymatiques-tanins ou inhibent leur activité biologique par blocage du site actif. Les tanins peuvent également se lier aux mucoprotéines des cellules épithéliales qui revêtent le tube digestif. Cette réactivité altère l'intégrité de la paroi intestinale, augmente les sécrétions gastriques, provoque des problèmes de gastrite, ralentit le transit et engendre la constipation. L'effet des tanins sur le métabolisme protéique mène à une faible fermentation ruminale due au ralentissement de la digestibilité des fractions d'azote, à une concentration basse en urée dans le plasma, à une faible rétention d'azote et à une concentration élevée en azote dans les fèces (34, 58).

En plus de leurs actions sur les protéines et les fibres, les tanins agissent principalement en augmentant le besoin en éléments minéraux, grâce à leur activité complexante vis-à-vis d'ions di et trivalents, ils peuvent diminuer la disponibilité du calcium, du fer, du cuivre....De même, les tanins contribuent à augmenter le besoin en vitamines en abaissant les réserves hépatiques de vitamine A et la disponibilité digestive de la vitamine B₁₂. Ces substances, en modifiant l'activité trophique du tube digestif, contribuent à augmenter les pertes endogènes de protéines, de vitamines et de minéraux (23).

8.1.3. Toxicité au microbiote ruminal

Les polyphénols, en particulier les tanins condensés, exercent une action inhibitrice sur la croissance des microorganismes du rumen. Contrairement aux tanins hydrolysables, les tanins condensés sont très difficiles à dégrader dans les conditions anaérobies qui règnent dans cet écosystème. La toxicité des tanins vis à vis des microorganismes du rumen est décrite pour plusieurs espèces bactériennes, telles que *Streptococcus bovis*, *Butyvirbio fibrosolvans*, *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola*, et *Ruminobacter amylophilis*.

Trois mécanismes de toxicité ont été identifiés :

- Ø Inhibition des enzymes et privation des substrats : les tanins ont la capacité d'inhiber les enzymes endocellulaires et extracellulaires sécrétées par les bactéries. Ainsi, l'activité de l'endoglucanase de *Fibrobacter succinogenes* est inhibée *in vitro* par les tanins condensés de *Lotus corniculatus* (97). En se liant aux protéases extracellulaires, les tanins peuvent réduire la croissance des bactéries protéolytiques, en particulier *Ruminobacter amylophilis*, *Streptococcus bovis* et *Butyvirbio fibrosolvans* (97).

- Ø Action sur les membranes : les tanins agissent sur les membranes cellulaires des bactéries. Leur effet antimicrobien peut être dû à leur liaison aux protéines des pores de la paroi cellulaire, altérant de ce fait les mécanismes de transport (glucose, acides aminés, ammoniac). Les tanins de faible poids moléculaire peuvent pénétrer à travers les pores de la paroi cellulaire externe et inactiver les perméases du périplasme impliquées dans le transport des acides aminés et des glucides (75).
- Ø Action sur les ions : les tanins se lient aux ions et perturbent l'absorption de ces oligo-éléments indispensables à la croissance des bactéries. En se combinant aux ions de calcium impliqués dans la structure des bactéries à Gram négatif, les tanins affectent la perméabilité de la paroi bactérienne (75).

En plus de ces effets majeurs, les tanins induisent des changements dans la physiologie de plusieurs espèces de bactéries ruminales. Ils prolongent la phase de latence de certaines bactéries comme *Streptococcus gallolyticus* dont la croissance sur un milieu liquide, en présence de tanins, se caractérise par une longue phase de latence et une faible vitesse de croissance (133).

8.1.4. Effets sur l'animal hôte

Les effets fondamentaux des tanins sur l'animal hôte incluent la diminution des fonctions ruminales et de l'ingestion. Par conséquent, le processus digestif est ralenti, l'animal perd son appétit et devient léthargique. Les fèces deviennent très foncés (noirs), secs et durs. L'animal boit de grands volumes d'eau, son poids vif, sa production de laine et sa vitesse de reproduction chutent (Tableau. 2).

La consommation excessive de tanins (5-9%) engendre des symptômes de toxicité très graves. Les tanins hydrolysables sont les plus dangereux pour les ruminants parce que le métabolisme microbien et la digestion gastrique les convertissent en métabolites de faibles poids moléculaires, absorbables et fortement toxiques car ils passent facilement dans la circulation sanguine (97). Les lésions majeures associées à l'empoisonnement par les tanins hydrolysables sont des gastro-entérites hémorragiques, des nécroses hépatiques et une altération de la rate et des reins qui peut provoquer la mort de l'animal (taux de tanins hydrolysables supérieur à 20%). Ils peuvent être à l'origine de nombreux problèmes de reproduction car ils déclenchent des avortements et peuvent même provoquer la stérilité chez l'animal. Quant aux tanins condensés, leur toxicité est difficile à séparer de leurs effets dépressifs sur la digestion des protéines et des glucides.

Tableau 2 : Exemples des effets antinutritionnels des tanins dans certaines plantes fourragères.

Plantes fourragères	Tanins prédominants	Animal	Effet nutritionnel
<i>Acacia aneura</i>	TC	Mouton	Réduction de la digestibilité de l'azote, de l'absorption du soufre, de la croissance et du rendement en laine.
<i>A. cyanophylla</i>	TC	Mouton	Réduction de l'ingestion, digestibilité négative de l'azote et perte de poids.
<i>A. nilotica</i> (cosses)	TC	Mouton	Faible taux de croissance, diminution de la digestibilité de l'azote et des NDF.
<i>A. sieberianab</i>	TH	Mouton	Faible taux de croissance, diminution de la digestibilité de l'azote et des NDF.
<i>Albizia chinensis</i>	TC	Chèvre	Réduction de la digestibilité <i>in sacco</i> de l'azote.
<i>Manihot esculenta</i>	TC	Mouton	Inhibition de la digestibilité <i>in vitro</i> .
<i>Prosopis cineraria</i>	TC	Mouton	Réduction de l'ingestion des protéines, de la digestibilité, de la croissance, du rendement en laine et de l'absorption du fer.
<i>Terminalia oblongata</i>	TH	Mouton	Réduction de l'ingestion accompagnée d'une toxicité.
<i>Ziziphus nummularia</i>	TC	Mouton	Diminution de l'ingestion des protéines et de la digestibilité de la matière sèche, faible rendement en laine et perte de poids.

Les tanins condensés ne sont pas absorbés à travers le tractus digestif. Ils peuvent endommager la muqueuse gastro-intestinale, en diminuant l'absorption des éléments nutritifs. Ils peuvent aussi réduire l'absorption des acides aminés essentiels (23).

8.2. Effets bénéfiques

Les tanins peuvent exercer des effets nutritionnels bénéfiques chez les ruminants qui en consomment des taux modérés. Plusieurs études suggèrent que la présence des tanins condensés à un seuil inférieur à 6% est avantageuse et induit une amélioration des performances animales : croissance et rendement en viande et en lait (25, 34). L'affinité qu'ont les tanins pour les protéines est, elle même, à l'origine de leurs effets positifs. En se combinant à ces macromolécules, les tanins les protègent contre une dégradation trop intense dans le rumen, le pH de ce dernier (5-7) favorise la formation de complexes protéines-tanins inattaquables par la microbiote ruminal (23, 34, 83). Ces complexes se dissocient plus loin dans la phase post-ruminale au contact des sécrétions gastriques (pH 2-3) et pancréatiques (pH \approx 8) qui favorisent la dissociation de ces complexes et permettent ainsi la dégradation des protéines et la libération des acides aminés absorbés, par la suite, dans le duodénum. Ainsi, la précipitation des protéines par les tanins protège les microorganismes du rumen de leurs effets délétères. Elle permet également le recyclage de l'urée par la diminution de la concentration d'ammoniac dans le rumen (34).

La précipitation des protéines par les tanins participe également à l'activité antidiarrhéique des tanins, en protégeant les organes digestifs des attaques nuisibles. Elle contribue aussi à l'action antihémorragique des plantes riches en tanins. La présence naturelle des tanins dans les différents pâturages protège les herbivores contre les ballonnements (83). En concentrations relativement faibles, les tanins stimulent l'activité des enzymes digestives et inhibent la mutagénéité de plusieurs agents cancérigènes. Cette action est, en partie, attribuée à leur capacité à former des liaisons avec ces composés, ce mécanisme d'inhibition dépend du type de mutagènes. Une forte inhibition de la progression des tumeurs a été démontrée expérimentalement pour plusieurs types de tanins sur deux étapes de la cancérogenèse (119).

Plusieurs tanins hydrolysables oligomériques, et leurs composés apparentés, révèlent une forte activité antitumorale qui peut être due à l'amélioration des réponses immunitaires de l'animal hôte, à travers leur action sur les cellules de la tumeur et sur les immunocytes. Les proanthocyanidines, sous leurs deux formes libre et liée aux protéines, possèdent des groupements phénoliques qui diminuent la sensibilité des cellules saines aux agents toxiques (83).

Les tanins des légumineuses peuvent améliorer la qualité des fourrages ensilés en empêchant la dégradation excessive des protéines diététiques. Ils jouent aussi un rôle écologique car ils réduisent la production de méthane. Ils forment aussi des précipités avec les ions métalliques, réduisant ainsi leur toxicité (83).

Les tanins condensés ont un effet positif sur la capacité de l'animal à lutter contre les strongyloses gastro-intestinales mais aussi sur sa capacité à maintenir un niveau de production malgré la présence de parasite. Les différentes études réalisées chez les caprins et les ovins mettent en évidence une efficacité relative des tanins condensés (10 à 12% de légumineuses) pour lutter contre le parasitisme gastro-intestinal. Ils engendrent une réduction des œufs du parasite dans les fèces, ce qui permet une moindre contamination des pâturages et donc évite une infestation massive des ruminants. Ceci conduit à une meilleure croissance, un meilleur gain de poids et une augmentation dans la production de laine (23, 83).

9. Adaptation des animaux aux tanins

Les animaux qui se nourrissent de plantes riches en tanins semblent développer des mécanismes défensifs vis à vis de ces substances. Chez quelques herbivores, les protéines salivaires riches en proline (PRPs) constituent la première ligne de défense contre les tanins diététiques (126). Ces protéines, appelées également mucines, sont très riches en proline. C'est pourquoi elles ont une très grande affinité pour les tanins, auxquels elles se combinent pour prévenir la précipitation des protéines diététiques. Les PRPs procurent une double protection, aussi bien sur le plan qualitatif que quantitatif. En désactivant les tanins, elles réduisent les pertes fécales d'azote et permettent donc de protéger quantitativement les protéines diététiques. En plus, leur richesse en azote non spécifique et en acides aminés non essentiels les rend plus commodes à être exploitées par l'animal à la place des acides aminés essentiels des protéines diététiques précieuses, ce qui permet de protéger qualitativement les protéines (83).

Les PRPs fournissent aux animaux la capacité de maintenir une plus grande digestion des fibres et des protéines, lors de l'ingestion de fourrages riches en tanins. La désintoxication au niveau de la bouche permet à ces animaux d'ingérer les plantes tannifères (126).

Le taux de PRPs produit diffère d'une espèce à une autre. La consommation des aliments hautement riches en tanins stimule le développement des glandes salivaires productrices de PRPs. La capacité de quelques herbivores à tolérer les tanins est comme suit : cerf > chèvre > mouton > vache (34). Cependant, certains chercheurs proclament que les moutons, les chèvres et les vaches sont incapables de sécréter des PRPs salivaires mais ces herbivores, et spécialement les vaches, possèdent dans leur salive un autre type de protéines appelé histatin qui ne sont pas

riches en proline mais ont une grande affinité pour l'acide tannique avec une tendance à former des complexes protéines- tanins solubles. Ces protéines sont plutôt riches en histidine. Le rôle fondamental de ces protéines salivaires n'est pas de neutraliser les effets nocifs des tanins diététiques, parce que ces protéines se trouvent aussi chez les vaches élevées sur une alimentation exempte de tanins (83).

Le microbiote ruminal s'adapte également aux tanins, les bactéries les plus résistantes se trouvent chez les ruminants qui consomment de grandes proportions de fourrages riches en tanins. Contrairement aux tanins hydrolysables, les tanins condensés sont résistants à la dégradation microbienne car les microorganismes du rumen n'ont pas un équipement enzymatique adéquat pour leur dégradation. Pour se protéger contre ces molécules actives, les bactéries ruminales, en particulier *Prevotella ruminicola* possèdent quelques mécanismes qui leur permettent de survivre et de rester actives dans un environnement saturé en tanins (97). Ces mécanismes adaptatifs incluent la méthylation des groupements hydroxy-phénoliques des tanins, la sécrétion de polysaccharides extracellulaires ayant une forte affinité pour les tanins et dont la fonction est de séparer la paroi cellulaire des tanins réactifs (*Streptococcus gallicatus*) (133) et/ou par la formation de glycoprotéines épaisses, possédant également une grande affinité pour les tanins afin de les empêcher de manifester leurs effets adverses sur les bactéries du rumen (133).

Un autre mécanisme de désintoxication possible se produit au niveau du foie. Il est induit par les substances phénoliques, de faibles poids moléculaires, libérées suite à la dégradation des tanins hydrolysables. Une fois que ces composés parviennent au sang, ils atteignent le foie où ils sont métabolisés et excrétés dans les urines (83)

10. Mécanisme de détannification

La quantification incertaine et la compréhension imparfaite de l'effet biologique des tanins empêche le développement de méthodes adéquates qui permettent d'alléger leur effets. Cependant, quelques méthodes s'avèrent très favorables dans la réduction du contenu en tanins des plantes destinées à l'alimentation animale.

10.1. Le stockage

Le stockage des plantes réduit leurs contenus en phénols totaux et en tanins condensés ainsi que leur capacité à précipiter les protéines. Cette action est proportionnelle au taux d'humidité. Des résultats indiquent que le stockage des feuilles fraîches, pendant un jour, réduit leur teneur en phénols totaux, en tanins condensés et leur potentialité de précipitation des

protéines par 55%, 77% et 65%, respectivement. Après cinq jours de stockage, ces valeurs atteignent 72, 89% et 83%, respectivement. Après dix jours, l'inactivation des tanins est totale et atteint les 100%. Le stockage agit en augmentant le degré de polymérisation des tanins et les transforment en grands polymères inertes.

Le stockage associé à la mouture des plantes augmente l'ampleur d'inactivation des tanins parce que la mouture augmente la disponibilité des tanins aux oxydases naturellement présentes dans les feuilles (5, 71, 83).

10.2. Le séchage

Le séchage des feuilles mûres du chêne, sous différentes températures (90°C pendant 24 h, 60°C pendant 48 h, séchage à l'ombre pendant 24, 48 et 72 h et au soleil pendant 24 et 48 h, n'a aucun effet sur le taux des phénols totaux, des tanins condensés, la capacité de précipitation des protéines, sur le degré de polymérisation et l'activité spécifique des tanins libres et des tanins condensés. D'autre part, le séchage des feuilles de *Cassava* et de *Leucaena* à 90°C pendant 24 h diminue leur teneur en tanins. Une des raisons possibles de cette dissimilitude est la différence d'humidité dans les feuilles. Les feuilles de *Cassava* et de *Leucaena* ont approximativement 65% d'humidité, alors que les feuilles du chêne sont à 40%. Le grand taux d'humidité des feuilles de *Cassava* et de *Leucaena* suivi par leur traitement à la chaleur diminuent le taux de tanins. De la même façon, l'étuvage ou l'autoclavage (1,05 kg/cm²), pendant 10 à 20 min des feuilles fraîches de chêne ne réduit pas le niveau des phénols totaux, des tanins condensés, des ellagitannins et la capacité de précipitation des protéines. Cependant, à une proportion de 1:2 (w/v) de feuilles et d'eau, l'étuvage et l'autoclavage pendant 10 min réduisent la potentialité de précipitation des protéines par 25 et 53%, respectivement. Le séchage peut être une méthode efficace pour les fourrages riches en tanins et en eau (83).

10.3. Produits chimiques

L'extraction avec les solvants organiques aqueux (acétone 30%, méthanol 50%, éthanol 40%) enlève approximativement 70% des tanins des feuilles de chêne. L'avantage qu'offre l'utilisation de ces solvants organiques est la récupération des tanins qui peuvent être réutilisés pour le tannage du cuir. Les alcalis peuvent également être utilisés, la réduction de la teneur en tanins des feuilles de chêne par utilisation de substances alcalines varie entre 70 et 90%, l'hydroxyde de sodium (0,05 M) étant le plus efficace, suivi du carbonate de sodium (0,05 M) et du bicarbonate de sodium (0,1 M). La diminution du taux de tanins par ce type de traitement résulte de l'oxydation des groupes phénoliques par l'oxygène présent dans l'air. Les agents

oxydants tels que le permanganate de potassium (0,03 M) et le bichromate de potassium (0,02 M) réduisent le niveau de tanins d'environ 95%. Le sulfate ferreux (0,015 M), un agent complexant des tanins, réduit leur taux de 85%. Ces traitements sont efficaces sur les tanins condensés extractibles (libres), ainsi que sur les tanins condensés liés. Les alcalis et les agents oxydants agissent en augmentant le degré de polymérisation de ces composés, par conséquent ils deviennent inactifs (83).

Les feuilles de certains arbres peuvent également être détannifiées grâce au peroxyde d'hydrogène (un agent oxydant très fort), en présence de l'hydroxyde de sodium. La baisse du taux de tanins est alors supérieure à 99%. L'extraction par solvants organiques (acétone, méthanol, éthanol) et par traitement avec les agents oxydants (bichromate de potassium, permanganate de potassium et peroxyde d'hydrogène) est très efficace et peut enlever ou inactiver jusqu'à 90% de tanins dans les feuilles du chêne et jusqu'à 99% dans les sous-produits forestiers et agro-industriels (83).

L'utilisation des solvants organiques pour l'extraction des tanins est plus rentable que les agents oxydants, parce que les tanins peuvent être récupérés et réutilisés pour le traitement du cuir ou pour d'autres applications industrielles.

10.4. Méthode biologique

Une autre approche de détannification consiste en la biodégradation des tanins par des moisissures, telles que : *Sporotrichum pulverulentum*, *Ceriporiopsis subvermispota* et *Cyathus steroreus*. Une fermentation de dix jours des feuilles de chêne par *S. pulverulentum* diminue le taux des phénols totaux et des tanins condensés par 58% et 66%, respectivement, alors que la capacité de précipitation des protéines diminue par 65%. L'utilisation des autres moisissures : *C. subvermispota* et *C. steroreus* mène à une dégradation substantielle des tanins condensés (56-65%), présents dans les feuilles de *Sericea lespedeza* en une durée de trois semaines. *C. subvermispota* montre une plus grande efficacité d'élimination des tanins condensés comparativement à *C. steroreus*. Ces moisissures augmentent par trois la digestibilité *in vitro* des feuilles de *C. lespedeza* (20-60%). Cette nouvelle approche exige des études supplémentaires afin d'exploiter pleinement les possibilités de son application dans le monde de l'industrie (83).

10.5. L'incorporation du polyéthylène glycol (PEG)

Pour alléger les effets antinutritionnels des tanins, les propriétés complexantes des polymères synthétiques, en particulier le polyéthylène glycol (PEG) et le polyvinyl polypyrrolidone (PVPP), ont été longtemps exploitées par plusieurs éleveurs. Depuis plus de trois décennies, les tanins sont connus pour leur habilité à se lier au PVPP et au PEG. Ces

polymères se caractérisent aussi par leur capacité à rompre les complexes tanins-protéines, parce que leur affinité pour les tanins est plus grande que pour les protéines. Le PEG est plus efficace que le PVPP dans l'inactivation des tanins diététiques à cause de sa très forte capacité à se combiner aux tanins et sa résistance aux variations de pH. C'est pourquoi il permet une meilleure protection des protéines alimentaires de l'action inhibitrice des tanins. L'inclusion du PEG dans le régime alimentaire des herbivores est sans danger, les animaux tolèrent bien sa présence (5, 71, 83).

Bien que la technique d'incorporation du PEG soit relativement efficace, son utilisation d'une manière routinière n'est pas envisageable à cause de son coût prohibitif. En plus, des études supplémentaires sont nécessaires pour déterminer les niveaux optimums de son inclusion dans les aliments riches en tanins.

Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

Les substrats retenus pour cette étude sont des plantes herbacées collectées des parcours sahariens de la région d'EL Oued. Cette localité est située dans le sud-est algérien à 33° 20' de latitude nord, 6° 53' de longitude Est et à une altitude moyenne de 67m. Le climat de la région est sec, aride, avec une courte saison de pluie d'une durée moyenne de 3 mois. Les précipitations moyennes atteignent 75mm par an et surviennent de Novembre à Décembre. Elles sont toujours faibles, irrégulières et varient d'une année à l'autre. Les températures moyennes oscillent entre 11°C (Janvier) et 32,5°C (Juillet). Dans cette région, la majorité des sols sont déserts, bruns et très salins.

Trois espèces de plantes fourragères xérophytes sont choisies en fonction de leur teneur en tanins (figure 4) : teneur faible (*Aristida plumosa*), teneur moyenne (*Astragalus gombiformis*) et forte teneur (palmes sèches). Elles sont étudiées comparativement à un substrat standard de référence, consommé habituellement par les ruminants, il s'agit du foin de vesce-avoine. Les échantillons de plantes ont été collectés au mois de Mars 2004 par coupure à la main, à 2 cm de hauteur du niveau du sol (parties aériennes). La première plante (graminée) est collectée au stade d'épiaison et la seconde (légumineuse) au stade de floraison. Ces échantillons sont ensuite séchés, moulus et tamisés à travers une grille de 1 mm. Les fourrages sont conservés dans des récipients clos jusqu'à leur utilisation.

2. Matériel animal

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

3. Analyses phytochimiques

L'analyse phytochimique détermine la composition qualitative des substances bioactives exclusives aux végétaux.



Aristida plumosa



Astragalus gombiformis



Palmes sèches



Foin de vesce avoine

Figure 4 : photos des plantes

Tableau 3 : Description botanique des plantes.

Famille	Nom vernaculaire	Nom scientifique	Description
<i>Graminées</i> <i>Poaceae</i>	Safraa ou Sfar	<i>Aristida plumosa</i>	Plante annuelle de 30 à 50 cm de hauteur caractérisée par un épillet uniflore et par des feuilles regroupées en touffes. Elle affectionne les habitats stériles et secs comme les sols sableux parce qu'elle est résistante à la sécheresse. Elle se trouve dans les erg où elle est plus apprécié par les ovins et les caprins.
<i>Légumineuse</i> <i>Fabaceae</i>	Foulet El-Ibel ou Faïla	<i>Astragalus</i> <i>gombiformis</i>	Plante herbacée caractéristique des zones désertiques africaines (Algérie, Libye Tunisie). Elle est dotée d'un système racinaire de type pivotant qui lui permet de coloniser les couches profondes du sol, ses feuilles non grimpantes sont composées de plusieurs folioles.
<i>Areaceae</i>		<i>Phoenix</i> <i>dactylifera</i>	C'est un grand arbre de 15 à 20 m de haut, au tronc cylindrique, le stipe, portant une couronne de feuilles. Les feuilles sont pennées, finement divisées et longues de 4 à 7 mètres. Il est répandu dans toutes les zones chaudes d'Afrique du Nord, le Sahara, depuis l'Atlantique jusqu'à la mer Rouge, ainsi qu'au Moyen-Orient et vers l'est jusqu'à l'Indus.
Foin de vesce avoine			Un aliment grossier résultant de l'association de deux plantes apparentant à deux familles différents <i>Vicia sativa</i> (légumineuse) et <i>Avena sativa</i> (graminée).

3.1. Préparation des extraits

Les tanins présents dans les échantillons de plantes sont extraits 3 fois par le méthanol 80% pendant 40 min. Après décantation, la phase alcoolique est récupérée et les précipités sont trempés dans de l'eau tiède pendant 20 min. Le filtrat qui en résulte constitue la phase aqueuse (37).

3.2. Réaction de révélation des tanins

La présence des tanins est révélée dans les deux phases : aqueuse et alcoolique. Elle consiste à diluer de moitié l'extrait alcoolique et aqueux avec de l'eau distillée à laquelle on ajoute 2 à 3 gouttes de chlorure ferreux. L'apparition d'une couleur verte indique la présence de tanins (37).

3.3. Réaction de révélation des saponines

Les saponines sont mises en évidence par agitation de 1 ml de la phase aqueuse. L'apparition d'une mousse, qui persiste après cinq minutes, indique la présence de saponines (37).

4. Analyses chimiques

4.1 Détermination de la teneur en matière sèche

La matière sèche est déterminée par dessiccation d'1g d'échantillons à 105°C jusqu'à poids constant (10).

4.2. Détermination de la matière organique et minérale

Les cendres (matière minérale) sont déterminées par incinération d'1g d'échantillon sec dans un four à moufle à 550°C pendant 5 heures (10). La matière organique correspond à la différence entre la prise d'essai et les cendres qui en résultent.

4.3. Détermination des composés phénoliques

4.3.1. Extraction

Les composés phénoliques sont extraits par une solution aqueuse d'acétone (70%). Il s'agit d'une double extraction dans laquelle 0,2 g d'échantillon sont dilués dans 10 ml d'acétone (70%) puis centrifugés à 3000 g pendant 10 min, à 4°C. Le surnageant (S1), qui en résulte, est recueilli et conservé dans la glace à 4°C. Le culot est remis en suspension dans 10 ml d'acétone (70%) et il est, à nouveau, centrifugé comme précédemment. Le culot est alors éliminé, l'extrait final est obtenu en mélangeant le surnageant (S1) et (S2).

4.3.2. Dosage des phénols totaux

Les phénols totaux sont déterminés selon le procédé décrit par Folin-Ciocalteu (87). Une aliquote de 25 µl de l'extrait est mélangée avec 475 µl d'eau distillée, 250 µl de Folin Ciocalteu

(1N) et 1,25 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3 , 20%). Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 40 min. L'absorbance est mesurée à 725 nm et les résultats sont rapportés à une courbe étalon standard et exprimés en équivalent d'acide tannique (Annexe.1).

4.3.3. Dosage des tanins totaux

Les tanins totaux sont estimés en mélangeant 100 mg de polyvinylpyrrolidone (PVPP) avec 2 ml d'eau distillée et 2 ml du premier extrait. L'ensemble est agité et maintenu à 4°C pendant 15 min, ensuite il est centrifugé à 3000 g et à 4°C pendant 10 min. Le surnageant, qui en résulte, est utilisé pour la détermination des tanins totaux qui correspondent à la différence entre les phénols totaux (mesurés par le procédé de Folin–Ciocalteu) avant et après traitement avec le PVPP (43).

4.3.4. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés sont dosés par la méthode de Butanol-HCl (120). Le milieu réactionnel est composé de 0,5 ml de l'extrait, 3 ml de butanol-HCl (95/5) et 0,1 ml d'une solution ferrique (sulfate d'ammonium ferrique 2%, dilué dans HCl à 2N). Les échantillons sont incubés dans un bain marie bouillant pendant 60 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm et les résultats sont exprimés en équivalent de leucocyanidines, selon la formule suivante (82) :

$$(A_{550 \text{ nm}} \times 78,26 \times \text{FD})$$

- A : absorbance enregistrée à 550 nm
- FD : facteur de dilution

4.3.5. Précipitation des protéines

4.3.5.1. Extraction

Pour les essais de précipitation des protéines par les tanins, les extraits de plantes sont préparés par dilution de 0,5 g d'échantillons dans 5 ml d'acétone aqueuse (70%). Ils sont ensuite centrifugés à 3000 g pendant 10 min, à 4°C. Le surnageant constitue la fraction tannique.

4.3.5.2. Méthode de la diffusion radial

La méthode de la diffusion radial est étroitement liée aux effets biologiques des tanins. Elle permet d'estimer le taux de protéines précipitées par les tanins (56). De ce fait, cette méthode dépend de la formation de complexes entre les tanins et la sérum-albumine bovine (BSA) intégrée dans l'agarose. 25 µl d'extrait de plantes sont introduits dans des puits, préalablement creusés dans l'agarose. Les boîtes de Pétri sont incubées à 30°C pendant 96 heures. La réaction de précipitation est révélée par la formation d'un cercle opaque dont le diamètre est proportionnel au taux de tanins présents dans l'extrait. Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide tannique (Annexe.1) (56).

5. Fermentations *in vitro* des substrats

5.1. Technique de production de gaz *in vitro*

La fermentation des substrats est étudiée par la technique de production de gaz *in vitro* (100). Cette technique est une simulation de la digestion des aliments dans le rumen. Elle permet d'étudier la stœchiométrie et la cinétique des fermentations ruminales dans un système batch. C'est une méthode rapide, simple, fiable et peu coûteuse, elle permet aussi la prédiction des apports énergétiques liés à la fermentation ruminale. De ce fait, cette technique est préconisée comme un outil fiable pour la prédiction des performances métaboliques des ruminants par la détermination de la digestibilité et de la dégradation des fourrages.

La tendance actuelle à introduire de nouvelles espèces végétales dans l'alimentation des ruminants a élargi le domaine d'application de cette technique, on l'utilise aussi maintenant pour révéler la présence et l'activité biologique de substances antinutritionnelles qui affectent la biodisponibilité des nutriments dans les plantes fourragères (50).

5.2. Description du système de fermentation

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

5.3. Source d'*inoculum*

Le prélèvement de l'*inoculum* (jus de rumen) est effectué sur des ovins sacrifiés aux abattoirs de BOUSSOUF. Il est préparé immédiatement après l'abattage et l'éviscération, à partir du contenu ruminal de 3 animaux différents. Cet *inoculum* est recueilli dans des Thermos préalablement chauffés à 39°C et saturés en CO₂. Ils sont hermétiquement fermés et transférés directement au laboratoire où ils sont traités, au plus, dans les 2 heures qui suivent la collecte.

5.4. Préparation de l'*inoculum*

Au laboratoire, le contenu du rumen est homogénéisé pendant 30 secondes dans un appareil de type Stomacker (LAB BLENDER Modèle 400) dans le but de faciliter la mise en suspension des microorganismes et de détacher les bactéries adhérentes aux fibres. Il est ensuite filtré à travers 4 couches de gaze chirurgicale. Le milieu de fermentation est obtenu en mélangeant un volume de jus de rumen filtré avec 2 volumes de salive artificielle (Annexe.2) (99). Cette solution de couleur bleue est un mélange composé de : 570 ml d'eau distillée, 0,15 ml de la solution des microminéraux, 285 ml de la solution tampon, 285 ml de la solution des macrominéraux, 1,5 ml de la solution de résazurine et enfin 59,4 ml de la solution réductrice. Le brassage est maintenu à 39°C, puis un barbotage est assuré en profondeur par un flux continu de CO₂ jusqu'au virage de la coloration bleue vers le rose pour devenir incolore. En ce moment, le jus de rumen filtré est ajouté, puis un barbotage en surface est maintenu pendant 15 min afin de maintenir une atmosphère totalement anaérobie.

5.5. Inoculation

Pour chaque substrat, six seringues contenant 200 ± 5 mg (cinétique de production de gaz) ou 350 ± 5 mg (digestibilité de la matière organique) de substrat sont incubées, trois en présence de 1g de polyéthylène glycol (PEG, PM : 4000 Da, Prolabo) et trois en son absence. Cette phase solide est complétée par une phase liquide constituée de 30 ml du milieu de culture. Dans les mêmes conditions, six seringues témoins de référence sans substrat (uniquement le milieu de culture) sont simultanément incubées en présence et en absence de PEG (blanc).

5.6. Incubation

Les seringues inoculées sont horizontalement incubées dans une étuve à agitation rotatoire (type GFL 3033) à 9 tours/ min et à 39°C pendant 96 heures.

Le suivi de la cinétique de fermentation est réalisé par la mesure du volume total des gaz produits lors de la fermentation. Il est indiqué par le déplacement du piston sous la pression des

gaz libérés à différents intervalles de temps : 3, 6, 9, 24, 48, 72 et 96 heures. Cependant, la fermentation est arrêtée après 24 h pour l'estimation de la digestibilité de la matière organique. Le gaz produit est mesuré par une lecture visuelle des graduations présentes sur la face de chaque seringue.

La production réelle de gaz dans chaque seringue correspond au rapport entre la production de gaz après 96 heures soustraite du volume de gaz enregistré à t_0 et celui du volume de gaz moyen produit par le blanc et la matière sèche introduite :

$$V_{96} \text{ ml/g MS} = (V_{96} - V_0 - V_B) \times 0,2 / \text{MS introduite}$$

Les paramètres caractéristiques de la production de gaz sont déduits du modèle exponentiel proposé par Ørskov et McDonald (115).

$$y = a + b (1 - \exp^{-ct})$$

y : volume de gaz (ml) après chaque temps d'incubation.

a : gaz produit à partir de la fraction soluble facilement fermentescible (ml).

b : gaz produit à partir de la fraction insoluble potentiellement fermentescible (ml).

c : vitesse de dégradation des substrats (h^{-1}).

a+b : production potentielle de gaz (ml).

5.7. Détermination de la digestibilité réelle des substrats

5.7.1. Digestibilité de la matière sèche

Après 24 h de fermentation, le contenu de chaque seringue est traité deux fois avec 100 ml d'une solution de NDS (Annexe.3). Les échantillons sont portés à ébullition pendant 1 heure et sont par la suite filtrés à travers des creusets pré-tarés ayant une porosité de 0,2 μm . Les creusets sont séchés à 130°C pendant 2 heures et pesés (122). Cette opération permet de libérer les microorganismes du rumen des substrats réellement non dégradés. La digestibilité réelle de la matière sèche (X) est calculée comme étant la différence entre le poids du substrat incubé et celui du résidu après traitement.

5.7.2. Digestibilité de la matière organique

Les creusets contenant les résidus séchés sont transférés au four à moufle. Le résidu obtenu après incinération correspond à la matière minérale restante. Le taux de matière organique non dégradée (Y) correspond à la différence entre la digestibilité réelle de la matière sèche et la matière minérale restante.

La digestibilité réelle de la matière organique est égale à : $Z - (X - Y)/Z \times 100$, Z correspond aux taux de matière organique calculée dans chaque seringue.

5.7.3. Estimation de la production de la biomasse microbienne

La production de la biomasse microbienne produite est déduite de l'équation suivante (82) :

$$\text{Biomasse microbienne} = (X - Y) - FS \times GP \text{ (ml/g de MS)}$$

Où :

X : digestibilité réelle de la matière sèche.

Y : taux de matière organique non dégradée.

GP: gaz total produit après 96h d'incubation.

FS : facteur stœchiométrique égale à 2,20.

5.7.4. Détermination du facteur de partition

C'est une mesure de l'efficacité de la production de la biomasse microbienne ou celle de la production de protéines microbiennes, plus le facteur est élevé plus l'efficacité est grande. Il correspond au ratio entre la teneur en matière organique réellement dégradée (mg) et la production nette de gaz (ml).

6. Analyse statistique

Les données de l'analyse chimique ont été soumises à une analyse de la variance (ANOVA) par l'utilisation du logiciel informatique STATITCF, suivant le modèle :

$$Y_{ij} = \mu_{ij} + \alpha_i + \varepsilon.$$

Où :

Y_{ij} = l'observation générale de la composition chimique estimée.

μ_{ij} = la moyenne générale.

α_i = effet fourrage.

ε = l'erreur standard.

La production de gaz et ses paramètres ont été également soumis à une analyse de la variance (ANOVA) à l'aide du même logiciel informatique, suivant le modèle :

$$Y_{ij} = \mu_{ij} + \alpha_i + \beta_j + \delta_{ij} + \varepsilon.$$

Où :

Y_{ij} = l'observation générale de la production de gaz *in vitro* et de la digestibilité estimée.

μ_{ij} = la moyenne générale.

α_i = effet fourrage.

β_j = effet traitement.

δ_{ij} = l'interaction.

ε = l'erreur standard.

Résultats et discussion

Tableau 4 : Analyse phytochimique des différents fourrages

Familles	Espèces	Saponines	Tanins
Poaceae	Aristida plumosa	++	+
<i>Fabaceae</i>	<i>Astragalus gombiformis</i>	±	++
Sous-produits	Palmes sèches	++	++
Standard	Foin de vesce-avoine	+	+

± : teneur faible, + : teneur moyenne, ++ : teneur élevée.

1. Composition phytochimique

Les quatre fourrages de notre étude sont soumis à une analyse phytochimique qui permet de déterminer qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante. Parmi ces composés, se trouvent les tanins et les saponines. Il ressort de cette analyse que les fourrages renferment des niveaux différents de facteurs antinutritionnels (Tableau. 4). Selon l'intensité de la couleur développée, les palmes sèches et *Astragalus gombiformis* se montrent riches en tanins alors que le foin de vesce-avoine et *Aristida plumosa* se caractérisent par un niveau moyen. En ce qui concerne les saponines et selon la mousse formée, les palmes sèches et *Aristida plumosa* se distinguent par leur richesse en ces composés, le foin de vesce-avoine l'est moyennement tandis qu'*Astragalus gombiformis* ne dispose que d'une faible niveau. Plusieurs auteurs signalent la présence qualitative de nombreux métabolites secondaires dans des plantes congénères utilisées dans l'alimentation animale : présence de saponines dans les graines de *Piliostigma thonningii* (légumineuse du Nigeria) (63), présence de tanins et de saponines dans *Aspilia africana* (plante fourragère de l'Afrique tropical) (3), présence de saponines et de tanins en association avec d'autres métabolites secondaires dans *Terminalia catappa* (*Combretaceae*), cette dernière est une plante fourragère utilisée également pour ces propriétés antimicrobiennes (19). Une tendance analogue est observée pour *Tridax procumbens* (*Asteraceae*) qui est une plante médicinale utilisée comme fourrage (39). Les variations observées entre les différents substrats peuvent être assignées à la composition chimique de ces plantes, cette dernière dépend essentiellement des conditions environnementales dans lesquelles poussent ces végétaux. C'est pourquoi les plantes des zones arides produisent plusieurs types de métabolites secondaires afin de se défendre et pouvoir subsister aux contraintes imposées par le climat et le milieu.

Tableau 5 : Composition chimique des fourrages natifs des zones arides (% de MS)

Familles	Espèces	MS	MO	MM
Poaceae	<i>Aristida plumosa.</i>	89,98 ^b	88,9 ^c	11,1 ^b
Fabaceae	<i>Astragalus gombiformis</i>	55,17 ^c	76,84 ^d	23,16 ^a
Sous-produits	Palmes sèches	98,96 ^a	90,05 ^b	10,95 ^b
Standard	Foin de vesce-avoine	89,11 ^b	95,93 ^a	5,07 ^d
	SEM	0,3	0,18	0,05

Les moyennes affectées de lettres différentes dans la même colonne sont significativement différentes ($p < 0,05$).

SEM: erreur standard des moyennes

MS : matière sèche, MO : matière organique, MM : matière minérale

2. Composition chimique

L'analyse chimique est la méthode la plus simple pour apprécier la qualité de la valeur nutritive des produits alimentaires destinés aux ruminants. Cette dernière fournit une première évaluation du potentiel nutritif de l'aliment qu'elle divise en plusieurs fractions décrites dans les tableaux 5 et 6 : la matière sèche, la matière organique, les cendres et les composés phénoliques.

2.1. La matière sèche

Le tableau 5 montre que les substrats présentent une teneur élevée en matière sèche (MS). *Aristida plumosa*, les palmes sèches et le foin de vesce-avoine ont à un point près le même poids sec : 89,98%, 89,63% et 89,11%, respectivement. Par contre *Astragalus gombiformis* renferme plus d'eau, sa MS étant de 55,17%. Les faibles taux d'humidité sont dus à l'origine aride des fourrages. *Astragalus gombiformis* est riche en eau car c'est une légumineuse dotée d'un système racinaire profond qui lui permet de trouver l'eau dans le sol à cause de son long pivot. Plusieurs auteurs ont rapporté des résultats proches des nôtres. Pour le foin, une teneur quasi identique de

MS correspondant à 88,5 % est détectée (135). D'autres données indiquent des valeurs plus faibles, soit 65,8% (53). Pour les palmes sèches, un pourcentage légèrement plus élevé est rapporté par plusieurs auteurs soit : 91,64%, 93%, 91,45% et 94,37% (22, 36, 117, 122). Concernant *Aristida plumosa*, sa MS est voisine de 91,46% (76). Comparativement aux légumineuses tropicales, le poids sec d'*Astragalus gombiformis* est faible, *Leucaena leucocephala* et *Sesbania sesban* disposent d'une teneur de 86,7% et 88,5%, respectivement (135). Certaines légumineuses possèdent une MS supérieure même à 93% (6, 18, 66). Les faibles variations observées pourraient s'expliquer par les différents stades végétatifs des fourrages, par la saison de récolte, tous les deux souvent non indiqués, et surtout par la sécheresse qui caractérise les régions dans lesquelles poussent ces plantes.

2.2. La matière organique

Les quatre fourrages renferment un taux relativement élevé de matière organique (MO) (Tableau. 5). La teneur la plus élevée est observée pour le foin de vesce-avoine avec 95,93%. Les palmes sèches et *Aristida plumosa* présentent des valeurs proches : 90,05% et 88,9%, respectivement. Le plus faible taux est enregistré pour *Astragalus gombiformis* qui ne contient que 76,84%. En ce qui concerne le foin de vesce-avoine, le taux de MO est comparable à celui indiqué par certains auteurs qui donnent des teneurs comprises entre 88,5% et 93,1% (52, 135). Pour les palmes sèches, le taux de MO est plus ou moins comparable aux valeurs rapportées par plusieurs auteurs soit : 87% 91,48% et 92,38% (36, 76, 122). D'autre part, le taux de MO que contient *Aristida plumosa* est du même ordre que les données rapportées par la littérature (76). *Astragalus gombiformis* contient un taux de MO relativement plus faible (76,84%) par rapport à quelques espèces fourragères appartenant à la même famille. En effet, les feuilles de *Calliandra calothyrsus* (légumineuse tropicale) et de *Calicotome villosa* (légumineuse du nord tunisien) se caractérisent par un pourcentage de MO supérieur soit : 94% et 94,8%, respectivement (9, 129). Une propension comparable est constatée pour *Acacia shaffneri* et *Acacia saligna* qui renferment 94,6% et 92,7 % de MO (35, 69). La variabilité observée entre les différents fourrages peut être, en partie, attribuée aux conditions climatiques et surtout aux variations saisonnières de température et de pluviométrie qui déterminent la composition chimique de la plante. Le stade végétatif au moment de la récolte semble aussi influencer la teneur en matière organique de chaque plante.

2.3. La matière minérale

Le taux de matière minérale (MM) contenu dans chaque plante est variable (Tableau. 5). *Astragalus gombiformis* renferme la plus forte teneur avec 23,16% suivie d'*Aristida plumosa* et des palmes sèches qui présentent des teneurs moyennes : 11,10% et 10,95%, respectivement. Le foin de vesce-avoine contient un pourcentage moindre par rapport au reste des substrats (5,07%). Ces valeurs sont comparables à celles rapportées par d'autres auteurs travaillant sur les mêmes substrats. Pour le foin de vesce-avoine, ces derniers signalent un taux de MM proche du nôtre (5,6%), d'autres indiquent un pourcentage variable mais du même ordre (6,4%) (135). En ce qui concerne les palmes sèches, des valeurs voisines de 8,9% et 8,51% sont notées (22, 122), un taux plus faible au nôtre est également signalé, soit : 3,4% (27). De même qu'une valeur nettement supérieure, correspondant à 15,25%, est également rapportée (36). Pour *Aristida plumosa*, les taux de MM enregistrés sont moindres, autour de 8,27% (76). Comparativement aux légumineuses tropicales, *Astragalus gombiformis* renferme un taux très élevé de MM, ainsi *Genista occidentalis*, *Genista florida*, *Cytisus scoparius* et *Cytisus purgens* renferment des teneurs très faibles, soit : 0,35% de MS, 0,26% de MS, 0,41% de MS et 0,19% de MS, respectivement (45). Pareillement, *Acacia shaffneri* contient environ 7,16% (35). Pour d'autres légumineuses fourragères le taux de MM s'étend entre 4,99% et 15,88 % (66). Des facteurs tels que le type de sol, le climat, le stade de maturité et la saison contribuent à faire varier fortement la concentration des éléments minéraux dans les fourrages (79, 128, 131). De plus, l'éventuel contamination de nos substrats par la silice peut expliquer les taux élevés de MM.

Tableau 6 : Teneur en composés phénoliques des différents fourrages (% de MS)

Familles	Espèces	PTE	TTE	TCE	CPP
Poaceae	<i>Aristida plumosa.</i>	0,55 ^c	0,31 ^c	ND ^d	ND ^b
Fabaceae	<i>Astragalus gombiformis</i>	3,4 ^b	2,13 ^b	0,4 ^b	ND ^b
Sous-produits	Palmes sèches	6,17 ^a	4,91 ^a	3,61 ^a	5,54 ^a
Standard	Foin de vesce-avoine	0,45 ^d	0,21 ^d	0,20 ^c	ND ^b
	SEM	0,05	0,05	0,05	0,05

Les moyennes affectées de lettres différentes dans la même colonne sont significativement différentes ($p < 0,05$).

SEM: erreur standard des moyennes

PTE : phénols totaux extractibles, TTE : tanins totaux extractibles, TCE : tanins condensés extractibles, CPP : capacité de précipitation des protéines, ND : non détectée.

2.4. Les composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques des différents substrats est indiquée dans le tableau 6. Les quatre plantes renferment des taux significativement variables ($p < 0,001$) de composés phénoliques. L'ordre décroissant de la teneur des substrats en phénols totaux extractibles (PTE) est le suivant : palmes sèches (6,17% de MS) > *Astragalus gombiformis* (3,4% de MS) > *Aristida plumosa* (0,55% de MS) > foin de vesce-avoine (0,45% de MS). Le taux de tanins totaux extractibles (TTE) est significativement différent entre les plantes ($p < 0,001$). Il varie de 4,91% de MS pour les palmes sèches à 0,21% de MS pour le foin de vesce-avoine. *Astragalus gombiformis* renferme une teneur moyenne de 2,13% de MS. *Aristida plumosa* a un contenu faible en TTE, proche de celui du foin de vesce-avoine soit : 0,31% de MS. Les fourrages testés présentent des teneurs relativement faibles en tanins condensés extractibles (TCE), les palmes sèches étant les plus riches avec 3,61% de MS suivies d'*Astragalus gombiformis* avec 0,4% de MS. Le foin de vesce-avoine ne contient que des traces (0,02% de MS), alors que pour *Aristida plumosa*, les TCE ne sont pas détectables.

La capacité de précipitation des protéines (CPP) a été seulement détectée pour les palmes sèches dans lesquelles elle atteint 5,54% de MS. Pour le reste des substrats étudiés (*Astragalus gombiformis*, *Aristida plumosa* et le foin de vesce-avoine), la CPP n'a pas été détectée et les valeurs obtenues sont nulles.

Les substrats étudiés s'avèrent peu riches en composés phénoliques et peuvent être classés en deux catégories, en fonction de leurs concentrations en tanins totaux extractibles (TTE) et en tanins condensés extractibles (TCE): 1/ les fourrages contenant un taux modéré de tanins (palmes sèches et *Astragalus gombiformis*) et 2/ les fourrages contenant un faible taux de tanins (*Aristida plumosa* et le foin de vesce-avoine) (<1% de MS) (110). Les fourrages étudiés n'ont fait l'objet que de très peu de publications quant à leur composition en tanins ainsi qu'à leurs caractéristiques de dégradation. C'est pourquoi nous n'avons pas pu recueillir de données bibliographiques. Par conséquent, nous ne les comparons qu'à des fourrages appartenant aux mêmes familles botaniques ou poussant dans des conditions climatiques plus ou moins voisines

(plantes de zones arides et tropicales), sur lesquels de nombreuses études ont été menées. Ainsi treize espèces végétales désertiques, poussant dans le Botswana, se caractérisent par un taux plus élevé en TCE (0,8 - 9,15% de MS) (3). Cependant, certaines plantes désertiques natives du Ghana renferment des teneurs plus faibles en composés phénoliques avec des valeurs s'échelonnant entre (0,56 – 3,18% de MS), (0,11 – 2,52% de MS) et (0 – 1,21% de MS) pour les PTE, TTE et TCE, respectivement (11). Concernant le foin, les taux de PTE et de TCE obtenus sont très proches des nôtres soit : 0,6 et 0,02% de MS, respectivement (135). D'une manière générale et comparativement aux légumineuses tropicales, *Astragalus gombiformis* est pauvre en tanins, plusieurs auteurs rapportent des valeurs nettement supérieures au seuil de 5% de MS, notamment pour les espèces d'*Acacia* dont le taux de phénols et de tanins sont très élevés. Ainsi six espèces d'*Acacia* originaires de Tanzanie se distinguent par des teneurs en composés phénoliques s'étendant entre 9,9 et 28,1% de MS pour les PTE, entre 9,3 et 25,6 % de MS pour les TTE et entre 5,28 et 9,83% de MS pour les TCE (123). De même, les espèces d'*Acacia* des zones sub-sahariennes d'Afrique sont également très riches en tanins avec une concentration qui atteint 48% de MS (2). Cependant, certaines légumineuses renferment des concentrations en TCE et en TTE plus ou moins similaires aux nôtres, c'est le cas de *Gliricidia sepium* et de *Calicotome villosa* (légumineuse méditerranéenne) dont les teneurs en TCE et en TTE sont très proches de celles d'*Astragalus gombiformis* soit : 0,57% de MS et 3,1% de MS, respectivement (9, 125). Les feuilles d'*Atriplex nummularia* se caractérisent par une concentration en TCE identique à celle d'*Astragalus gombiformis* (0,4% de MS). Néanmoins, les feuilles de certains arbustes légumineux renferment un taux de TCE clairement plus bas avec des teneurs comprises entre 0,13 et 0,19% de MS (45). Concernant la CPP, une tendance analogue est observée pour le foin (CPP = 0) (135). Comparativement à nos résultats, la CPP rapportée pour dix sept arbres fourragers du Zimbabwe ayant un taux de TC situé entre 1,42% de MS et 38,9% de MS est très faible, elle s'étend de 0,00 à 1,55% de MS (108). De même, quelques légumineuses du nord du Brésil, riches en tanins, se caractérisent par des valeurs de CPP allant jusqu'à 2,08% de MS (135). Cependant, certaines plantes telles que *Acacia cyanophylla*, *Acacia albida* et *Calliandra calothyrsus* donnent des valeurs de CPP plus élevées soit : 10,94% de MS, 22,19% de MS et 29,82% de MS, respectivement (47). La CPP dépend de la concentration et de l'activité biologique des tanins. Les faibles taux de tanins condensés que renferment les fourrages étudiés pourraient expliquer les taux quasiment nuls de la CPP, subséquemment une corrélation positive entre la CPP et les tanins condensés est signalée par plusieurs auteurs (50, 108). Malgré leur teneur moyenne en tanins condensés, les palmes sèches se caractérisent par une CPP élevée, probablement assignable à l'activité biologique de ces molécules. Dans certains cas, la qualité

des tanins (activité biologique) l'emporte sur la quantité, c'est le cas de *Ficus carpensis* et d'*Acacia saligna* (légumineuse caractéristique des régions arides Israéliennes) dont la teneur en tanins condensés correspond à 38,9% de MS et de 26,9% de MS, respectivement et la CPP de chacune est nulle (69, 108).

Les différences observées entre les substrats sont probablement dues à la composition chimique des plantes. En effet, le taux de tanins des substrats, dont dépend la dégradabilité, est susceptible d'être influencé par le mode de culture, le stade phénologique (avec le temps les plantes ont tendance à durcir par lignification et leur valeur nutritive décline), la nature du sol (les sols arides sont sablonneux, infertiles et pauvres en éléments nutritifs), le climat au moment du prélèvement (température et pluviométrie), de même que par la constitution de l'échantillon (proportion tiges-feuilles-fleurs). Le traitement de ces prélèvements en vue de l'expérimentation (mode de séchage, de broyage et de stockage) est aussi susceptible de faire varier les résultats (31). Les différences observées peuvent partiellement être attribuées aux facteurs génotypiques qui contrôlent la biosynthèse et l'accumulation de ces métabolites secondaires dans la plante. Sachant que l'accumulation des métabolites primaires et secondaires est une propriété physiologique de la plante et elle varie à travers les espèces et les familles végétales (123). Les légères variations dans la composition en tanins peuvent aussi avoir une relation avec la sensibilité de la méthode chimique utilisée pour la quantification des composés phénoliques ainsi qu'avec la nature du standard utilisé. En effet, certaines substances chimiques utilisées comme standard ont tendance à surestimer la concentration des composés en question. C'est en particulier le cas des tanins du Quebracho (123, 124, 135).

3. Cinétique de la production de gaz *in vitro*

Tableau 7 : Effet du PEG sur la production de gaz (ml) par 200 mg MS et sur ces paramètres caractéristiques .

Fourrages	- PEG				+PEG			
	GP	a	B	c (h ⁻¹)	GP	a	b	c(h ⁻¹)
<i>Poaceae</i>								
Aristida plumosa	29,31 ^c	-3,84 ^d	34,09 ^b	4,97 ^b	30,77 ^c	-3,09 ^d	35,83 ^c	3,93 ^d
<i>Fabaceae</i>								
Astragalus								
gombiformis	35,57 ^b	1,97 ^b	33,34 ^b	8,22 ^a	38,44 ^b	0,70 ^c	37,49 ^b	7,66 ^b
Sous-produits								
Palmes sèches	16,17 ^d	-1,18 ^c	17,34 ^c	7,67 ^a	22,63 ^d	6,44 ^a	16,25 ^d	12,64 ^a
Standard								
Foin de vesce-avoine	38,51 ^a	4,09 ^a	37,56 ^a	5,72 ^b	42,61 ^a	3,76 ^b	38,98 ^a	6,43 ^c
Niveau de signifiacnce								
Fourrage					***			***
PEG					***			*
Fourrage X PEG					***			***

GP: production de gaz (ml/ 200 mg de MS), a: gaz produit à partir de la fraction soluble (ml /200 mg de MS), b : gaz produit à partie de la fraction insoluble mais potentiellement fermentescible (ml / 200 mg de MS), c : vitesse de production de gaz (h⁻¹), *** : p< 0.001, * : p< 0.1.

3.1. Volume total de la production de gaz *in vitro*

Le tableau 7 présente les volumes et les paramètres caractéristiques de la production de gaz enregistrés pour les différents substrats. En absence de PEG, la production de gaz (Vt) varie significativement (p<0,001) entre les fourrages. Après 96 h d'incubation, le foin de vesce-avoine engendre la plus grande production de gaz (38,51ml/200mg de MS), suivi d'*Astragalus gombiformis* qui produit 35,57 ml/200mg de MS. *Aristida plumosa* donne une valeur intermédiaire (29,31 ml/200mg de MS). La fermentation des palmes sèches est très faible et ne produit que 16,17 ml/200mg de MS. Cette variation dans le volume total du gaz produit est probablement due à la composition chimique des substrats qui est variable en fonction de

l'espèce et de la famille botanique. Dans notre étude, le foin de vesce-avoine se montre très fermentescible, ceci semble être dû à sa très faible teneur en composés phénoliques (PTE, TTE et TCE), combinée à une CPP nulle. De plus, le foin de vesce-avoine est un hybride formé par l'association de deux plantes appartenant à des familles botaniques différentes. D'après la littérature scientifique la vesce (*Vicia sativa*) comme toutes les légumineuses fourragères est riche en protéines (15 à 23%) en raison de sa capacité à fixer l'azote atmosphérique (8,123), l'avoine (*Avena sativa*) est une graminée riche en fibres. Cette situation suggère une intensification et une stimulation de l'activité fermentaire du microbiote ruminal quand ce dernier se trouve en présence d'un aliment riche en azote et en énergie (44, 48, 129).

Il faut également signaler que le foin de vesce-avoine est l'aliment le plus couramment donné aux animaux, par conséquent le microbiote ruminal est adapté à sa dégradation. C'est d'ailleurs pour cette raison que nous l'avons choisi comme référence. *Astragalus gombiformis* est une légumineuse riche en protéines qui lui assurent une haute production de gaz après 96 h d'incubation. *Aristida plumosa* est une graminée riche en matières lignocellulosiques (NDF \geq 77,05 %, 66) dont la fermentation est plus ou moins lente et difficile. Malgré sa très faible teneur en tanins (à l'état de trace), *Aristida plumosa* produit moins de gaz par rapport à *Astragalus gombiformis* qui en contient plus, ceci est probablement associé à l'activité biologique des tanins et/ou à l'action éventuelle et simultanée d'autres substances antinutritionnelles (83). En effet, l'activité antinutritionnelle des tanins varie entre les espèces végétales : elle dépend de leur nature chimique, de leur structure (38), de leur degré de polymérisation (124) et de l'interaction structure-activité biologique de ces composés (57). Par ailleurs, *Aristida plumosa* est riche en saponines qui possèdent des effets délétères prouvés sur les protozoaires du rumen car elles agissent sur leurs membranes en précipitant les stérols qui les composent (62, 84, 137), elles agissent aussi donc indirectement sur l'efficacité du microbiote ruminal, sachant que les protozoaires contribuent à une partie de la digestion (41). Le faible volume de gaz produit par la dégradation des palmes sèches est probablement dû à sa grande concentration en composés phénoliques qui semble être incompatible avec une bonne digestion de l'azote et des composants pariétaux. En effet, les tanins se lient surtout aux protéines et aux fibres alimentaires avec lesquelles ils forment des complexes résistants ne pouvant pas être dégradés par le microbiote ruminal. S'ajoute à l'influence des tanins, leur richesse en composants pariétaux (taux de NDF $>$ 84,85%) difficiles à hydrolyser par le microbiote ruminal (13, 14, 15, 28, 122).

3.2. Les paramètres de la production de gaz *in vitro*

3.2.1. Production de gaz à partir de la fraction insoluble

Les paramètres de la fermentation des différents substrats, déduits à partir du modèle exponentiel de Mc Donald et Ørskov (115) sont également mentionnés dans le tableau 7. On constate que les palmes sèches et *Aristida plumosa* donnent des valeurs négatives du facteur (a) : -3,84 ml/200mg de MS et -1,18 ml/200mg de MS, respectivement. Alors qu'avec *Astragalus gombiformis* et le foin de vesce-avoine, les valeurs obtenues de (a) sont positives: 1,94 ml/200mg de MS, 4,09 ml/200mg de MS, respectivement. Une constatation semblable est observée pour des légumineuses fourragères du sub-Sahara, riches en composés phénoliques et qui engendrent des valeurs de (a) négatives situées entre -0,8 et -2,1 ml/200mg de MS (40). De même, *Atriplex nummularia* (plante méditerranéenne ayant un taux de tanins identique à celui d'*Astragalus gombiformis* donne une valeur de (a) correspondant à -2,6 ml/200mg de MS (28). *Acacia nubica* se distingue également par une valeur très faible soit : -9,7 ml/200mg de MS (2). *Quercus cerris* induit similairement une valeur positive de (a) (33). Le foin de vesce-avoine donne aussi lieu à une valeur positive de (a), la moyenne de (a) pour 11 types de foin de vesce-avoine correspond à 32,5 ml/200mg de MS (53). D'après plusieurs auteurs, une valeur négative de (a) est la conséquence de l'existence d'une phase de latence durant laquelle les microorganismes s'attachent et colonisent les particules alimentaires avant qu'aucune dégradation ne soit détectable (6), cette situation pourrait également indiquée la difficulté du microbiote ruminal à dégrader ces deux substrats et la nécessité d'un temps d'adaptation pour qu'il entame la dégradation des substrats.

Cette phase de latence serait due aux composés phénoliques dont la présence prolonge la phase de latence de plusieurs bactéries ruminales, c'est le cas de *Streptococcus gallolyticus* dont la croissance sur milieu liquide, en présence de tanins, se caractérise par une longue phase de latence et une faible vitesse de croissance (113). Les tanins peuvent également perturber l'adhésion des microorganismes aux particules alimentaires (83). Ainsi les tanins condensés, extraits d'une légumineuse tropicale, *Lotus corniculatus*, provoquent le détachement de *Fibrobacter succinogenes* S85 (principale bactéries cellulolytique ruminale) du papier filtre colonisé après 30 minutes d'exposition (95).

Malgré sa faible teneur en tanins, *Aristida plumosa* donne une valeur de (a) plus importante que celle enregistrée pour les palmes sèches qui sont nettement plus riches en tanins. Ceci peut être expliqué par la nature des tanins que renferme *Aristida plumosa*. En effet, la structure, le poids moléculaire et le degré de polymérisation des tanins conditionnent leur activité biologique (83, 97, 123). *Astragalus gombiformis* produit le plus grand volume de gaz à partir de la fraction soluble (a), probablement en raison de sa richesse en protéines libres (CPP nulle) et solubles, et

dont la fermentation se traduit par une production de gaz. Des résultats semblables ont été rapportés par plusieurs auteurs qui notent des valeurs positives de (a) pour des légumineuses fourragères riches en tanins (28, 33, 45, 66).

3.2.2. Production de gaz à partir de la fraction insoluble

Le volume de gaz produit par la fraction insoluble mais potentiellement fermentescible (b) est relativement élevé pour tous les fourrages (Tableau 7). Seules les palmes sèches se distinguent par une valeur inférieure. Le foin de vesce-avoine exprime une deuxième fois sa supériorité en induisant la plus grande valeur de (b) (37,56 ml/200mg de MS). Des valeurs intermédiaires sont enregistrées pour *Aristida plumosa* et *Astragalus gombiformis*, soit 34,09 ml/200mg de MS et 33,34 ml/200mg de MS, respectivement. Les palmes sèches produisent à peine 17,34 ml/200mg de MS. Des valeurs de (b), proches des nôtres, comprises entre 30,4 ml/200mg de MS et 36,3 ml/200mg ont été rapportées pour des plantes désertiques ayant des taux de tanins voisins des nôtres (2). Toutefois, plusieurs auteurs notent des valeurs souvent plus élevées (11, 33). Ces résultats peuvent être attribués à l'action des tanins sur la dégradation des fibres dont dépend (b). En effet, les tanins peuvent réduire la digestibilité des fibres en formant des complexes avec la matière lignocellulosique qui empêchent l'adhésion des microorganismes (97), ils inhiberaient aussi les enzymes impliquées dans leur dégradation ou directement les bactéries cellulolytiques (23, 61). Plusieurs études ont montré l'effet inhibiteur qu'exercent ces substances sur les enzymes extracellulaires sécrétées par les bactéries. Ainsi l'activité de l'endoglucanase de *Fibrobacter succinogenes* (principale bactérie cellulolytique ruminale) est inhibée *in vitro* par les tanins condensés de *Lotus corniculatus*. Les tanins affectent la perméabilité de la paroi bactérienne en agissant sur les membranes cellulaires des bactéries (75). Leur effet antimicrobien peut être dû à leur liaison aux protéines des pores de la paroi cellulaire, altérant de ce fait les mécanismes de transport de nombreux substrats essentiels tels que le glucose, les acides aminés et l'ammoniac. Les tanins de faible poids moléculaire peuvent aussi pénétrer à travers les pores de la paroi cellulaire externe et inactiver les perméases du périplasma impliquées dans le transport des acides aminés et des glucides (75). Ils peuvent également se lier aux ions et perturber l'absorption des oligo-éléments (soufre et phosphore) indispensables à la croissance des bactéries (75). En plus de leur richesse en composés phénoliques, les palmes sèches ont un contenu élevé en NDF (15, 22, 27, 117, 122) c'est pourquoi elles produisent peu de gaz à partir de la fraction insoluble (b)

3.2.3. Vitesse de la production de gaz à partir de la fraction insoluble

La fraction insoluble des substrats fermente avec des vitesses relativement différentes (tableau 7). *Astragalus gombiformis* et les palmes sèches sont les plus rapidement dégradées avec $8,22 \text{ h}^{-1}$ et $7,67 \text{ h}^{-1}$, respectivement. Ensuite vient le foin de vesce-avoine avec $5,72 \text{ h}^{-1}$. *Aristida plumosa* est la plus lentement dégradée avec une vitesse de $4,97 \text{ h}^{-1}$. La vitesse de production de gaz agit sur l'ingestion des aliments car elle affecte la vitesse de passage des particules alimentaires dans le rumen (66). Elle dépend de la nature du substrat et plus précisément des fibres, soit la fraction insoluble. Ces vitesses sont relativement élevées et concordent avec les valeurs obtenues par plusieurs auteurs travaillant sur des plantes de zones arides riches en tanins (2, 11). Toutefois, pour les plantes tannifères, la plus part des valeurs de (c) rapportées sont généralement faibles (9, 40, 108). En dépit de leur richesse en composés phénoliques, les vitesses de fermentation que montrent *Astragalus gombiformis* et les palmes sèches ne semblent pas être affectées par les tanins. En effet, plusieurs auteurs indiquent l'absence de corrélation entre la vitesse de production de gaz et le taux de tanins (45, 66, 94, 108).

3.3. Effet du PEG sur le volume total de la production de gaz *in vitro*

L'addition de PEG a un effet significatif sur la production de gaz ($p < 0,001$). Le PEG est un polymère synthétique possédant une grande affinité pour les tanins, il les rend inertes par la formation de complexes PEG-tanins (88, 125). Il a également la capacité de prévenir la formation de complexes protéines-tanins (25, 125) et de libérer ces complexes déjà présents dans le milieu (33, 123). En raison de sa grande affinité pour les tanins, le PEG est utilisé dans le but de discriminer leur effet négatif sur la fermentation ruminale et d'améliorer les performances animales vis à vis des fourrages riches en tanins (116, 125). D'après les courbes de cinétique (Figure.5), il ressort que le PEG améliore la production de gaz de tous les fourrages. Le volume de gaz augmente de 26%, 9%, 7% et 4% pour les palmes sèches, le foin de vesce-avoine, *Astragalus gombiformis* et *Aristida plumosa*, respectivement. Ces résultats montrent que les substrats se comportent de manière différente vis à vis du PEG. Cette variabilité peut être interprétée par l'hétérogénéité de la composition en tanins. Ainsi, l'amplitude de la réponse au traitement est dépendante de la concentration et de l'activité biologique des tanins contenus dans chaque plante (108). Pour les palmes sèches, ce résultat indique que ces tanins réduisent significativement la production de gaz : l'addition de PEG résulte en une augmentation substantielle (26%) dans la production de gaz parce qu'elles sont les plus riches en composés phénoliques (spécialement les TCE) ayant une grande capacité de précipitation des protéines (5,54% de MS). Ceci montre bien que les tanins, présents dans la composition chimique des

substrats, diminuent la production de gaz et confirme l'affinité de fixation du PEG aux sites des tanins sur lesquels se fixent habituellement les protéines, cette situation les rend ensuite inaccessibles aux microorganismes et aux diverses activités métaboliques (33, 129). La fixation du PEG aux sites où devraient se fixer les protéines libère ces dernières et les rend utilisables par le microbiote ruminal. Par conséquent, les nutriments deviennent disponibles (azote) et la dégradabilité des substrats est améliorée et se traduit par une augmentation dans la production de gaz (129). La quasi totalité des travaux réalisés sur les fourrages contenant des tanins montre que le PEG améliore la production de gaz. Celle-ci augmente en moyenne de 20% pour quelques plantes herbacées tropicales (50), un incrément de 22%, 71% et 211% été enregistré pour *Acacia albida*, *Acacia cyanophylla* et *Calliandra calothyrsus*, respectivement (48), une élévation autour de 20% est également constaté pour *Calliandra calothyrsus* (129). Une tendance identique est observée par plusieurs auteurs travaillant toujours sur des fourrages tannifères (18, 33, 47, 49, 94, 123, 125, 135). De même qu'une forte corrélation négative est rapportée entre la production de gaz et la concentration en tanins (45, 108).

L'addition de PEG induit une augmentation marquée dans la production d'ammoniac (96). Ceci a pour effet de favoriser la dégradation des fibres. En effet, l'ammoniac a une influence positive et proportionnellement croissante sur la cellulolyse car il constitue la principale source d'azote pour la plupart des souches bactériennes cellulolytiques (42, 49). En dépit de leurs concentrations voisines en tanins (faibles), l'effet du PEG sur la production de gaz est plus important pour le foin de vesce-avoine (incrément = 9%) que pour *Aristida plumosa* (incrément = 4%). Ainsi, les tanins du foin de vesce-avoine paraissent plus actifs car leur neutralisation par le PEG donne lieu à une augmentation plus élevée de la production de gaz. Un résultat analogue est rapporté pour le foin dont les tanins se montrent plus actifs que ceux de *Cajanus cajan* (légumineuse tropicale ayant un taux de tanins > 0,8% de MS) (135). Une propension similaire est observée pour *Astragalus gombiformis* dont le taux de tanins est nettement supérieur. Ces résultats suggèrent que les tanins contenus dans cette plante s'incrustent plutôt aux glucides des parois cellulaires, les rendant ainsi moins accessibles aux enzymes, rendant nulle sa capacité de précipitation des protéines.

En inhibant les tanins, le PEG met en évidence leur effet biologique sur la digestion. La différence observée entre les volumes de gaz, en présence et en absence de PEG, indique le taux de protéines protégées par les tanins (49).

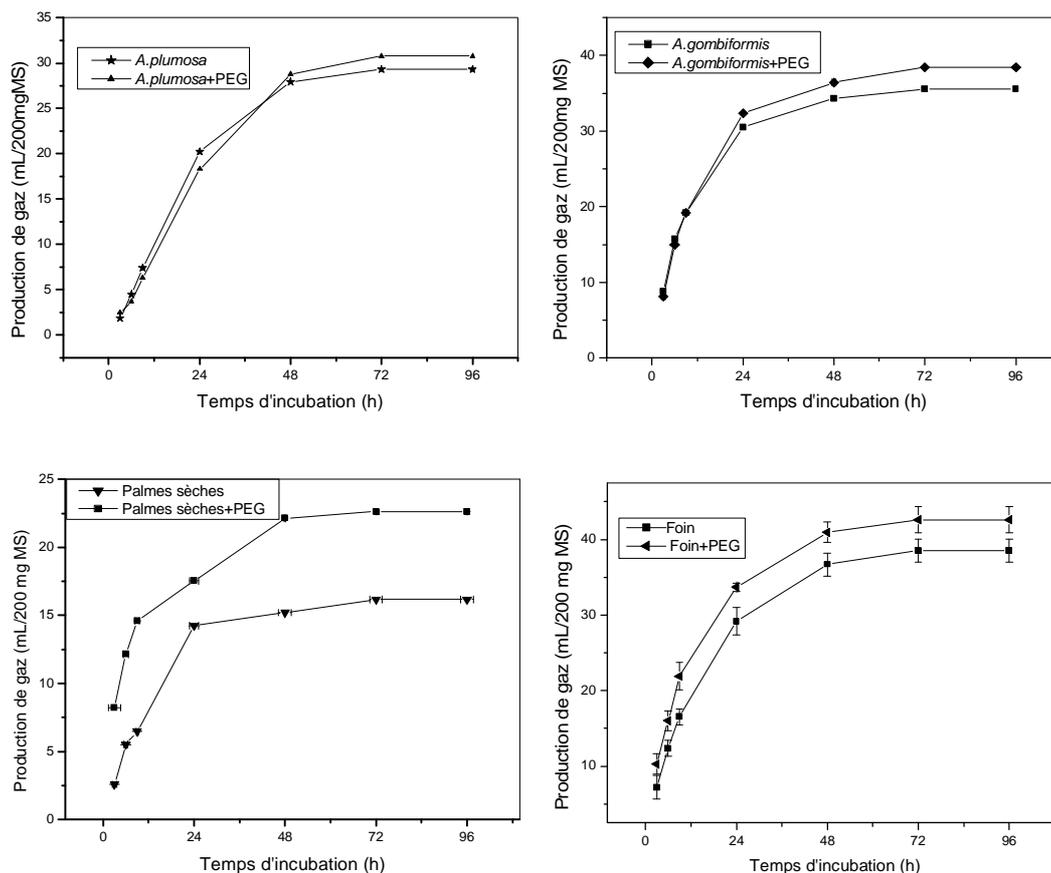


Figure 5. Cinétique de production de gaz des différents substrats en présence et en absence de PEG

3.4. Effet du PEG sur les paramètres de la production de gaz *in vitro*

Le PEG a un effet relativement positif sur les paramètres de la production de gaz *in vitro*. Dans tous les fourrages, il augmente peu la production de gaz à partir de la fraction insoluble (b) mais il n'agit pas significativement sur la production de gaz à partir de la fraction soluble (a) et sur la vitesse de production de gaz (c). Cependant, les palmes sèches font exception et la valeur de (a) augmente de 7,62 ml/200mg de MS (Tableau. 7). La richesse des palmes sèches en sucres totaux solubles, aisément fermentescibles par le microbiote ruminal, peut indiquer l'effet préjudiciable des tanins, supprimé par l'addition du PEG, sur les microorganismes du rumen responsables de la fermentation de ce type de nutriments. Ainsi, certains auteurs indiquent que l'effet du PEG est exclusivement significatif sur la production de gaz à partir de la fraction insoluble (b) contrairement à la production de gaz à partir de la fraction soluble (a) et à la vitesse (c) (33). Cependant, d'autres auteurs notent un effet significatif du PEG sur tous les paramètres de la production de gaz (a, b et c) (97), ou seulement sur les paramètres (a) et (b) (6). Les différences observées par ces auteurs sont probablement dues à l'action des tanins et/ou à la

paroi végétale. En effet, les paramètres caractéristiques de la production de gaz dépendent du taux et de l'activité biologique des tanins vis à vis des nutriments et du microbiote ruminal, de la proportion des fibres et des protéines précipitées par les tanins et de la qualité et la quantité de la fraction pariétale (7, 33).

Les changements dans la production de gaz et de ces paramètres caractéristiques suite à l'addition du PEG représentent en totalité l'effet biologique qu'exerce les tanins sur la fermentation dans le rumen.

Tableau 8: Effet du polyéthylène glycol sur la digestibilité de la matière sèche (DMS), la digestibilité de la matière organique (DMO), la biomasse microbienne (BMM) et le facteur de partition (PF)

Familles	Espèces	DMS (%)
<i>Poaceae</i>	<i>Aristida plumose.</i>	42.72
	<i>Aristida plumosa.</i>	49.82
	. +PEG	
	<i>Astragalus gombiformis</i>	40.15
	<i>Astragalus gombiformis</i> + PEG	69.00
Sous-produits	Palmes sèches	44.01
	Palmes sèches + PEG	63.40
Standard	Foin de vesce-avoine	50.90
	Foin de vesce-avoine + PEG	60.09
SEM		1,53
Niveau de signifiacnce		
Fourrage		***
PEG		***
Fourrage X PEG		***
DMO (%)	BMM (%)	PF (mg/ml)
41.13	111.97	5.82
44.38	102.07	5.12

26.83	99.47	2.56
51.73	22.00	3.47
39.65	129.6	7.20
59.72	44.93	6.15
56.44	43.43	5.48
60.01	34.93	5.28
1,88	7,50	0,53
***	***	***
***	***	NS
***	***	NS

SEM : erreur standard des moyennes, NS : non significatif, *** : $p < 0,001$.

4. Digestibilité de la matière sèche

La digestibilité de la matière sèche (DMS) varie significativement ($p < 0,001$) entre les différents fourrages. La plus grande valeur est enregistrée pour le foin de vesce-avoine, soit : 50,90%, suivi des palmes sèches avec une valeur de 44,01%. Un pourcentage moindre caractérise *Aristida plumosa* et *Astragalus gombiformis* avec 42,72% et 26,6%, respectivement (Tableau. 8). On remarque que la DMS est plus élevée dans les espèces qui contiennent un faible taux de tanins (foin de vesce-avoine et *Aristida plumosa*) par rapport à celles qui renferment un taux supérieur (*Astragalus gombiformis*). Ceci confirme l'effet inhibiteur qu'exercent les composés phénoliques vis à vis des protéines et des glucides. En effet, il existe une corrélation négative entre la DMS et le taux de tanins (7, 125). Cependant, les palmes sèches se distinguent avec une DMS plus grande que celle d'*Aristida plumosa* et du foin de vesce avoine, ce résultat est probablement dû à la teneur en fibres de chacune des plantes (NDF 77,05% contre 71,1%). En effet, la qualité et la quantité des fibres pariétales jouent un rôle important dans la DMS. Ainsi la lignification de la paroi végétale apparaît comme étant une des principales contraintes à influencer la DMS et son impact est aussi important que celui des tanins (7, 8, 15, 108, 125).

L'addition de PEG augmente significativement la DMS dans tous les fourrages. On note une augmentation de 28,85% pour *Astragalus gombiformis*, suivi des palmes sèches avec un incrément de 19,39%. Ensuite, viennent le foin de vesce avoine et *Aristida plumosa* avec une augmentation de 9,19% et 7,1%, respectivement (Figure. 6). En effet, le PEG permet de mitiger l'activité antinutritionnelle des tanins. De ce fait, une augmentation d'environ 17,75% est

constatée pour *Calliandra calothyrsus* et pour *Prosopis cineraria* (21, 125). En se complexant aux tanins, le PEG permet de libérer la matière sèche avec tous les nutriments qu'elle contient, qui est par la suite devenue disponible au microbiote ruminal d'où l'augmentation attendue de la DMS.

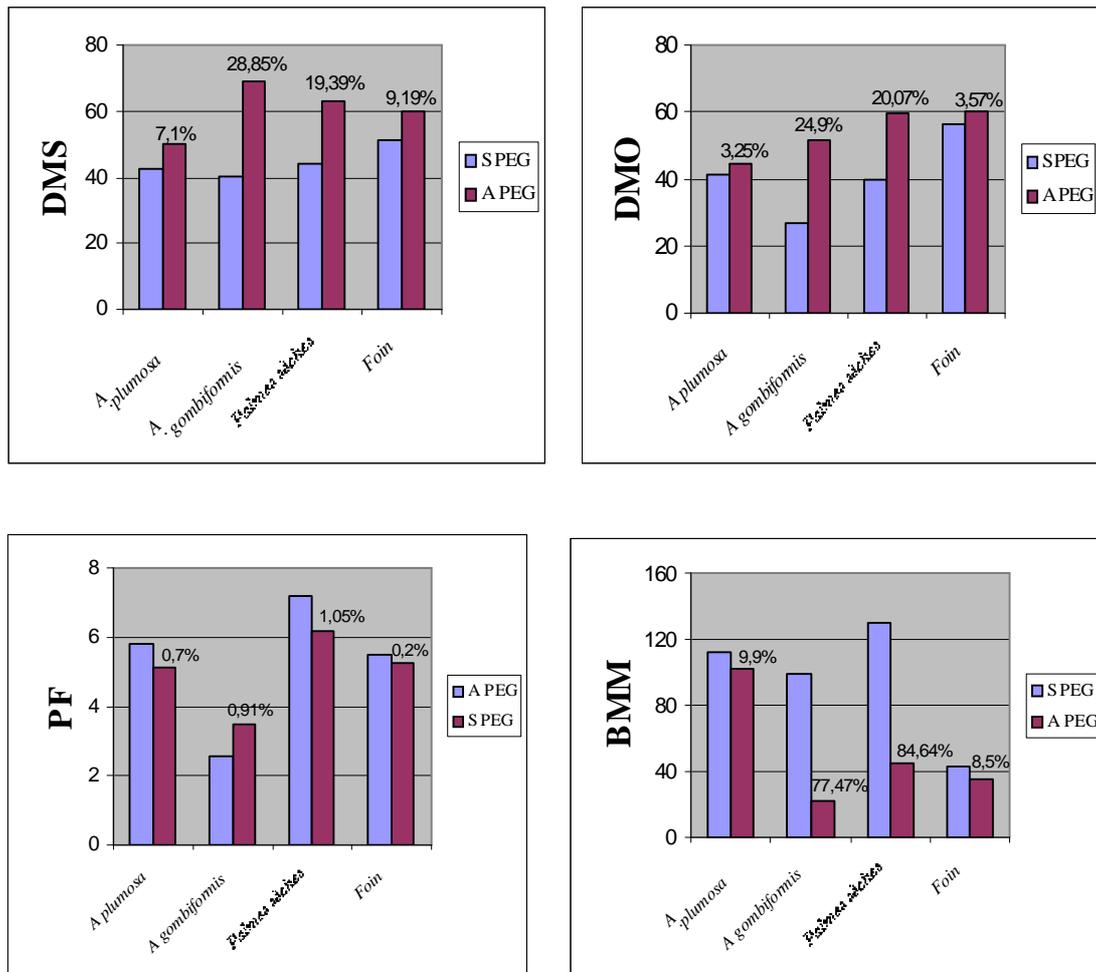


Figure 6 : Histogrammes représentatifs de la DMS, DMO, BMM et PF en présence et en absence de PEG.

5. Digestibilité de la matière organique

La digestibilité de la matière organique (DMO) est variable à travers les différentes plantes examinées (Tableau. 8). En absence de PEG, le foin de vesce-avoine détient la plus grande DMO (56,44%). *Aristida plumosa* et les palmes sèches se caractérisent par une DMO intermédiaire : 41,13% et 39,65%, respectivement. La plus faible DMO est observée pour *Astragalus gombiformis* (26,83%). Comme pour la DMS, les substrats riches en tanins sont les plus affectés, en effet plusieurs auteurs signalent une corrélation négative entre la DMO et les tanins (45, 67, 125).

En présence de PEG, la DMO augmente pour tous les substrats, l'incrément est de 24,9%, 20,07%, 3,57% et 3,25% pour *Astragalus gombiformis*, les palmes sèches, le foin de vesce-avoine et *Aristida plumosa*, respectivement (Figure. 6). Ces résultats concordent avec les observations rapportées par plusieurs auteurs qui indiquent que la DMO augmente toujours en présence de PEG (65, 116), de ce fait la DMO de *Calliandra calothyrsus*, qui est généralement située entre 40 et 56% en absence de PEG, atteint les 65% en sa présence (129). Les valeurs obtenues montrent que les tanins affectent négativement la DMO des fourrages avec des degrés différents. En effet, l'utilisation optimale de la matière organique (en particulier les protéines) contenue dans les fourrages est limitée par une concentration élevée en tanins et en phénols. Ces derniers interfèrent avec la digestibilité des nutriments en formant avec eux des complexes insolubles et non fermentescibles par le microbiote ruminal, réduisant par conséquent leur disponibilité (123). Le PEG est un bon indicateur de l'antagonisme qu'exercent les tanins vis à vis de la DMO. Plusieurs auteurs ont montré que le PEG peut être ajouté aux plantes tannifères, dans les systèmes de fermentation *in vitro*, pour démontrer l'activité biologique et l'importance nutritionnelle des tanins dans la DMO (49, 88, 96). Il permet parallèlement de mesurer le potentiel nutritif de ces fourrages et la faible dégradation des tanins (123, 125). En inhibant l'activité des tanins, il permet la réversion de leurs effets adverses sur la digestibilité et la récupération de la matière organique (protéines et fibres) liée à ses molécules. Les différentes réponses au traitement avec PEG sont probablement dues à plusieurs facteurs : le taux de tanins contenus dans les substrats, la structure chimique, l'interaction structure-activité biologique des tanins et le taux de protéines de la ration (129). Les différentes réponses positives dans la DMO dues au traitement avec PEG peuvent être liées à la stéréochimie et à l'activité antinutritionnelle des tanins (38, 123, 124).

6. Production de biomasse microbienne

La production de biomasse microbienne (BMM) est significativement différente pour chaque substrat (Tableau. 8). La plus grande valeur caractérise les palmes sèches (129,6%). *Aristida plumosa* et *Astragalus gombiformis* ont des valeurs intermédiaires (111,97% et 99,47 %,

respectivement). Le foin de vesce-avoine se distingue par la valeur la plus faible (43,43 %). Cette variation est imputable aux différentes substances antinutritionnelles (saponines et tanins) que renferme chaque plante ainsi qu'à leur éventuelle interaction. En effet, les saponines sont considérées comme des agents naturels de défaunation car elles éliminent les protozoaires du rumen, en particulier les ciliés (les holotriches et les entodiniomorphes). D'où l'augmentation du nombre de bactéries. Ainsi, le nombre de bactéries augmente lorsque les feuilles de *Sesbania sesban* (riche en saponines) sont introduites dans l'alimentation des ruminants, probablement comme conséquence à la suppression des protozoaires (109), une tendance identique est constatée avec les saponines extraites de *Yucca schidigera*, ces dernières n'ont aucun effet sur les bactéries cellulolytiques ruminales (132). Ces observations peuvent servir de facteurs explicatifs pour les grandes valeurs de la BMM observées dans le cas des palmes sèches et d'*Aristida plumosa* (riche en saponines). Les tanins ont également une activité anti-protozoaires qui augmente l'efficacité de la protéogenèse microbienne dans le rumen. (49, 88). Des études récentes affirment qu'une concentration modérée en tanins réduit les bactériophages, eux mêmes responsables de la diminution des bactéries (49, 68).

L'addition de PEG a un effet négatif sur la production de BMM. Contrairement à la DMO, on note une réduction significative de la BMM. Cette dernière diminue de 84,67%, 77,47%, 9,90% et 8,5% pour les palmes sèches, *Astragalus gombiformis*, *Aristida plumosa* et le foin de vesce-avoine, respectivement (Figure. 6). Cette situation rend probablement compte du bouleversement de l'équilibre dans la population du microbiote ruminal. En effet, l'importante baisse de la biomasse microbienne indique que les populations dominantes ont probablement été éliminées en présence des complexes PEG-tanins. Parallèlement, il semble que des populations microbiennes sous dominantes ont émergé en présence des mêmes complexes et c'est leur activité métabolique qui serait responsable de l'accroissement de la production de gaz et de la digestibilité constaté.

En se liant au tanins, le PEG inhibe leur effet lytique vis à vis des protozoaires qui croissent rapidement en nombre et accentuent leur activité destructrice vis à vis des bactéries qui constituent la majorité de la population du microbiote ruminal (10^{10} à 10^{11} cellules/ml), d'où la baisse significative de la BMM. En effet, les protozoaires phagocytent de grandes quantités de bactéries jusqu'à 200 cellules/minute (41).

Les saponines agissent également sur les champignons *Neocallimastix frontalis* et *Piromyces rhizinflata* sont les plus sensibles aux saponines extraites de *Yucca schidigera* (136). Les champignons du rumen semblent jouer un rôle important dans la digestion des fibres hautement

récalcitrantes parce qu'ils provoquent une rupture physique et enzymatique des structures cellulaires de la paroi végétale (114).

Bien que la teneur en azote ammoniacal soit élevée en présence de PEG, la BMM reste très faible, probablement à cause d'un manque de synchronisation entre la libération de l'azote quand le PEG est présent et la fermentation des glucides pariétaux qui aurait pu apporter de l'énergie et favoriser la croissance et la multiplication des microorganismes (47, 129). C'est pourquoi une concentration en tanins $\leq 4\%$ de MS est considérée bénéfique parce qu'elle protège les protéines d'une dégradation excessive et incompatible avec l'incorporation des acides aminés essentiels dans les protéines microbiennes (75). Le même résultat est remarqué pour *Calliandra calothyrsus* dont l'incubation en présence de PEG diminue la BMM de 62% (136). Une constatation comparable est observée pour quelques plantes tannifères tropicales (49, 51, 111). Contrairement à ces auteurs, certains notent une augmentation significative de la BMM, en présence de PEG (47), c'est le cas de *Calliandra calothyrsus* et *Gliricidia sepium* dont les valeurs de BMM augmentent par 44,2% et 96,7%, respectivement (125). Ces différences sont éventuellement attribuables à la concentration et à l'activité biologique des composés phénoliques. De plus, l'éventuelle présence de complexes protéines-tanins dans le résidu rend l'approche gravimétrique de quantification de la masse microbienne redondante (29, 86). Malgré la forte baisse de la BMM, la production de gaz, la DMS et la DMO restent élevées en présence de PEG. Ce dernier fixerait les tanins et libérerait les protéines qui auraient permis aux microorganismes, bien que peu nombreux, d'optimiser la digestion de la matière organique et à réaliser leur synthèse protéique. Cette situation dénote une plus grande efficacité du microbiote ruminal (129). Par conséquent, une teneur élevée en tanins altère la valeur nutritive des fourrages et peut être responsable de leur utilisation limitée par le microbiote ruminal. En revanche, le manque de tanins (inhibés par le PEG) laisse les protéines sans protection et les bactéries ruminales ne bénéficient pas de l'ammoniac issu de leur dégradation.

7. Le facteur de partition

Le facteur de partition (PF) est un paramètre qui exprime la répartition de la matière organique réellement dégradée entre la production de biomasse microbienne et la production de gaz. Ce paramètre, calculé comme étant le substrat réellement dégradé, nécessaire pour produire 1 ml de gaz (29), est compris, en absence de PEG, entre 2,56 mg/ml et 7,20 mg/ml (Tableau. 8). Ces valeurs dépassent légèrement la gamme théorique de PF établie par Blümmel et *al* (29) et qui s'étend entre 2,75 mg/ml et 4,41 mg/ml. Par conséquent, toutes les valeurs situées au-dessus ou au-dessous de cette gamme devraient être évaluées d'un oeil critique. Cependant, ces valeurs

sont quand même considérées normales car les aliments riches en tanins se caractérisent par un PF qui oscille entre 3,1mg/ml et 16,1 mg/ml (49, 129). Les résultats obtenus coïncident avec ceux rapportés par plusieurs auteurs qui discernent des valeurs de PF comprises entre 4,7 mg/ml et 16,1 mg/ml pour des légumineuses herbacées riches en tanins (49), d'autres auteurs trouvent des valeurs de PF variables sur un intervalle de 4,94 mg/ml et 11,05 mg/ml, pour des plantes tannifères (18), une valeur de PF correspondant à 6,81 mg/ml est signalée pour *Calliandra calothyrsus* (129). Les valeurs élevées de PF pourraient être dues à plusieurs éléments: 1/ la solubilisation des tanins qui ne contribue ni à la production de gaz ni à la production d'énergie mais contribue plutôt à la perte de matière sèche, 2/ à la fraction soluble cellulaire qui contribue à la perte de matière sèche mais pas à la production de gaz parce que la production de gaz est inhibée par les tanins ou à la combinaison de ces deux facteurs. De plus, la présence hypothétique de complexes protéines-tanins insolubles, dans le résidu non dégradé, mène à une sous-estimation de la matière organique dégradée qui fait baisser les valeurs du PF. Un aliment présentant une valeur de PF supérieure signifie que la matière sèche dégradée est d'autant plus incorporée dans la production de la biomasse microbienne, c'est à dire que l'efficacité de synthèse des protéines microbiennes est élevée. Sur cette base, les substrats dont le profil fermentaire aboutit essentiellement à une production intense de biomasse sont les palmes sèches et *Aristida plumosa*, alors que ceux dont la fermentation s'oriente essentiellement vers une production de gaz (acides gras volatils) sont le foin de vesce-avoine et *Astragalus gombiformis*. Selon Blümmel et al (29), les substrats dont les valeurs de PF sont élevés sont considérés comme de bon fourrages, sur le plan nutritif .

L'addition de PEG ne diminue pas le PF d'une manière très importante, les valeurs varient entre 3,47 mg/ml et 6,15 mg/ml (Tableau. 8). A l'inverse des résultats obtenus par plusieurs auteurs qui trouvent que le PEG a un effet significatif sur le PF dont les valeurs diminuent (18, 49, 129), la fixation du PEG aux sites où devraient se fixer les protéines libère ces dernières et les rend utilisables par les microorganismes améliorant ainsi la dégradabilité des fourrages, d'où la baisse des valeurs de PF et la fermentation aboutit donc principalement à la production de gaz. Ceci indique que l'addition de PEG induit une augmentation de la production de gaz plutôt que de biomasse. La différence observée peut être expliquée par la concentration modérée en tanins de nos substrats.

**Discussion
et
conclusion générale**

Notre travail avait pour objectif de mettre en évidence l'effet antinutritionnel des composés phénoliques sur les aptitudes fermentaires du microbiote ruminal d'ovins. Dans cette optique nous avons entrepris l'étude de la fermentescibilité de deux plantes fourragères des zones arides, utilisées classiquement dans l'alimentation du bétail : *Aristida plumosa* (graminée) et *Astragalus gombiformis* (légumineuse). S'ajoute à ces deux fourrages un troisième type de substrat: les palmes sèches qui sont un sous produit du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*), ce dernier est un arbre caractéristique des oasis sahariennes où sa culture est très développée et laisse une masse importante de sous-produits dont la composition est mal connue. L'étude de ces substrats est menée comparativement à un substrat standard qui est le foin de vesce-avoine. Dans ce cadre, la technique utilisée est celle de la production de gaz *in vitro* de Menke et al (100). Nous avons spécifiquement adapté cette technique pour l'étude de la fermentation des nutriments en présence et en absence d'un agent chélateur des tanins qui est le polyéthylène glycol. Cette technique se montre fiable et précise et permet de bien appréhender les effets des facteurs antinutritionnels. De plus, elle permet de mieux cerner les interactions nutriments- antinutriments et l'interaction des facteurs antinutritionnels entre eux.

La première phase consiste à évaluer la fermentescibilité des substrats bruts, en associant différents paramètres pour la compréhension du déroulement du processus fermentaire. L'analyse quantitative de la production de gaz fermentaire révèle que les palmes sèches sont d'une mauvaise valeur alimentaire car elles sont les moins dégradables par le microbiote ruminal. Cela pourrait s'expliquer par la composition chimique de ce substrat. En effet, les palmes sèches sont riches en composés phénoliques connus par leur action antagoniste vis à vis des nutriments (précipitation des protéines) et du métabolisme microbien. Par ailleurs, il semble que les palmes sèches soient très riches en parois totales, notamment en fraction lignocellulosique non dégradable par le microbiote ruminal dont la lignine qui est un hétéropolymère phénolique qui limite la dégradation des fibres en empêchant l'adhésion des microorganismes aux parois cellulaires. Le foin de vesce-avoine est le substrat le mieux métabolisé, probablement à cause de sa faible teneur en phénols et en tanins et de l'équilibre protéines-énergie qu'il offre en raison de sa nature hybride. Des valeurs de fermentescibilité intermédiaires caractérisent *Astragalus gombiformis* et *Aristida plumosa*. Malgré sa faible concentration en composés phénoliques, *Aristida plumosa* produit un volume de gaz inférieur

par rapport à *Astragalus gombiformis* dont la teneur en composés phénoliques est plus élevée. Cette situation est probablement assimilable à l'activité biologique des tanins, liée principalement à leur structure chimique ou à la présence d'un deuxième type de facteurs antinutritionnels représenté par les saponines.

Les valeurs de la digestibilité de la matière sèche et de la matière organique concordent partiellement avec ceux de la production de gaz *in vitro*. Le foin de vesce-avoine donne lieu aux meilleurs résultats. Les palmes sèches et *Aristida plumosa* montrent des digestibilités moyennes. Par contre, *Astragalus gombiformis* présente les faibles valeurs. Cela pourrait s'expliquer par la différence de composition chimique constatée entre les quatre fourrages. Cette dernière inclut spécialement les protéines, les composés pariétaux et les composés phénoliques. En effet, *Astragalus gombiformis* est riche en protéines sur lesquelles l'action inhibitrice des tanins est plus prononcée, induisant ainsi une faible digestibilité de la matière sèche et de la matière organique. Les palmes sèches et *Aristida plumosa* sont riches en composés pariétaux dont l'effet négatif, sur la digestibilité, s'ajoute à celui des tanins.

Les taux de biomasse microbienne sont relativement comparables entre les palmes sèches et *Aristida plumosa* mais sont plus élevés que ceux d'*Astragalus gombiformis* et du foin de vesce-avoine. Cette situation est probablement due à la présence simultanée de tanins et de saponines dont les effets se manifestent par une modulation de la biomasse microbienne, aussi bien sur le plan qualitatif que quantitatif. Les valeurs de la biomasse coïncident avec ceux du facteur de partition qui nous renseigne sur le partage de l'énergie libérée suite à la dégradation du substrat entre la production de gaz liée à celle des acides gras volatils et la synthèse des protéines microbiennes. Par conséquent, un accroissement dans le facteur de partition indiquerait plutôt une production élevée de biomasse microbienne que d'acides gras volatils.

L'addition de PEG a un effet positif sur la production de gaz *in vitro* et sur la digestibilité de la matière sèche et de la matière organique. Le PEG est un polymère synthétique qui possède une grande affinité pour les tanins. Il forme des complexes stables avec ces molécules et permet ainsi de prévenir la précipitation des protéines. Tous les fourrages répondent positivement à ce traitement, indiquant l'impact des composés phénoliques sur la digestibilité. On note une amélioration du pool gazeux accompagnée par une augmentation dans la digestibilité de la matière sèche et de la matière organique. La variation observée dans l'ampleur des réponses dépend du taux et de l'activité biologique des tanins. Par contre, l'addition de PEG exerce un effet négatif sur la production de biomasse, celle-ci diminue de manière significative pour tous les substrats. Cette tendance pourrait refléter l'effet bénéfique que peuvent exercer les tanins sur le microbiote ruminal.

L'utilisation du PEG a permis de mettre en évidence, à la fois, les effets néfastes et bénéfiques qu'exercent les tanins sur la valeur nutritive des plantes désertiques. Il s'avère aussi un bon indicateur du degré avec lequel les tanins affectent la fermentation ruminale. Les résultats obtenus nous ont permis de conclure que les fourrages natifs de zones arides renferment des taux variables de composés phénoliques (tanins) susceptibles de réduire leur valeur nutritive, limitant ainsi leur utilisation. On constate aussi que la réactivité de ce type de substances dépend de la qualité de la molécule plutôt que de la quantité. Les tanins peuvent également avoir un effet bénéfique sur le microbiote ruminal en le favorisant à optimiser la synthèse des protéines microbiennes. Il faut également souligner que les problèmes associés à l'alimentation animale ne sont pas uniquement dus aux composés phénoliques, d'autres facteurs peuvent intervenir significativement et influencer la digestibilité, réduisant en conséquences les performances animales.

Notre étude confirme, une nouvelle fois, que l'emploi du PEG combiné à la technique de production de gaz *in vitro* peut être un moyen simple et rapide pour une première détection des effets antinutritionnels des composés phénoliques. Cette méthode très sensible pourrait permettre également de sélectionner les fourrages aux taux de tanins faibles pour envisager leur incorporation dans les rations alimentaires, du fait de l'avantage agronomique qu'ils présentent par leur adaptation aux stress abiotiques et environnementaux du milieu.

Dans le but de progresser dans ce domaine, il est indispensable de définir la structure chimique des tanins et d'élucider le rapport structure-activité biologique, de déterminer le taux optimal de tanins qui permet l'enrobage des protéines diététiques afin de les protéger d'une dégradation intense dans le rumen et prévenir les pertes d'azote. D'autres études sont également nécessaires afin de détecter la présence éventuelle d'autres composés antinutritionnels.

Enfin, il semble important de conduire un complément d'études *in vivo* pour déterminer l'action biologique réelle des tanins sur les performances du microbiote ruminal et sur la convenance du polyéthylène glycol comme une bonne approche de détannification.

Références bibliographiques

1. **Abas I., Özpınar H., Kutaj H.C. and Kahraman R. 2005.** Determination of the Metabolizable Energy (ME) and Net Energy Lactation (NEL) Contents of Some Feed in the Marmara Region by *In vitro* Gas Technique. Turk. J. V.& Anim. Sci., 29 : 751-757.
2. **Abdulrazak S.A., Fujihara T., Ondiek J.K. and Ørskov E.R. 2000.** Nutritive evaluation of some Acacia tree leaves from Kenya. Animal Feed Science and Technology, 85 : 89-98.
3. **Adeniyi B.A. and Odufowora R.O. 2000.** *In vitro* antimicrobial properties of *Aspilia africana* (Compositae). African Journal of Biomedical Research, 2 (3) : 167 –170.
4. **Aganga A.A. and Adogla-bessa T. 1999.** Dry matter degradation, tannin and crude protein contents of some indigenous browse plants of Botswana. Arch. Zootec., 48 : 79-83.
5. **Aganga A.A. and Tshwenyane S.O. 2003.** Feeding Values and Anti-Nutritive Factors of Forage Tree Legumes. Pakistan Journal of Nutrition, 2 (3) : 170-177.
6. **Ahmed. M.M.M and El-Hag. F.M. 2004.** Degradation characteristics of some Sudanese forages and tree pods *in sacco* and gas production techniques. Small Ruminant Research, 54 : 147-159.
7. **Ammar H., Lopez S. and Gonzalez J.S. 2005.** Assessment of the digestibility of some Mediterranean shrubs by *in vitro* techniques. Animal Feed Science and Technology, 119 : 323-331.
8. **Ammar H., Lopez S., Gonzalez J.S., Ranilla M.J. 2004.** Seasonal variation in the chemical composition and *in vitro* digestibility of some Spanish leguminous shrubs species. Animal Feed Science and Technology, 115 : 327-340.
9. **Ammar H., López S. and González J.S. 2005.** Assessment of the digestibility of some Mediterranean shrubs by *in vitro* techniques. Animal Feed Science and Technology, 119 : 323 – 331.

- 10. AOAC, 1990.** In: S. Williams (Ed.), Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist International, 15th AOAC International, Arlington, Virginia, (USA).
- 11. Apori S.O., Castro F.B., Shand W.J. and Ørskov E.R. 1998.** Chemical composition, *in sacco* degradation and *in vitro* gas production of some Ghanaian browse plants. Animal Feed Science and Technology, 76 : 129-137.
- 12. Arhab R., Rira M., Aggoun M., Bousseboua H. and Daureau M. 2005.** Assessment of value of dried palm leaves: Influence of washing on tannins content and *in vitro* fermentation. 16^{ème} journées de biologie, Hammamet, Tunisie, du 20-23 Mars.
- 13. Arhab R., Rira M., Aggoun M., Bousseboua H. and Daureau M. 2005.** Prediction of nutritive value of dried palm leaves using *in vitro* and *in situ* measurements. 16^{ème} journées de biologie, Hammamet, Tunisie, du 20-23 Mars.
- 14. Arhab R., Rira M., Aggoun M., Bousseboua H. and Daureau M. 2005.** Contribution of both soluble and insoluble fraction of desert by products to their *in vitro* fermentation. 11th Seminar of the FAO-CIHIAM Sub-Network on sheep and goat nutrition, Catania (Italy), September, 8-10.
- 15. Arhab R., Bousseboua H. and Daureau M. 2005.** Degradation characteristics of some arid forages using *in sacco* technique. 11th Seminar of the FAO-CIHIAM Sub-Network on sheep and goat nutrition, Catania (Italy), September, 8-10.
- 16. Arhab R., Rira M., Aggoun M. and Bousseboua H. 2005.** Taxonomy and biochemical characterization of arid zones natives plants. 2^{ème} Atelier International de NAFRINET, Tébessa, 24-25 Septembre.
- 17. Arhab R., Dehimi A., Dib Y. and Bousseboua H. 2005.** Effect of the nature of substrates on its *in vitro* gas production kinetics using rumen fluid of slaughtered dromedary. Arab Universities Journal of Agricultural Sciences, 13 : 3. ISSN : 1110-2675.
- 18. Baba A.S.H., Castro F.B. and Ørskov E.R. 2002.** Partitioning of energy and degradability of browse plants *in vitro* and the implications of blocking the effects of tannin by the addition of polyethylene glycol. Animal Feed Science and Technology, 95 : 93-104.

- 19. Babayemi O.J. and Bamikole M.A. 2006.** Effects of *Tephrosia candida* DC Leaf and its Mixtures with Guinea Grass on *in vitro* Fermentation Changes as Feed for Ruminants in Nigeria Pakistan Journal of Nutrition 5 (1) : 14-18, ISSN 1680-5194.
- 20. Babayi H., Kolo I., Okogun J. I. and Ijah U. J. J. 2004.** The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. Biokemistri, 2(16) : 106-111.
- 21. Bhatta R., Shinde K., Vaithiyanathan S., Sankhyan S.K. and Verma D.L. 2002.** Effect of polyethylene glycol-6000 on nutrient intake, digestion and growth of kids browsing *Prosopis cineraria*. Animal Feed Science and Technology, 101 : 45–54.
- 22. Bahman. A.M., Topps J.H. and Rooke. J.A. 1997.** Use of date palm leaves in high concentrate diets for lactating Friesian and Holstein cows. Journal of Arid Environments, 35 : 141-146.
- 23. Barry T.N. and McNabb W.C. 1999.** The implication of condensed tannins on nutritive value of temperate forages fed to ruminants. Brit. J. Nutr., 81 : 263-272.
- 24. Barry T.N., Forss D.A., 1983.** The condensed tannin content of vegetative *Lotus pedunculatus*, its regulation by fertiliser application, and effect upon protein solubility. J.Sci. Food. Agric., 34 : 1047-1056.
- 25. Barry T.N., Manley T.R. and Duncan S.J. 1986.** The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep 4. Sites of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentration. British Journal of Nutrition, 55 : 123-37.
- 26. Barry T.N. and Manley T.R. 1984.** The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. British Journal of Nutrition, 51 : 493-504.

- 27. Belal I.E.H., Al-Jasser, Mustapha. I.A. and Al-Dosari M.N. 1999.** Evaluation of date-feed ingredients mixes. *Animal Feed Science and Technology*, 81 : 291-298.
- 28. Ben Salem. H., Nefzaoui. A. and Ben Salem. L. 2002.** Seep and goat preferences for Mediterranean fodder shrubs. Relationship with the nutritive characteristics. (anonyme).
- 29. Blümmel B., Makkar H.P.S. and Becker K. 1997.***In vitro* gas production: a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77 : 24 -34.
- 30. Boudry C., Buldgen A., Anciaux B., Ruizpena M. and Leterme P. 2004.** Mise au point d'une méthode de détermination *in vitro* du taux de fermentation des fibres dans le gros intestin du porc. *Proceeding de la Journée de Recherche Porcine*, 36 : 1-7.
- 31. Boukary-Mori H. 2000.** Etude de la dégradabilité de la matière sèche dans le rumen sur des coupes successives de *Panicum maximum* et des branchages de *Leucaena leucocephala* ainsi que sur divers fourrages tropicaux, par la technique des sachets en nylon. Mémoire de DES en gestion animale en milieu tropical, université de Liège (France).
- 32. Bousseboua H., Arhab A. and Rira M. 2005.** Effect of the substrates nature on their *in vitro* fermentation kinetics using rumen fluid of slaughtered dromedary as *inoculum*. *Algerian journal of arid areas*, 4 : 10-18.
- 33. Canbolat C., Kamalak A., Ozkose E., Ozkan C.O., Sahin M. and Karabay P. 2005.** Effect of polyethylene glycol on *in vitro* gas production, metabolizable energy and organic matter digestibility of *Quercus cerris* leaves. *Livestock Research for Rural Development*. 4 (17).
- 34. Cannas A.** www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/pos_effects.html - 6k -.
- 35. Cerrillo M.A. and Juárez R.A.S. 2004.** *In vitro* gas production parameters in Cacti and tree species commonly consumed by grazing goats in a semi arid region of North Mexico. *Livestock Research of Rural Development*, 4 (16).

- 36. Chehema A. 1988.** Contribution à l'étude quantitative et valeur alimentaire des sous-produits du palmier dattier chez le mouton et le dromadaire en zones arides. Thèse de Magister, Institut National Agronomique, EL Harrach.
- 37. Ciulel I. 1983.** Methodology for analysis of vegetable drugs. Roumania. pp1-26.
- 38. Dalzell S.A. and Kerven G.L. 1998.** A rapid method for the measurement of *Leucaena spp.* proanthocyanidins by the proanthocyanidin (butanol/HCl) assay. J. Sci. Food. Agric., 78 : 405–416.
- 39. Edeoga H.O., Okwu D. E. and Mbaebie B.O. 2005.** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 7(4) : 685-688.
- 40. El Hassen S.M., Lahlou Kassi A., Newbold C.J. and Wallace R.J. 2000.** Chemical composition and degradation characteristics of foliage of some African multipurpose trees. Animal Feed Science and Technology, 86 : 27-37.
- 41. Eugene M. 2002.** Effets de la défaunation de ruminants sur les performances de production, en fonction de la ration ingérée. Etude des variations de la protéosynthèse et de la cellulolyse microbienne ruminale. Thèse de doctorat. Institut National Agronomique. Paris, Grignon (France).
- 42. Fall-touré S., Traore E., N'diaye K., N'diaye S. and Seye M. 1997.** Utilisation des fruits de *Faidherbia albida* pour l'alimentation des bovins d'embouche paysanne dans le bassin arachidier au Sénégal. Live Research for Rural Development, 9 (5)
- 43. FAO/IAEA 2000.** Quantification of tannins in tree foliage. A Laboratory Manual. Website: <http://www.iaea.org/programmes/nafa/d3/index.html>.
- 44. Florence V.N., Ndlovu L.R. and Dzwela B.H. 1999.** Relationships between *in vitro* gas production characteristics, chemical composition and *in vivo* quality measures in goats fed tree fodder supplements. Small Ruminant Research, 31 : 117-126.

- 45. Frutos P., Hervás G., Ramos G., Giráldez F.J. and Mantecón A.R. 2002.** Condensed tannins content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. *Animal Feed Science and Technology*, 95 : 215-226.
- 46. Getachew G., De Peters E.J. and Robinson P.H. 2004.** *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminants feed. *California Agriculture*, 1 (58) : 54-58.
- 47. Getachew G., Makkar H.P.S and Becker K., 2001.** Method of polyethylene glycol application to tannin-containing browses to improve microbial fermentation and efficiency of microbial protein synthesis from tannin-containing browses. *Animal Feed Science and Technology*, 92 : 51-57.
- 48. Getachew G., Makkar H.P.S. and Becker K. 2000.** Tannins in tropical browses: Effects on *in vitro* microbial fermentation and microbial protein synthesis in media containing different amounts of nitrogen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3581-3588
- 49. Getachew G., Makkar H.P.S. and Becker K. 2000.** Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. *British Journal of Nutrition*, 84 : 73–83.
- 50. Getachew G., Makkar H.P.S. and Becker K. 2002.** Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. *Journal of Agricultural Science*, 139 : 341-352.
- 51. Getachew G., Makkar H.P.S and Becker K. 1998.** The *in vitro* gas coupled with ammonia nitrogen measurement for evaluation of nitrogen degradability in low quality roughages using incubation medium of different buffering capacity. *Journal of Food Science and Agriculture*, 77 : 87–95.
- 52. Hadjigeorgiou I.E., Gordon I.J and Milne J.A. 2003.** Comparative preference by sheep and goats for *Graminaeae* forages varying in chemical composition. *Small Ruminant Research*, 49 : 147-156.

- 53. Haj-Ayed M., Gonzalez J., Caballero R. and Alvir M.R. 2000.** Nutritive value of on-farm common vetch-oat hays. II. Ruminal degradability of dry matter and crude protein. *Ann. Zootech.*, 49 : 391-398.
- 54. Hagerman A.E. 1987.** Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *J. Chem. Ecol.*, 13 : 437–449.
- 55. Hagerman A.E. and Bulter L.G. 1991.** Tannins and lignins. In: Rosenthal, G., Berenbaum, M. R. (eds.). *Herbivores, their interactions with secondary plant metabolites*, 355-387. Academic Press, San Diego (USA).
- 56. Hagerman A.E., Riedl K.M. and Rice R.E. 1999.** Tannins as biological antioxidants. In: Gross, G.G., Hemingway, Yoshida, T. (Eds.), *Plant Polyphenols. 2. Chemistry, Biology, Pharmacology, Ecology*. Kluwer Academic Publishers/Plenum Press, Dordrecht/New York, 495–505.41 : 85–86.
- 57. Haslam E. 1998.** *Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action*. Cambridge University Press, Cambridge (UK).
- 58. Hedqvist H. 2004.** *Metabolism of Soluble Proteins by Rumen Microorganisms and the Influence of Condensed Tannins on Nitrogen Solubility and Degradation*. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala (Suweden).
- 59. Hoffmann E.M., Muetzell S. and Becker K. 2002.** A modified dot-blot method of protein determination applied in the tannin-protein precipitation assay to facilitate the evaluation of tannin activity in animal feeds. *British Journal of Nutrition*, 87 : 421–426.
- 60. Heil M., Baumann B., Andary C., Linsenmair K.E. and McKey D. 2002.** Extraction and quantification of “condensed tannins ” as a measure of plant anti-herbivore defence? Revisiting an old problem. *Naturwissenschaften*, 89 : 519 –524.
- 61. Hervás G., Frutos P., Giráldez F.J., Mantecón Á.R. and Álvarez Del Pino M.C. 2003.** Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 109 : 65-78.

- 62. Hostettmann K., Marston A., 1995.** Saponins. Cambridge University Press., Cambridge (UK).
- 63. Jimoh F.O. and Oladiji A.T. 2005.** Preliminary Studies on *Piliostigma thonningii* seeds: Proximate analysis, mineral composition and phytochemical screening. African Journal of Biotechnology, 12 (4) : 1439-1442.
- 64. Jones R.M., Meyer J.H.F., Bechaz M. and Stoltz M.A. 2000.** An approach to screening potential pasture species for condensed tannin activity. Animal Feed Science and Technology, 85 : 269-277.
- 65. Khababae K. and Van Ree T. 2001.** Tannins: Classification and Definition. Nat. Prod. Rep., 18 : 641–649.
- 66. Kamalak A., Canbolat O., Grubuz Y., Ozay O., Ozkan C.O. and Sakarya M. 2004.** Chemical composition and *in vitro* gas production characteristics of several tannin containing tree leaves. [Livestock Research for Rural Development](#), 16 (6).
- 67. Kamalak A. 2005.** Chemical composition and *in vitro* dry matter digestibility of leaves of *Vitis vinifera*. [Livestock Research for Rural Development](#), 17 (1).
- 68. Klieve A.V., Swain R.A. and Nolan J.V. 1996.** Bacteriophages in the rumen; types present, population size and implications for the efficiency of feed utilization. Proceedings of Australian Society of Animal Production, 21 : 92–94.
- 69. Krebs. G.L., Howard D.M., May D. and Van Houtert M. 2003.** The value of *Acacia saligna* as a source of fodder for ruminants. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. ISSN 1440-6845.
- 70. Kumar R. and Singh M. 1984.** Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 32 : 447-453.
- 71. Kumar R. 2003.** Anti-nutritional factor, the potential risks of toxicity and methods to alleviate them. www.Fao.org/DOCREP/0031T0632E10.htm.

- 72. Kumar R. and D'mello J.P.F. 1995.** Anti-nutritional factors in forage legumes. In: J.P.F. D'Mello and C. Devendra (eds), *Tropical Legumes in Animal Nutrition*, 95-133, Wallingford, Oxon: CAB International.
- 73. Kumar R. and Singh M. 1984.** Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 32 : 447-53.
- 74. Kumar R. and Vaithyanathan S. 1990.** Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 30 : 21-38.
- 75. Leinmüller E., Steingass H. and Menke K.H. 1991.** Tannins in Ruminant feed stuff. Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim (Germany).
- 76. Longuo H.F., Chelma A. and Ouled Belkher A. 1989.** Quelques aspects botaniques et nutritionnels des pâturages du dromadaire en Algérie. *Option Méditerranéennes, Série : Séminaire n.° 2* : 47-53.
- 77. López S., Carro M.D, Ganzález J.S and Ovejero F.J. 1998.** Comparison of different *in vitro* and *in situ* methods to estimate the extent and rate of degradation of hays in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, 73 : 99-113.
- 78. Laweler I. R., Foley W. J., Woodrow I. E. and Cork S. J. 1997.** The effects of elevated CO₂ atmospheres on the nutritional quality of Eucalyptus foliage and its interaction with soil nutrient and light availability. *Oecologia*, 109 : 59-68.
- 79. Le Houerou H.N. 1980.** Browse in Africa. In: *Proceeding of International Symposium International Livestock Centre for Africa (ILCA)*. Addis Ababa, 491(Ithiopia).
- 80. Lowery J. B., McSweeney C S. and Palmer B. 1996.** Changing perceptions of the effect of plant phenolics on nutrient supply in the ruminant. *Aust. J. Agric. Res.*, 47 : 829-842.

- 81. Madrid J., Megías M.D. and Hernández F. 2002.** *In vitro* determination of ruminal dry matter and cell wall degradation, and production of fermentation end-products of various by-products. *Anim. Res.*, 51 : 189–199.
- 82. Makkar H.P.S. 2000.** Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. Animal Production and Health Section Joint FAO/IAEA Division International Atomic Energy Agency Vienna (Austria).
- 83. Makkar H.P.S. 2003.** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49 : 241-256.
- 84. Makkar H.P.S. and Becker K. 1997.** Degradation of quillaja by mixed culture of rumen microbes. *The Society for Applied Microbiology*, 25 : 243-245.
- 85. Makkar, H.P.S., Blümmel, M., Becker, K., 1997.** Application of an *in vitro* gas method to understand the effects of natural plant products on availability and partitioning of nutrients. In: *Proceedings of the BSAP Occasional Meeting on In Vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants*, July 8–10, Reading (UK).
- 86. Makkar H.P.S., Blümmel M. and Becker K. 1997.** *In vitro* rumen apparent and digestibility of tannin-rich forages. *Animal Feed Science and Technology*, 67 : 245-251.
- 87. Makkar H.P.S., Blümmel M., Borowy N.K. and Becker K. 1993.** Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agric.*, 61 : 161–165.
- 88. Makkar H.P.S., Blümmel M. and Becker K. 1995.** Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycol and their implication in gas production and true digestibility in *in vitro* techniques. *Br. J. Nutr.*, 73 : 897-913.
- 89. Makkar H.P.S., Becker K., Abel H and Szegletti C. 1995.** Degradation of condensed tannins by rumen microbes exposed to Quebracho tannins (QT) in rumen Simulation Technique (RUSITEC) and effects of QT on fermentative processes in the RUSITEC. *Journal of Food Science and Agriculture*, 69 : 495–500.

- 90. Makkar H.P.S., Blümmel M. and Becker K. 1995.** *In vitro* effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. J. Sci. Food. Agric., 69 : 481-493.
- 91. Makkar H.P.S., Blümmel M., Borowy N.K., Becker K. 1993.** Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. J. Sci. Food. Agric., 61 : 161–165.
- 92. Makkar H.P.S., Singh B. 1993.** Effect of storage and urea addition on detannification and in sacco dry matter digestibility of mature oak (*Quercus incana*) leaves. Anim. Feed. Sci. Technol., 41 : 247–259.
- 93. Mangan J. L. 1988.** Nutritional effects of tannins in animal feeds. Nutr. Res. Rev., 1 : 209-231.
- 94. Martin García A.I., Yáñez Ruiz D.R., Moumen A. and Molina Alcaide E. 2005.** Effect of polyethylene glycol on the chemical composition and nutrient availability of olive (*Olea europaea* var. *europaea*) by-products. Animal Feed Science and Technology, 114 : 159–177.
- 95. McAllister T.A., Bae H.D., Jones G.A. and Cheng K.J. 1994.** Microbial attachment and feed digestion in the rumen. J. Anim. Sci., 72 : 3004–3018.
- 96. McSweeney C.S., Palmer B., Bunch R. and Krause D.O. 1999.** *In vitro* quality assessment of tannin-containing tropical shrub legumes: protein and fiber digestion. Animal Feed Science and Technology, 82 : 227-238.
- 97. McSweeney C.S., Palmer B., McNeill D.M. and Krause D.O. 2001.** Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. Animal Feed Science and Technology, 91 : 83-93.
- 98. Medjekal S. 2004.** Etude de la fermentescibilité *in vitro* de plantes présahariennes par la microflore ruminal d'ovins. Evaluation de la contribution spécifique des différentes fractions pariétales au pool des produits fermentaires. Thèse de Magister. ISN. Université de Constantine.

- 99. Menke K.H and Steingass H. 1988.** Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal. Research and Development*, 28 : 7-55.
- 100. Menke K.H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. and Schneider W. 1979.** The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from gas production when they are incubated with rumen liquor. *Journal of Agricultural. Science*, 93 : 217-222.
- 101. Merghem R. 1995.** Les facteurs antinutritionnels (F.A.N.) phénoliques de *Pisum sativum* L. et de *Vicia faba* (Leguminosae). Aspects structuraux, génétiques et phénotypiques. Thèse de Doctorat. ISN. Université de Constantine.
- 102. Miller, S.M., Klieve, A.V., Plumb, J.J., Aisthorpe, R. and Blackall, L.L. 1997.** An *in vitro* cultured rumen *inoculum* improves nitrogen digestion in mulga-fed sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 48 : 403–409.
- .
- 103. Mitjavila S., Lacombe G., Carrera G. and Derache R. 1997.** Tannic acid and oxidised tannic acid on the functional state of rat intestinal epithelium. *J. Nutr.*, 2113-2121.
- 104. Molan A.L., Attwood G.T., Min B.R. and McNabb W.C. 2001.** The effects of condensed tannins from *Lotus pendiculatus* and *Lotus corniculatus* on the growth of proteolytic bacteria *in vitro* and their possible mode of action. *Can. J. Microbiol.*, 47 : 626-633.
- 105. Mueller-Harvey I., McAllan A.B., Theodorou M.K. and Beever D.E. 1988.** Phenolics in fibrous crop residues and plants and their effects on digestion and utilization of carbohydrates and proteins in ruminants. In: Reed, J.D., Capper, B.S., Neate, P.J.H. (eds.). *Plant breeding and the nutritive value of crop residues*. 97-132, ILCA, Addis Ababa, (Ethiopia).
- 106. Nelson K.E., Thonney M.L., Woolston T.K., Zinder S.H. and Pell A.N. 1998.** Phenotypic and phylogenetic characterisation of ruminal tannin-tolerant bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61 : 3293–3298.

- 107. Nelson K.E., Pell A.N., Schofield P. and Zinder S. 1995.** Isolation and characterization of an anaerobic ruminal bacterium capable of degrading hydrolysable tannins. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61 : 3293–3298.
- 108. Ndlovu. L.R and Nherera F.V. 1997.** Chemical composition and relationship to *in vitro* gas production of Zimbabwean browsable indigenous tree species. *Animal Feed Science and Technology*, 69 : 121-129.
- 109. Newbold C.J., El Hassan S.M., Wang J., Ortega M.E. and Wallace R.J. 1997.** Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *Br. J. Nutr.*, 78 : 237-249.
- 110. Ngamsaeng A and Wanapat M. 2005.** Evaluation of the effects of local plants by *in vitro* rumen fermentation and their effects on fermentation end-products * Tropical Feed Resources Research and Development Center, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 (Thailand).
- 111. Norton B.W. and Ahn J.H. 1997.** A comparison of fresh and dried *Calliandra calothyrsus* supplements for sheep given a basal diet of barley straw. *Journal of Agricultural Science*, 129 : 485–494.
- 112. Odeyinka S.M., Hector B.L., Ørskov E.R. and Newbold C.J. 2004.** Assessment of the nutritive value of the seeds of some tropical legumes as feeds for ruminants. [Livestock Research for Rural Development](#) 9 (16).
- 113. O'donovan L. and Brooker J. D. 2001.** Effect of hydrolysable and condensed tannins on growth, morphology and metabolism of *Streptococcus gallolyticus* (*S. caprinus*) and *Streptococcus bovis*. [Society for General Microbiology](#), 147 : 1025-1033.
- 114. Orpin C.G. and Joblin K.N. 1997.** The rumen anaerobic fungi. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Eds.), *In The Rumen Microbial Ecosystem*. Blackie Academic and Professional., London, 140-195.

- 115. Ørskov E.R. and McDonald P. 1979.** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 92 : 499-503.
- 116. Palmer B. and Jones R.J. 2000.** The effect of PEG addition *in vitro* on dry matter and nitrogen digestibility of *Calliandra calothyrsus* and *Leucaena leucocephala* leaf. *Animal Feed Science and Technology*, 85 : 259-268.
- 117. Pascual J.J., Fernández C., Díaz J.R., Garcés C. and Rubret-Alemán. 2000.** Voluntary intake and *in vivo* digestibility of different date-palm fractions by Murciano-Granadina (*Capra hircus*). *Journal of Arid Environments*, 45 : 183-189.
- 118. Pell, A.N., Woolston, T.K., Nelson, K.E., Schofield, P., 2000.** Tannins: biological activity and bacterial tolerance. In: Brooker, J.D. (Ed.), *Tannins in Livestock and Human Nutrition, Proceedings of the International Workshop, Adelaide, Australia, May 31–June 2, 1999*. ACIAR Proceedings 92 : 111–116.
- 119. Perchellet E.M., Moutaseb H.U., Makkar H.P.S. and Perchellet P. 1996.** Ability of tannins extracted from various tree leaves to inhibit the biomarkers of tumor promotion in mouse skin *in vivo*. *Int. J. Oncol.*, 9 : 801–809.
- 120. Porter L.J., Hrstich L.N. and Chan B.G. 1986.** The conversion of procyanidin and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemical* , 25 : 223–230.
- 121. Provenza F.D., Villalba J.J., Dziba L.E., Atwood S.B. and Banner R.E. 2003.** Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. *Small Ruminant Research*, 49 : 257–274.
- 122. Rachedi K. 2005.** Etude de la fermentescibilité *in vitro* de plantes présahariennes par la microflore ruminal d’ovins. Evaluation de la contribution spécifique des différentes fractions pariétales au pool des produits fermentaires. Thèse de Magister. ISN. Université de Constantine.

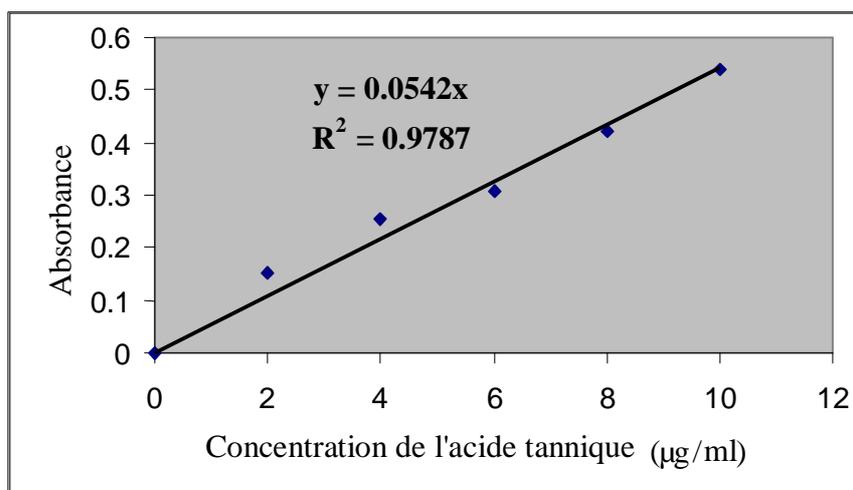
- 123. Rubanza C.D.K., Shem M.N., Otsyina R., Bakengesa S.S., Ichinoche T. and Fujihara T. 2005.** Polyphenolics and tannins effect on *in vitro* digestibility of selected *Acacia* species leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 119 : 129–142.
- 124. Schofield P., Mbugua D.M. and Pell A.N. 2001.** Analysis of condensed tannins: a review. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 91 : 21–40.
- 125. Seresinhe T. and Iben C. 2003.** *In vitro* quality assessment of two tropical shrub legumes in relation to their extractable tannins content. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 87 : 109-115.
- 126. Simon C. 2003.** Structure et dynamique de protéines de la salive humaine en interaction avec les tanins du vin de Bordeaux. Thèse de doctorat. Ecole doctorale des sciences chimiques Université de Bordeaux 1 (France).
- 127. Skadhauge B., Gruber M.Y., Thomsen K.K. and Von Wettstein D. 1997.** Leucocyanidin reductase activity and accumulation of proanthocyanidins in developing legume tissue. *Am. J. Bot.*, 84 : 494-503.
- 128. Spear J.W. 1994.** Mineral in Forages. In: Fahey, Jr., G.C. (Ed.) , Forage Quality, Evaluation, and utilization. National Conference on Forage quality, Evaluation and Utilization, Lincoln, 281-317.
- 129. Tendonkeng P.E., Kana J.R., Tendonkeng F. and Betfiang M.E. 2004.** Digestibilité *in vitro* de *Calliandra calothyrsus* en présence du Polyéthylène glycol et de *Brachiaria ruziziensis*, *Trypsacum laxum* ou *Pennisetum purpureum* au Cameroun. [Livestock Research for Rural Development 16 \(7\)](#).
- 130. Tolera A., Khazaal K. and Ørskov E.R. 1997.** Nutritive evaluation of some browse species. *Animal Feed Science and Technology*, 67 : 181-195.

- 131. Topps H.J. 1992.** Potential, composition and use of legume shrubs and tree as fodder for livestock in the tropics (a review). *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 118 : 1-8.
- 132. Valdez F.R., Bush L.J., Goetsch A.L. and Owens F.N., 1986.** Effect of steroidal saponin on ruminal fermentation and on production of lactating dairy cows. *J. Dairy. Sci.*, 69 : 1568-1575.
- 133. Villalba J.J., Provenza F.D. and Banner R.E. 2002.** Influence of macronutrients and polyethylene glycol on intake of a quebracho tannin diet by sheep and goats. *J. Anim. Sci.*, 80 : 3154-3164.
- 134. Villalba J.J. and Provenza F.D. 2002.** Polyethylene glycol influences selection of foraging location by sheep consuming quebracho tannin. *J. Anim. Sci.*, 80 : 1846-1851.
- 135. Vitti D.M.S.S., Abdalla A.L., Bueno I.C.S., Silva Filho J.C., Costa C., Bueno M.S., Nozella E.F., Longo C., Vieira E.Q., Cabral Filho S.L.S., Godoy P.B. and Mueller-Harvey I. 2005.** Do all tannins have similar nutritional effects? A comparison of three Brazilian fodder legumes. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 119 : 345–361.
- 136. Wang Y., McAllister T.A., Yanke L.J. and Cheek P.R. 2000.** Effect of steroidal saponin from *Yucca schidigera* extract on ruminant microbes. *J. Appl. Microbiol.*, 88 : 887-896.
- 137. Williams A.G., Coleman G.S. 1992.** *The Rumen Protozoa*. Springer, Verlag.
- 138. Woodward A., Reed J.D. 1997.** Nitrogen metabolism of sheep and goats consuming *Acacia brevispica* and *Sesbania sesban*. *J. Anim. Sci.*, 75 : 113-1139.
- 139. Zhu M., Phillipson J.D., Greengrass P.M., Bowery N.E., Cai Y. 1997.** Plant polyphenols: biologically active compounds or non-selective binders to protein. *Phytochem.*, 44 : 441-447.

Annexes

Annexe 1 : Courbe étalon des phénols et des tanins totaux.

Concentration $\mu\text{g}/\text{ml}$	Absorbance
0	0,00
2	0,153
4	0,254
6	0,307
8	0,420
10	0,539



Annexe 2 : Composition de la salive artificielle de Menke et al (100).

Solutions	Eléments	Concentration
Solution A (g /100 ml) Solution de microminéraux	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	13,2
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	10,0
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,0
	$\text{Fe Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	8,0
Solution B (g /l) Solution tampon	NaHCO_3	35,0
	NH_4HCO_3	4,0
Solution C (g /l) Solution de macrominéraux	Na_2HPO_4	5,7
	KH_2PO_4	6,2
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,6

Solution D (g/100ml) Indicateur d'oxydoréduction	$C_{12}H_6NO_4$ (rézazurine)	0,1
Solution E (/59,4 ml) Solution réductrice	NaOH (1N) $Na_2S \cdot 9H_2O$	2,4 ml 0,4032

Composant	Quantité (ml)
Eau distillée	570
Solution A	285
Solution B	285
Solution C	0,144
Solution D	1.464
Solution E	59.4

Annexe 3 : Préparation de la solution de NDS (neutral detergent solution)

Eléments chimiques	Concentration (g/l)
Disodium Ethylène Tetra Acétique	18,61
Borate de Sodium dibasique	6,81
Lauryl Sulfate de Sodium	30,00
Phosphate disodique	6,095
Ether monoéthylique de l'éthylène	20 ml

Résumés

Résumé

Les substrats retenus pour la présente étude comprennent deux plantes xérophiiles : *Aristida plumosa* et *Astragalus gombiformis* et un sous produit de l'agronomie saharienne : les palmes sèches. Ces trois fourrages sont comparativement étudiés au foin de vesce-avoine, pris comme substrat standard de référence. Les résultats de l'analyse chimique révèlent que le foin de vesce-avoine et *Aristida plumosa* renferment des taux faibles de tanins et de composés phénoliques alors que les palmes sèches et *Astragalus gombiformis* se caractérisent par des teneurs relativement moyennes.

L'effet des tanins, sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins (Ouled Djellel), est évalué par la technique de production de gaz *in vitro*, en présence et en absence d'un inhibiteur de tanins qui est le polyéthylène glycol (PEG). Dans tous les fourrages étudiés, l'addition *in vitro* du PEG engendre une augmentation significative de la production de gaz, de la digestibilité de la matière sèche et de la matière organique. Cependant, elle réduit la biomasse microbienne et le facteur de partition (rapport entre le taux de substrat réellement dégradé et le volume de gaz produit). Cela indique clairement l'antagonisme qu'exercent les tanins et les composés phénoliques sur l'utilisation de ces fourrages, probablement par la limitation de la disponibilité des nutriments au microbiote ruminal.

Mots clés

Tanins, composés phénoliques, production de gaz *in vitro*, digestibilité, polyéthylène glycol, microbiote ruminal.

Abstract

The substrates required for the present study include two xerophyte plants, namely *Aristida plumosa* and *Astragalus gombiformis*, and a Saharian agronomical by-product : dry palm leaves. These three fodders were comparatively studied to the vetch-oat hay, taken as standard. The results of the chemical analysis revealed that *Aristida plumosa* and the vetch-oat hay had a weak content of tannins and phenolic compounds whereas *Astragalus gombiformis* and dry palms leaves were characterized by a medium rate. The effect of tannins on the metabolic activity of the ovine ruminal microflora (Ouled Djellel) was evaluated by the *in vitro* gas production technique in presence and absence of tannins binding agent that is the polyethylene glycol (PEG). In all studied fodders, the *in vitro* addition of PEG generates a significant increase in gas production, dry and organic matter digestibility. However, it reduces the microbial biomass and the partitioning factor (ratio between truly degraded substrate and gas produces). This situation indicates clearly the antagonism that exerts tannins and phenolic compounds in the use of these fodders, probably by limitation of nutriment availability to the ovine ruminal microorganisms.

Key words: Tannins, phenolic compounds, *in vitro* gas production, digestibility; polyethylene glycol, ruminal microflora.

ملخص

تتضمن المواد اللازمة لهذه الدراسة نباتين صحراويين هما: *Astragalus* و *Aristida plumosa* *gombiformis* بالإضافة إلى نوع من مخلفات الزراعة والصحرى — راوية المتمثل في جريد النخل الجاف. درست هذه المواد مقارنة إلى الجفيف الذي تم أخذه كمادة مرجعية. أظهر التحليل الكيميائي أن الجفيف و *Aristida plumosa* يحتويان على نسبة ضئيلة من الدبغ و المركبات الفينولية بينما يتميز جريد النخل الجاف و *Astragalus gombiformis* باحتوائهما على نسبة متوسطة من هذه المركبات. قيم تأثير الدبغ و المركبات الفينولية على النشاط الأيضي للميكروفلورا الإجتزارية للغنم (أولاد جلال) بواسطة تقنية إنتاج الغاز مخبريا (*in vitro*) في وجود مثبت للدبغ و هو polyéthylène glycol أدت إضافة polyéthylène glycol بالنسبة لجميع الأعلاف المدروسة إلى ارتفاع معنوي في إنتاج الغاز و هضومية المادة الجافة و العضوية إلا أنها أحدثت انخفاض في الكتلة الحيوية الميكروبية و عامل التقسيم (النسبة بين كمية المادة المتحللة حقيقيا وحجم الغاز المنتج). تدل النتائج المحصل عليها بوضوح على الخصومية التي يمارسها الدبغ و المركبات الفينولية نحو استعمال هذه الأعلاف وذلك بحصر و تقليل استعمال العناصر المغذية من طرف ميكروفلورا كرش الغنم.

كلمات مفتاحية: دبغ، مركبات فينولية، إنتاج الغاز *in vitro* ، هضومية، Polyéthylène glycol،

الميكروفلورا الإجتزارية.

