

Exclu du prêt

50376  
1991  
345

UNIVERSITE DES SCIENCES  
ET TECHNIQUES DE LILLE

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE  
D'EL-HARRACH - ALGERIE

**THESE**



PRESENTÉE PAR KAZI AOUAL <sup>Samia</sup> NEE ABADA . S

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE  
*Pas de formulaire / faire adresse*  
DOCTEUR D'UNIVERSITE  
*concernons à l'ouie*

ESSAI DE BIO-AMELIORATION PAR *Myrothecium*  
*verrucaria* ET *Trichoderma viride* D'UNE PAILLE DE  
BLE DANS L'ALIMENTATION DU RUMINANT

22 Mars 1991

SOUTENUE EN MARS 1991 DEVANT LE JURY :

- |                          |    |            |
|--------------------------|----|------------|
| M <sup>r</sup> MONTREUIL | J. | President  |
| M <sup>r</sup> LAWRENCE  | A. | Rapporteur |
| M <sup>r</sup> BOUQUELET | S. | Rapporteur |
| M <sup>r</sup> CODRON    | P. | Membre     |

H.C. DUBOIS



-ooOoo- R E S U M É -ooOoo-  
..-.-.-.-.-

Dans le but d'étudier les possibilités d'améliorer par voie biologique et en milieu semi-solide la valeur nutritive des pailles de céréale (amélioration de la digestibilité et de la teneur en protéines), nous avons isolé à partir du sol 23 souches de champignons filamenteux. Criblées sur les paramètres : Activité cellulolytique et enrichissement de la paille en protéines ; deux souches se sont avérées performantes : Myrothecium verrucaria et Trichoderma viride.

Pour une température de 27°C ; pour trois taux d'humidité (80 ; 84 et 87 p.100) associés à trois pH (4 ; 5 et 6) et pour des durées de culture allant de 0 à 16 jours, sont évalués principalement sur une paille de blé traitée :

- La consommation de cellulose par les deux souches.
- L'enrichissement du substrat en protéines en fonction de l'apport azoté et minéral.
- La digestibilité "in sacco" de la biomasse obtenue.

Il ressort que :

1) La consommation de cellulose est élevée pour les deux organismes. Toutefois, elle est plus forte pour Trichoderma (11 points contre 7 pour Myrothecium). Les hémicelluloses sont très faiblement consommées ; alors que les lignines ne sont pas touchées ; il en résulte une augmentation dans le produit final notamment pour Trichoderma.

2) La teneur en protéines des échantillons traités augmente en moyenne respectivement de 3.3 et de 4.7g/100g de MS pour Trichoderma et pour Myrothecium amenant la teneur totale en protéines de la paille à 6.9 et 8.4g/100 de MS. Ces teneurs correspondent à un rendement de 0.14 et 0.38g de protéines mycéliennes/g de glucides utilisés.

3) La digestibilité de la paille témoin s'établit à 59 p.100 contre 54 p.100 et 67 p.100 respectivement pour Trichoderma et Myrothecium.

4) Le passage de l'apport d'azote minéral de 6 à 14 p.100 ne modifie ni la digestibilité, ni la synthèse protéique. Un prétraitement initial de la paille semble nécessaire pour faire évoluer cette situation.

MOTS CLES : Trichoderma viride, Myrothecium verrucaria, paille de blé traitée, digestibilité "in sacco", teneur en protéines, fermenteur.

-ooOoo- R E S U M E -ooOoo-  
-.-.-.-.-

Dans le but d'étudier les possibilités d'améliorer par voie biologique et en milieu semi-solide la valeur nutritive des pailles de céréale (amélioration de la digestibilité et de la teneur en protéines), nous avons isolé à partir du sol 23 souches de champignons filamenteux. Criblées sur les paramètres : Activité cellulolytique et enrichissement de la paille en protéines ; deux souches se sont avérées performantes : Myrothecium verrucaria et Trichoderma viride.

Pour une température de 27°C ; pour trois taux d'humidité (80 ; 84 et 87 p.100) associés à trois pH (4 ; 5 et 6) et pour des durées de culture allant de 0 à 16 jours, sont évalués principalement sur une paille de blé traitée :

- La consommation de cellulose par les deux souches.
- L'enrichissement du substrat en protéines en fonction de l'apport azoté et minéral.
- La digestibilité "in sacco" de la biomasse obtenue.

Il ressort que :

1) La consommation de cellulose est élevée pour les deux organismes. Toutefois, elle est plus forte pour Trichoderma (11 points contre 7 pour Myrothecium). Les hémicelluloses sont très faiblement consommées ; alors que les lignines ne sont pas touchées ; il en résulte une augmentation dans le produit final notamment pour Trichoderma.

2) La teneur en protéines des échantillons traités augmente en moyenne respectivement de 3.3 et de 4.7g/100g de MS pour Trichoderma et pour Myrothecium amenant la teneur totale en protéines de la paille à 6.9 et 8.4g/100 de MS. Ces teneurs correspondent à un rendement de 0.14 et 0.36g de protéines mycéliennes/g de glucides utilisés.

3) La digestibilité de la paille témoin s'établit à 59 p.100 contre 54 p.100 et 67 p.100 respectivement pour Trichoderma et Myrothecium.

4) Le passage de l'apport d'azote minéral de 6 à 14 p.100 ne modifie ni la digestibilité, ni la synthèse protéique. Un prétraitement initial de la paille semble nécessaire pour faire évoluer cette situation.

MOTS CLES : Trichoderma viride, Myrothecium verrucaria, paille de blé traitée, digestibilité "in sacco", teneur en protéines, fermenteur.

249276

UNIVERSITE DES SCIENCES  
ET TECHNIQUES DE LILLE

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE  
D'EL\_HARRACH - ALGERIE

**THESE**

PRESENTEE PAR KAZI\_AOUAL<sup>Samia</sup> NEE ABADA . S

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

**DOCTEUR D'UNIVERSITE**

ESSAI DE BIO-AMELIORATION PAR *Myrothecium*  
*verrucaria* ET *Trichoderma viride* D'UNE PAILLE DE  
BLE DANS L'ALIMENTATION DU RUMINANT

SOUTENUE EN MARS 1991 DEVANT LE JURY :

M <sup>r</sup> MONTREUIL	J.	President
M <sup>r</sup> LAWRENCE	A.	Rapporteur
M <sup>r</sup> BOUQUELET	S.	Rapporteur
M <sup>r</sup> CODRON	P.	Membre

-ooOoo- R E M E R C I E M E N T S -ooOoo-  
-\*-\*-\*-\*-\*-\*-\*-\*-\*-\*-\*-\*-\*-\*

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Département de Zootechnie de l'Institut National Agronomique d'ALGER.

A Monsieur J. MONTREUIL, Professeur à l'Université des Sciences et Techniques de LILLE. Vous avez accepté de parrainer mon inscription auprès de l'Université de LILLE, et vous m'avez autorisé à réaliser ce travail en ALGERIE. Vous me faites aujourd'hui l'honneur de présider mon jury de thèse ; trouvez ici l'expression de mes vifs remerciements et de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur A. LAWRENCE, Professeur à l'Institut National Agronomique d'ALGER. Vous avez accepté de diriger et de corriger ce travail avec beaucoup de patience malgré vos lourdes tâches et aussi malgré les difficultés de tout ordre rencontrées au cours de sa réalisation. Je vous dois également toute ma formation ; je ne saurais trouver les mots pour vous exprimer ma gratitude.

A Monsieur S. BOUQUELET, Professeur à l'Université des Sciences et Techniques de LILLE. Vous vous êtes intéressé à mon modeste travail et vous avez accepté d'en être le rapporteur auprès de l'Université. Soyez très vivement remercié.

A Monsieur P. CODRON, Directeur des Etudes à l'Institut Supérieur d'Agriculture de LILLE. Vous avez eu la tâche ingrate de corriger et de critiquer ce travail ; vos enrichissantes remarques ont contribué à ma formation ; trouvez ici l'expression de mes vifs remerciements.

Mes remerciements vont également à Monsieur H. YAKHLEF pour ses incessants encouragements et au personnel du laboratoire d'alimentation du département de Zootechnie.

Je remercie également Mademoiselle DJATOU F., qui a réalisé la dactylographie de cette thèse.

-ooOoo- P L A N -ooOoo-  
 -\*-\*-\*-\*-\*

INTRODUCTION.....	1
<u>PREMIERE PARTIE ; ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.</u>	
I.- COMPOSITION CHIMIQUE DE LA PAROI VEGETALE.....	3
1.- Les lignines.....	3
2.- Les hémicelluloses.....	5
3.- La cellulose.....	7
4.- Autres composants de la paroi.....	11
II.- LES CONTRAINTES PHYSICO-CHIMIQUES A LA DEGRADATION BIOLOGIQUE DE LA PAROI VEGETALE.....	14
1.- Humidité de la fibre.....	14
2.- Structure capillaire des fibres de cellulose.....	15
3.- Cristallinité de la cellulose.....	15
4.- Degré de polymérisation.....	16
5.- Nature et distribution des substances avec laquelle la cellulose est associée.....	16
5.1.- Les lignines.....	16
5.2.- Les hémicelluloses.....	17
III.- PRETRAITEMENTS DES LIGNOCELLULOSES.....	18
a.- Traitements physiques et chimiques.....	18
b.- Traitement biologique .....	19
IV.- MODE DE DEGRADATION DES MATERIAUX LIGNOCELLULOSIQUES PAR LES CHAMPIGNONS.....	24
A.- Paramètres de culture des champignons ligninolytiques.	24

1.- Humidité.....	24
2.- Température.....	25
3.- Aération.....	26
4.- Supplémentation azotée.....	28
 B.- Mode de dégradation des substrats lignocellulosiques.	29
1.- Dégradation de la cellulose.....	29
1.1.- Les endoglucanases.....	30
1.2.- Les exoglucanases.....	31
1.3.- Les $\beta$ -glucosidases.....	33
2.- Régulation.....	35
3.- Les éléments inducteurs.....	35
4.- Dégradation des lignines.....	36
 CONCLUSION.	
 <u>DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES.</u>	
<u>EXPERIENCE 1 : ISOLEMENT ET CHOIX DES SOUCHES.....</u>	39
1.- Isolement et conservation des souches de champignons.....	39
2.- Screening des souches isolées.....	40
a )- Obtention de l'inoculum.....	40
b )- Culture sur paille.....	41
3.- Dosage des sucres réducteurs.....	42
4.- Dosage des protéines.....	42
 <u>EXPERIENCE 2 : RECHERCHE D'UN TAUX D'HUMIDITE POUR LA CROISSANCE DES SOUCHES <u>MYROTHECIUM VERRUCARIA</u> ET <u>TRICHODERMA VIRIDE</u></u>	45
1.- Procédés de culture et traitement des pailles traitées.....	46

2.- Analyses.....	47
a.- Dosage de l'activité papier filtre.....	47
b.- Dosage des composants de la paroi.....	49
3.- Mesures.....	52
a.- Digestibilité "in sacco" de la matière sèche.....	52
b.- Calcul des pertes en matière sèche.....	53
c.- Mesure du pH.....	54
<u>EXPERIENCE 3</u> : CINETIQUE DE LA FERMENTATION DE LA PAILLE..	54
<u>EXPERIENCE 4</u> : PRODUCTION DE PAILLE TRAITEE PAR <u>MYROTHECIUM VERRUCARIA</u> .....	54
<u>TROISIEME PARTIE : RESULTATS, DISCUSION ET CONCLUSION.</u>	
* <u>RESULTATS</u> *	
<u>EXPERIENCE 1</u> : ISOLEMENT ET CHOIX DES SOUCHES.....	58
<u>EXPERIENCE 2</u> \ EFFET DE L'HUMIDITE ET DU PH SUR LA CROISSANCE.....	59
A.- Teneur en matière sèche des échantillons de paille traitée.....	60
B.- Activité papier filtre.....	61
C.- Teneur en composés pariétaux des pailles traitées..	62
D.- Pertes en matière sèche en cours de culture.....	65
E.- Teneur en protéines des pailles traitées et utilisation de l'azote.....	66
1.- Teneur en protéines totales des échantillons traités.....	66
F.- Digestibilité des échantillons de pailles traitées.	69

<u>EXPERIENCE 3</u> : CINETIQUE DE FERMENTATION DE LA PAILLE.....	71
A.- Teneur en matière sèche des échantillons et disparition de la matière sèche en fonction du temps de culture.....	71
B.- Evolution du pH et de l'APF en fonction du temps de culture.....	72
C.- Variation des composants de la paroi de la paille en fonction du temps de culture.....	74
D.- Variation de la teneur en protéines des pailles traitées en fonction du temps de culture.....	77
E.- Evolution de la digestibilité en fonction du temps de culture.....	80
<u>EXPERIENCE 4</u> : PRODUCTION DE PAILLE TRAITEE PAR <u>Myrothecium verrucaria</u> .....	81
A.- Taux et pertes de matière sèche après incubation....	82
B.- Utilisation par le champignon de l'azote apporté....	84
C.- Evolution de la quantité de CO <sub>2</sub> rejeté.....	87
D.- Evolution de la digestibilité "in sacco" des échantillons de paille après fermentation.....	88
* <u>DISCUSSION</u> *	
A.- Teneur en protéines des pailles traitées.....	89
B.- Digestibilité.....	92
C.- Pertes en matière sèche .....	94
CONCLUSION GENERALE.....	96
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	98

TABLEAUX

<u>Tableau 1</u>	: Composition centésimale des hémicelluloses des pailles.....	6
<u>Tableau 2</u>	: Degré de polymérisation et poids moléculaire de quelques variétés de cellulose.....	9
<u>Tableau 3</u>	: Composition chimique de quelques matières lignocellulosiques.....	12
<u>Tableau 4</u>	: Caractéristiques chimiques et nutritionnelles des principaux constituants de la paroi.....	13
<u>Tableau 5</u>	: Principaux traitements appliqués aux matériaux lignocellulosiques en relation avec la digestibilité.....	18
<u>Tableau 6</u>	: Microorganismes à intérêt biotechnologiques pour valoriser les lignocelluloses.....	20
<u>Tableau 7</u>	: Avantages et inconvénients des bactéries, des champignons cellulolytiques et des champignons ligninolytiques pour valoriser les lignocelluloses en aliments pour bétail.....	21
<u>Tableau 8</u>	: Fermentation fongique en milieu solide des substrats lignocellulosiques : teneur protéiques et digestibilité in-vitro de la MS (%) de la biomasse.....	23
<u>Tableau 9</u>	: Humidité optimale pour quelques souches de moisissures cultivées en milieu semi-solide...	24
<u>Tableau 10</u>	: Températures optimales de croissances de quelques souches de champignons.....	25

<u>Tableau 11</u> :	pH optimum de quelques souches de moisissures..	26
<u>Tableau 12</u> :	Vitesse d'aérations adoptée pour quelques souches.....	27
<u>Tableau 13</u> :	Poids moléculaire (PM), taux de glucides et point isoélectrique (pHi) des enzymes provenant de trois filtrats de culture.....	31
<u>Tableau 14</u> :	Poids moléculaire (PM), taux de glucides et point isoélectrique (pHi) des enzymes provenant de trois filtrats de culture.....	32
<u>Tableau 15</u> :	Activités cellulolytiques des constituants du complexe cellulosique de <u>Fusarium solani</u> et <u>Trichoderma koningii</u> agissant seul ou en combinaison.....	33
<u>Tableau 16</u> :	Composition de la solution minérale STARON n°1	40
<u>Tableau 17</u> :	Composition de la solution minérale STARON n°2	41
<u>Tableau 18</u> :	Quantité des différents éléments minéraux apportés par STARON n°2 pour les trois taux d'humidité.....	45
<u>Tableau 19</u> :	Composition des solutions d'hydrolyse.....	51
<u>Tableau 20</u> :	Screening des souches isolées.....	58
<u>Tableau 21</u> :	Teneur en matière sèche des pailles traitées..	60
<u>Tableau 22</u> :	Effet du pH et de l'humidité sur l'APF.....	61
<u>Tableau 23</u> :	Partition de 100g de MS et teneur en composés pariétaux (% MS) des pailles avant et après traitement ..	63

<u>Tableau 24</u> :	Pertes de MS après traitement.....	65
<u>Tableau 25</u> :	Teneur en protéines totales de la paille traitee.....	67
<u>Tableau 26</u> :	Utilisation de l'azote par les organismes.....	68
<u>Tableau 27</u> :	Digestibilité "in sacco" de la MS des échantillons de paille avant et après traite- ment (%)......	69
<u>Tableau 28</u> :	Variation de la MS avant et après incubation et pertes de MS après incubation.....	72
<u>Tableau 29</u> :	Evolution du pH et de l'APF en fonction du temps de culture.....	73
<u>Tableau 30</u> :	Variation de la composition pariétale de la paille en fonction du temps de culture.....	75
<u>Tableau 31</u> :	Teneur en azote total de la paille traitée.....	77
<u>Tableau 32</u> :	Utilisation de l'azote par les organismes.....	78
<u>Tableau 33</u> :	Digestibilité "in sacco" des échantillons de paille après fermentation.....	81
<u>Tableau 34</u> :	Taux et pertes de MS après incubation.....	83
<u>Tableau 35</u> :	Teneur en azote total de la paille traitée.....	85
<u>Tableau 36</u> :	Utilisation de l'azote par les microorganismes.	86
<u>Tableau 37</u> :	CO <sub>2</sub> (g) rejeté par 100g de MS de biomasse récolté.....	87
<u>Tableau 38</u> :	Digestibilité des échantillons de paille après fermentation.....	88

FIGURES

<u>Figure 1</u> :	Structure de l'alcool coumarylique.....	3
<u>Figure 2</u> :	Structure de l'alcool coniférylique.....	3
<u>Figure 3</u> :	Structure de l'alcool sinapylique.....	3
<u>Figure 4</u> :	Structure de la liaison $\beta$ -0-4.....	4
<u>Figure 5</u> :	Structure moléculaire de la cellulose.....	7
<u>Figure 6</u> :	Conséquences de la présence des liaisons L....	8
<u>Figure 7</u> :	Structure des fibres de cellulose.....	10
<u>Figure 8</u> :	Modèle de l'organisation ultrastructurale des composants de la cellule du bois.....	16
<u>Figure 9</u> :	Schéma représentatif des différents stadés de la cellulolyse.....	34
<u>Figure 10</u> :	Courbe d'étalonnage du dosage des protéines...	44
<u>Figure 11</u> :	Courbe d'étalonnage du dosage des sucres réducteurs.....	48
<u>Figure 12</u> :	Relation entre la teneur en cellulose et l'activité papier filtre des échantillons.....	64
<u>Figure 13</u> :	Relation entre la digestibilité "in sacco" et la teneur en cellulose des échantillons.....	70
<u>Figure 14</u> :	Relation entre la digestibilité "in sacco" et la teneur en protéines totales des échantil- lons.....	70
<u>Figure 15</u> :	Variation en fonction du temps de culture de la cellulose, des hémicelluloses et des lignines (% NDF).....	76
<u>Figure 16</u> :	Evolution respective de la teneur en cellulose, en protéines totales et de l'activité papier filtre.....	79

SCHEMAS

<u>Schéma 1</u> : Processus de traitement de la paille.....	47
<u>Schéma 2</u> : Partition des composés pariétaux.....	50
<u>Schéma 3</u> : Sachet prêt à être mis dans le rumen.....	52
<u>Schéma 4</u> : Détail du dispositif de fermentation utilisé...	57

ANNEXE

Annexe 1 : Variation des composants de la paroi en fonction de la teneur en azote et du temps de culture....	113
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

## I N T R O D U C T I O N .

Dans de nombreux pays, la diminution du rapport S.A.U. (0,3 ha en ALGERIE) atteint des seuils qui nombre d'habitants obligent le planificateur à consacrer l'essentiel des terres aux productions végétales destinées à l'alimentation humaine. Le développement de l'élevage des ruminants producteurs de lait et de viande (dont le fumier qui en résulte est nécessaire au maintien de la fertilité du sol) est menacé par le manque de terres susceptibles de porter des cultures fourragères. Aussi, l'utilisation des pailles (dont le tonnage mondial est de 3 milliards de tonnes par an) dans l'alimentation des ruminants suscite-t-elle de vifs intérêts. Elle permettrait de produire d'un seul coup sur le même hectare, les denrées alimentaires destinées à l'homme et le fourrage pour le ruminant.

Malheureusement, la digestibilité de la matière organique des pailles est faible (environ 45 p.100), car elles sont riches en composés pariétaux (80 à 85 p.100), pauvres en sucres (peu différent de 2 p.100), en azote (2 à 4 p.100) et en vitamines.

Classiquement, l'amélioration de la valeur nutritive des pailles est obtenue par une complémentation azotée et minérale correcte ou par des traitements chimiques (pour rendre les composés pariétaux plus digestibles) notamment à la soude et à l'ammoniac : La digestibilité augmente alors de 8 à 12 points.

Néanmoins, cet accroissement de la digestibilité ne supprime pas l'apport d'un concentré adéquat dans la ration dont la production pourrait se révéler difficile.

L'enrichissement en protéines de ces pailles par le biais de micro-organismes pourrait représenter une autre possibilité de complémentation et d'amélioration, sans faire appel à des hectares supplémentaires de terres. Dans cet optique, et dans l'état actuel des connaissances, les champignons ligninolytiques ne conviennent pas car le système ligninolytique est réprimé en présence d'azote.

Les champignons cellulolytiques par contre, enrichissent effectivement la paille en protéines.

Nous avons donc voulu étudier dans des conditions différentes de pH, d'humidité et de temps de culture, l'enrichissement en protéines et la digestibilité d'une paille de blé après traitement par deux souches de moisissures cellulolytiques : Trichoderma viride et Myrothecium verrucaria.

Après quelques rappels sur les caractéristiques chimiques de la paroi végétale ; les conditions de culture et la mode d'action des champignons cellulolytiques ; le matériel et les méthodes utilisés étant par ailleurs précisés, nous étudions les conditions d'enrichissement et la digestibilité d'une paille de blé traitée.

# 1° PARTIE

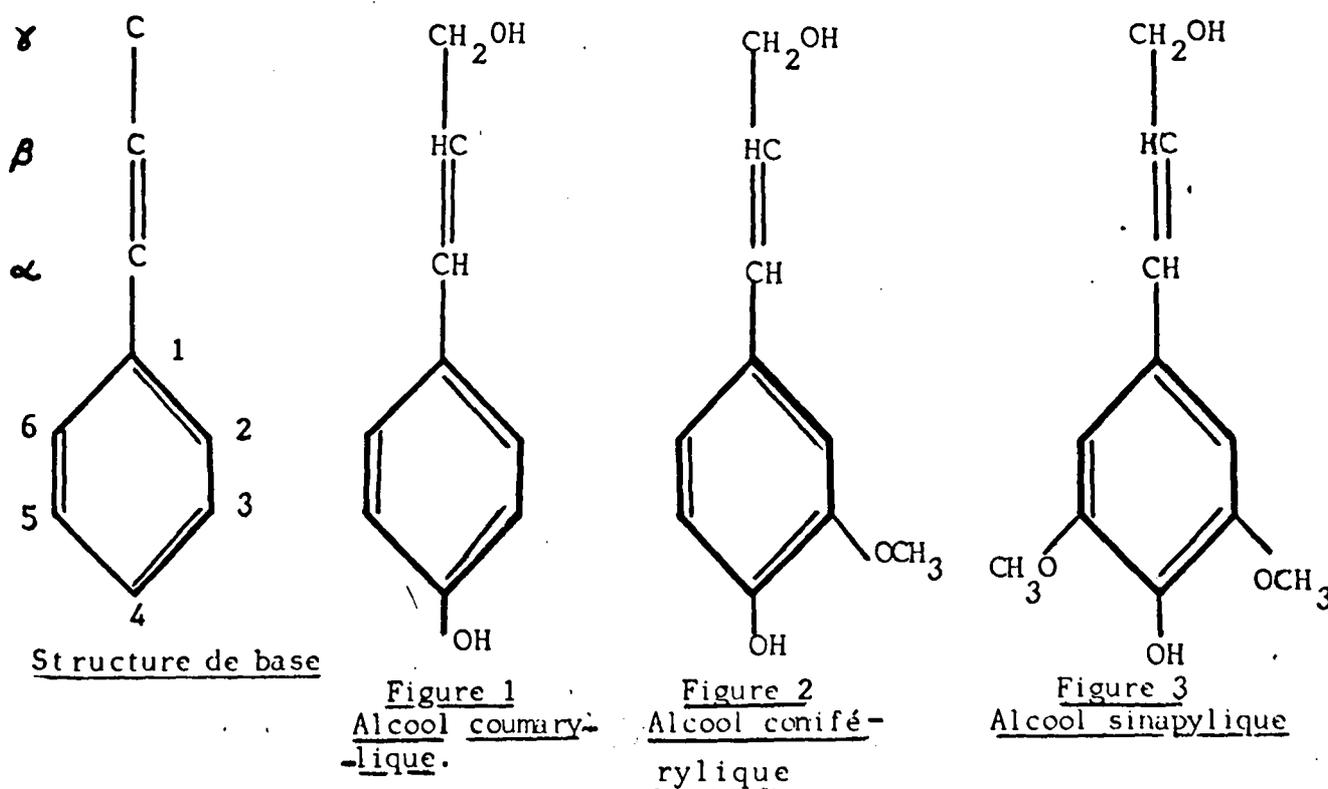
## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

- I.- COMPOSITION CHIMIQUE DE LA PAROI.
- II.- LES CONTRAINTES PHYSICO-CHIMIQUES A LA DEGRADATION BIOLOGIQUE DE LA PAROI VEGETALE.
- III.- PRETRAITEMENTS DES LIGNOCELLULOSES.
- IV.- MODE DE DEGRADATION DES MATERIAUX LIGNOCELLULOSIQUES PAR LES CHAMPIGNONS.

# I.- COMPOSITION CHIMIQUE DE LA PAROI VEGETALE.

## 1.- Les lignines

Les lignines ne sont pas constituées d'oses comme la cellulose ou à moindre degré comme les hémicelluloses. Ce n'est donc pas un glucide. C'est un hétéropolymère phénolique qui résulte de la copolymérisation de 3 alcools phénylpropénoïques. (Figure 1 ; 2 ; 3).



L'ensemble forme un réseau tridimensionnel très résistant à la dégradation. L'hétérogénéité des lignines (qui justifie l'emploi du pluriel) a été rapportée par plusieurs auteurs. MONTIES et LAPIERRE (1981) en distinguent 3 types :

- L'hétérogénéité de composition monomérique qui résulte de différence entre la fréquence des monomères.
- L'hétérogénéité des fréquences des liaisons intermonomériques qui résulte de l'existence de différents types de liaisons entre monomères.

- L'hétérogénéité résultant de la liaison des lignines avec les molécules autres que les monomères et qui correspond donc à des phénomènes d'hétéro-polymérisation.

Selon DESCHAMPS (1985), 40 à 50 p.100 des liaisons intermonomériques sont de types arylglycéro-bêta-aryléther (dite aussi  $\beta$ -O-4) (Figure 4).

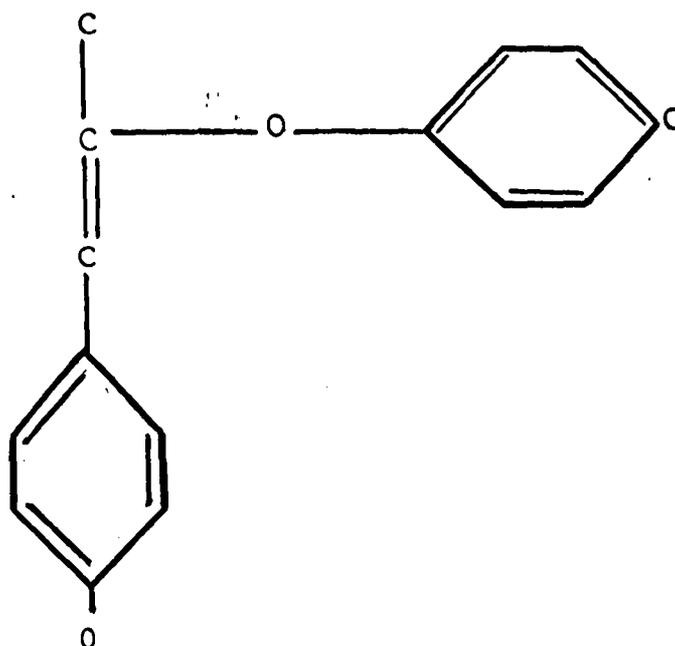


Figure 4 : Liaison  $\beta$ -O-4.

Cette hétérogénéité s'entend pour une même espèce et entre les espèces.

MONTIES (1980) ainsi que AGOSIN (1985) rapportent que, les lignines des gymnospermes renferment plus de 90 p.100 d'unités coniféryliques alors que les lignines d'angiospermes sont formées à partir des alcools sinapyliques et coniféryliques. En outre, certaines lignines de monocotylédones contiennent des dérivés de l'acide p-coumarylique.

Les lignines estimées analytiquement (lignines  $H_2SO_4$ ), contiennent des protéines bloquées par des tanins, de la cutine et de la silice. De 1 à 3 p.100 dans les aliments concentrés, la teneur en lignines des pailles se situe entre 6 et 10 p.100. Elle peut atteindre 30 p.100 dans le bois.

Du point de vue nutritionnel, les lignines sont indigestibles. Néanmoins, des valeurs positives de digestibilité sont rapportées par de nombreux auteurs (EDWARD, 1973 ; BACON, 1979). La part des lignines dans l'énergie brute des pailles est d'environ 14 p.100 soit 616 K Cal.

## 2.- Les hémicelluloses

Contrairement à la cellulose, les hémicelluloses sont des hétéropolymères amorphes composés d'hexoses, de pentoses et d'acide uronique essentiellement.

Selon SAUVANT (1978), sa structure est rarement cristalline. Leur degré de polymérisation ne dépasserait pas 250 (50 à 250).

Les principaux oses qui entrent dans la constitution des hémicelluloses sont répartis entre la série D pour le xylose, le galactose, le mannose, le glucose, l'acide glucuronique et l'acide galacturonique, et la série L pour l'arabinose, le rhamnose et le fucose. Leur répartition dans la paroi végétale n'est pas la même dans la paroi primaire et dans la paroi secondaire (JOSELEAU, 1980).

Les hémicelluloses de la paroi cellulaire diffèrent en qualité relative selon la classe des végétaux. Par exemple, pour les xylanes qui représentent le groupe le plus universellement représenté des hémicelluloses, elles occupent chez les monocotylédones, le bois feuillu et chez les conifères, respectivement 40, 37 et 8 p.100.

Ces xylanes sont soit constituées d'une chaîne principale formée par un enchaînement de résidus de D-xylopyranose liés par des liaisons  $\beta$  - (1 $\rightarrow$ 4), soit directement attachées à la chaîne principale, cas de l'acide D-glucuronique et son éther méthylique liés par liaisons  $\alpha$  - (1 $\rightarrow$ 2), soit encore disséminées le long de la chaîne portant des groupements O-acétyles (JOSELEAU, 1980).

BAILEY (1973) a décrit les hémicelluloses de paille d'orge comme étant surtout composées d'une chaîne en 1-4 de D-xylopyranose. Celle-ci est munie de ramifications qui contiennent du L-arabinose de l'acide D-glucuronique ou son 4-O-méthyl-éther, du D-galactose et peut être, du D-glucose. Pour sa part, THEANDER (1985) ne signale du glucose ni dans les hémicelluloses de blé d'hiver cultivé en Suède, ni dans ceux de différentes variétés d'orge et d'avoine (Tableau 1).

Tableau 1 : Composition centésimale de l'hémicellulose des pailles  
Suédoises : (THEANDER, 1985).

	Arabinose	Xylose	Mannose	Galactose	Acide uronique	Acétyle	p-coumarique	Ferulyque
<u>Blé d'hiver</u> :								
Holme (localité 1).	8.0	65.3	0.6	1.3	16.1	7.2	0.9	0.6
Holme (localité 2).	7.2	68.0	1.6	2.5	13.4	5.7	0.9	0.7
<u>Orge</u> :								
Ida	8.9	66.2	0.9	1.2	15.6	6.1	0.5	0.6
Kajsa	7.8	62.9	1.0	2.6	16.3	8.1	0.7	0.6
Tellus	8.9	69.3	1.3	2.6	10.5	5.8	0.9	0.7
<u>Avoine</u> :								
Sang	7.9	67.9	1.0	1.7	14.4	4.7	1.5	0.9
Pol	9.5	69.7	1.6	1.3	11.3	4.8	1.2	0.6
Selma	8.1	65.8	1.2	2.2	15.3	5.4	1.3	0.7

Ces résultats montrent par ailleurs que les pailles de céréales sont plus riches en xylanes que les valeurs habituellement admises (de l'ordre de 50 %) et que l'ensemble xylose plus acide uronique représente 90 p.100 des hémicelluloses.

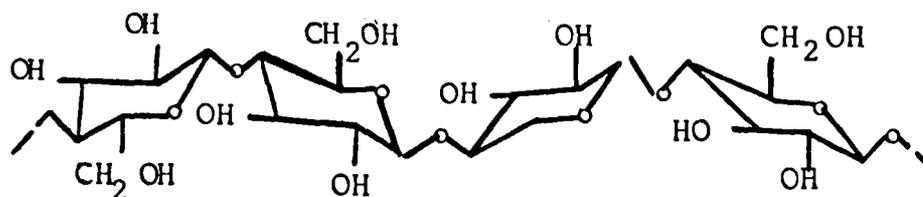
En nutrition, la teneur en hémicelluloses est déterminée classiquement à l'aide de 2 méthodes principales : Celle de VAN SOEST (1963) qui utilise une solution à 2 % de cétyl - triméthyl - ammonium bromide et celle de SALO (1965) qui utilise une solution d'acide chlorhydrique à 0,7 N. La digestibilité des hémicelluloses est liée au nombre de liaisons qu'elles ont contractées avec les lignines ainsi que leur richesse en groupements acétyles. En moyenne, elles sont moins digestibles que la cellulose. Les valeurs s'établiraient entre 10 et 60 p.100.

### 3.- La cellulose

La cellulose est le constituant majeur des parois végétales. Elle représente en moyenne 30 à 50 p.100 du poids des matières lignocelluloses (jusqu'à 70 % de la paroi totale). C'est un homopolymère linéaire formé par la répétition régulière du dimère cellobiose composé de deux unités D-glucose à un taux de 95 à 98 p.100 liées par liaison glucosidique du type  $\beta$ - (1-4) (Figure 5).

Figure 5 : Structure moléculaire de la cellulose

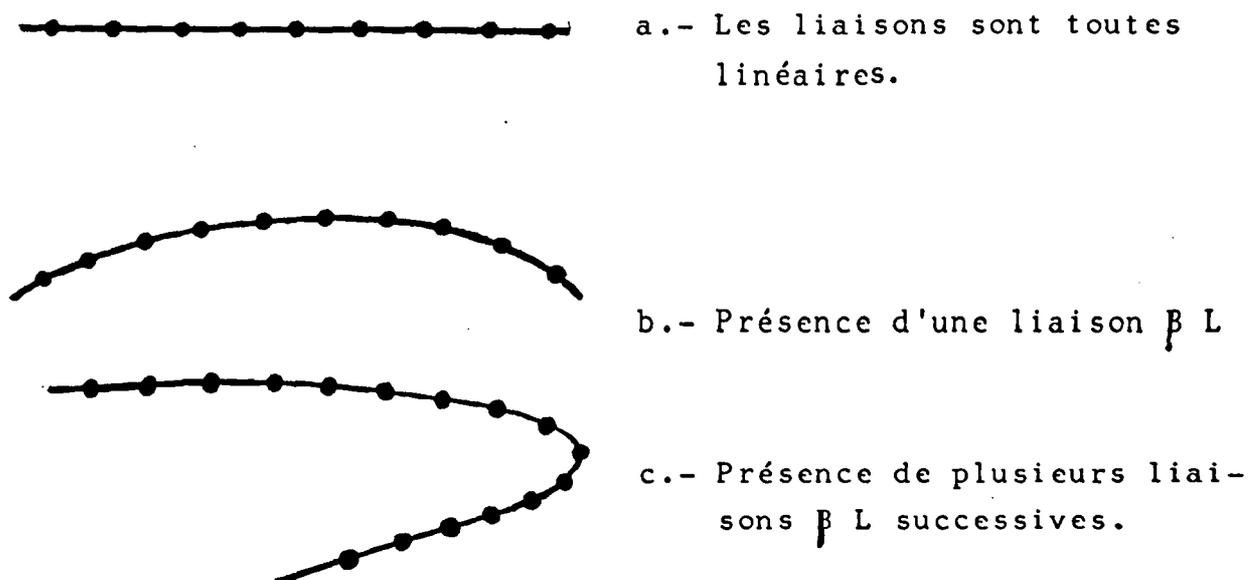
(ROWLAND et ROBERTS, 1972)



$\rightarrow 4$ )-  $\beta$ -D- Glup- (1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-Glup- (1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-Glup-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-Glup(1 $\rightarrow$

Selon CHANG (1971), outre les liaisons glucosidiques de type  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) linéaire dites de HERMAN, il existe d'autres liaisons dites L ( $\beta$  LOOP) qui incurvent la molécule. Ainsi, la figure 6 montre que si trois ou quatre liaisons L se succèdent, la chaîne se replie sur elle-même.

Figure 6 : Conséquences de la présence des liaisons L.



Les liaisons d'HERMAN, auraient les plus faibles potentiels d'énergie donc plus stables. La cellulose se trouve souvent associée à certaines substances (lignines, hémicelluloses, pentosanes, matières pectiques, matières minérales) et plus rarement à d'autres; tanins, matières colorantes, matières grasses, cire, huiles essentielles et matières azotées.

Dans la cellulose, plus de 10.000 résidus  $\beta$ -anhydroglucose sont liés pour former une longue chaîne de molécules mesurant 5 microns de longueur et d'un poids moléculaire supérieur à 1.5 million.. Chaque unité de  $\beta$ -anhydroglucose mesure selon FAN, LEE et BEARDMORE (1980) environ 5 Å.

Le degré de polymérisation de la cellulose varie entre 500 et 1500 mais pourrait atteindre 26.500 chez Valonia.

Le tableau 2 rapporte quelques niveaux de polymérisation et de poids moléculaires de quelques matières premières cellulosiques.

Tableau 2 : Degré de polymérisation et poids moléculaire de quelques variétés de cellulose.

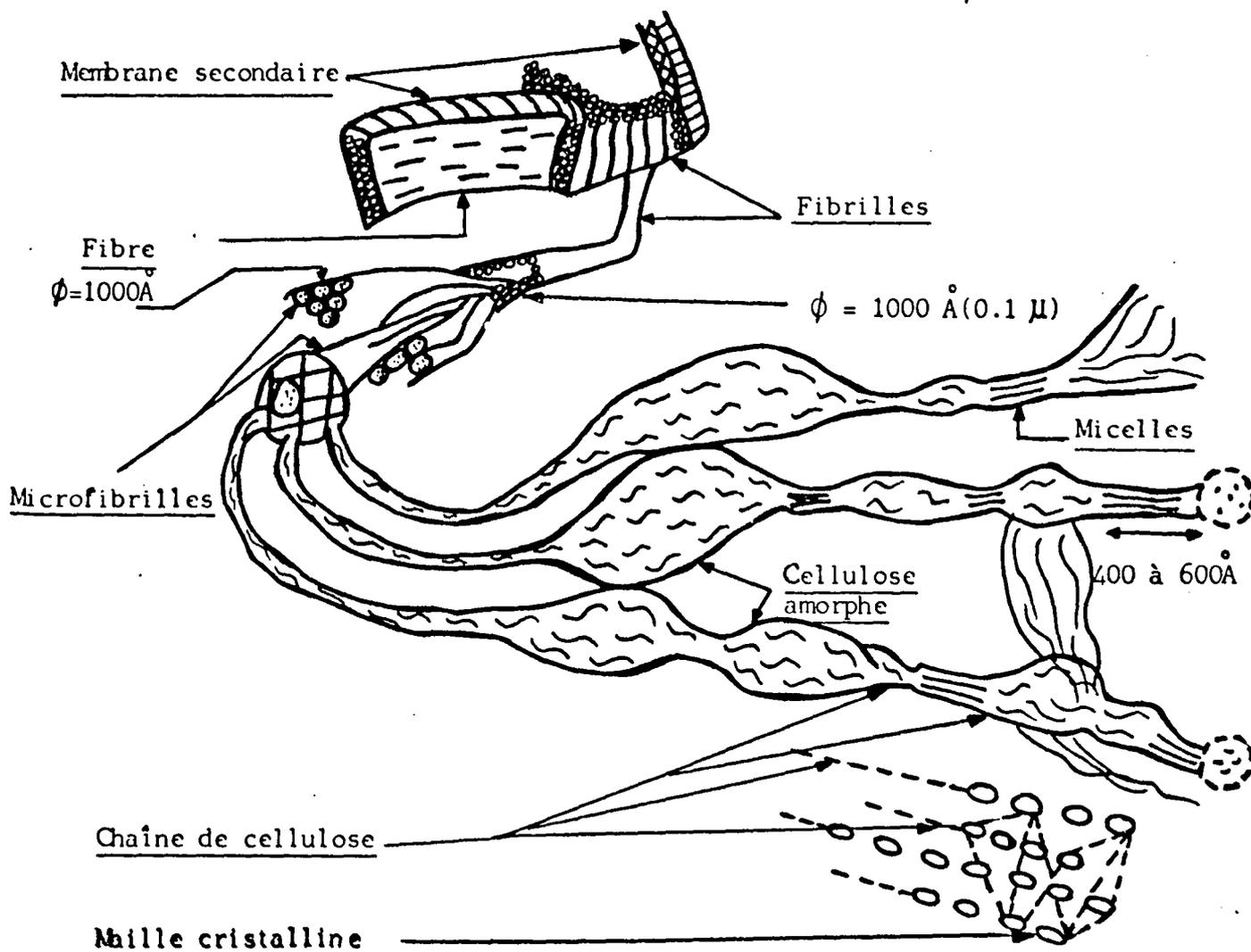
Références	Source	Poids moléculaire	Degré de polymérisation
FAN ; LEE ; BEARDMORE (1980)	- Cellulose native	6.000.000 - 1.500.000	3.500 - 10.000
	- Coton industriel	80.000-500.000	500 - 3.000
	- Pulpe de bois	80.000-340.000	500 - 2.100
	- Filament de rayon	57.000- 73.000	-
BARNOUD (1980)	- Valonia	-	26.000
GORING et TIMEL (1962)	- Coton poil de capsule	-	15.000
	- Coton Kapok (fibres industrielles)	-	
	- Lin, Chanvre, ramie (fibres industrielles)	-	9.900
	- Bouleau (bois)	-	10.000
	- Epicea (bois)	-	8.000

A notre connaissance, aucune étude n'a été effectuée sur la cellulose des pailles de céréale mais, il semble que la cellulose des pailles serait proche de celle du coton et du bois, beaucoup plus étudiée.

Du point de vue structurale, les molécules de glucose sont liées ensemble pour former les fibrilles élémentaires ou protofibrilles ou encore microfibrilles (comportant 15 à 40 molécules de glucose) ayant une longueur de 100 Å et 30 Å de diamètre (FAN ; LEE et BEARDMORE, 1980). Les fibrilles élémentaires sont pressées les unes contre les autres par l'action des forces de VAN DER WAALS, de liaisons hydrogènes et par des liaisons plus fortes de types ioniques et covalentes.

La diffraction aux rayons X a permis de montrer dans les microfibrilles l'existence de zones à forte cristallinité (zones à forte concentration de liaisons) ; et des régions moins ordonnées appelées paracrystallines ou amorphes (Figure 7). La fraction cristalline représente selon HERMANS (1952) environ 70 p.100 de la cellulose native, valeur moyenne confirmée par FAN ; YOUNG et CHARPOURAY (1982).

Figure 7 : Structure des fibres de cellulose d'après  
BOUREAU (1954) rapportée par JOUANY (1975).



En nutrition, la teneur en cellulose brute des aliments est déterminée depuis 1806 par la méthode de EINOFF de la station expérimentale de WEENDE en Allemagne. Cependant, la cellulose brute n'est pas une entité chimique pure. Ainsi GIGER (1987) estime que le résidu cellulose brute peut contenir une fraction très variable des constituants pariétaux d'origine : 30 - 100 % de cellulose vraie ; 14 à 20 % des pentosanes ; 16 à 90 % des lignines.

C'est pourquoi d'autres méthodes ont vu le jour et notamment celle de VAN-SOEST (1963) qui permet une meilleure estimation de la teneur en paroi des fourrages.

#### 4.- Autres composants de la paroi.

La paroi végétale renferme d'autres composés moins bien représentés que la cellulose, les hémicelluloses et les lignines.

\* La cutine peu représentée dans le bois et les pailles (décomptée dans les lignines  $H_2SO_4$ ); elle peut atteindre 30 p. 100 dans les marcs de raisin ou les grignons d'olive.

\* Les matières pectiques : elles constituent la lamelle moyenne de la paroi végétale, les substances pectiques sont composées essentiellement de polymères de l'acide galacturonique liés en 1 - 4. Les radicaux carboxyles sont en partie méthylés ou neutralisés par des ions calcium ou magnésium. De 2 p. 100 dans les pailles, elles peuvent représenter 17 p. 100 dans la pulpe de betterave.

\* Les tanins, particulièrement dans les pellicules de colza ; les marcs de pomme ; les marcs de raisin (5 p. 100 de la matière sèche) et dans les grignons d'olive.

Le tableau 3, résume les principaux composants des matériaux lignocellulosiques.

Tableau 3 : Composition chimique de quelques matières lignocellulosiques (% M.S).

Constituants	COWLING et KIRK (1976)			XANDE (1978) (Paille)				LAWRENCE (1983)
	Coton	Bouleau	Sapin	Blé	Orge	Avoine	Riz	Marc de raisin
Cellulose	89.0	44.9	46.1	48.1	48.4	50.7	33.0	33.0
Polyosides non cellulosiques	5.0	32.7	24.6	32.2	22.0	22.2	26.0	17.2
Lignines	0.0	19.3	26.3	10.8	9.8	9.5	6.5	20.8
Protéines (N x 6.25)	1.3	0.5	0.2	3.8	3.9	2.4	4.0	14.4
Amidon	1.2	0.3	0.3	-	-	-	-	-
Autres matériels organiques	3.5	2.3	2.5	-	-	-	-	-
Cutine	-	-	-	-	-	-	-	26.1
Matières minérales	-	-	-	7.7	8.8	8.4	17.0	5.6

Par ailleurs, le tableau 4 rapporte les caractéristiques chimiques et nutritionnelles des principaux constituants de la paroi.

Tableau 4 : Caractéristiques chimiques et nutritionnelles des principaux constituants de la paroi (rapportées par HAMMOUDA, 1984).

Composants	Unité de base	Mode de liaison	Solvant de solubilisation	Formes	Poids moléculaire	Niveau de digestibilité	Auteurs
Cellulose	Anhydroglucopyranose	Glucosidique $\beta$ -1-4	Acides	Polymère linéaire cristalline ou amorphe	$10^6$	40 à 80	THEANDER, (1977) MELCION, (1978) SAUVANT, (1978) SALO, (1977) VAN-SOEST, (1978)
Hémicelluloses	D-xylanes D-mannanes D-Galactanes	Mal connu $\beta$ -1-4	Acides et bases	Homopolymère et Hétéropolysaccharides	-	10 à 60	JARRIGE; (1961) SALO, (1980) JOSELEAU, (1980)
Substances pectiques	Acides galacturoniques	1-4 radicaux carboxyles méthylés ou neutralités	Solution peu acide précipitation par l'éthanol	Polymère de l'acide de galacturonique	-	90 à 95	SALO, (1977) SAUVANT, (1978)
Lignines	Phénylpropane		Oxydation par : Nitrobenzène Permanganate de potassium Eau oxygénée	Polymère  Inerte  Complexe (Ciment)	-	0 à 10	BACON, (1979) MORRISSON, (1979) SAUVANT, (1978)  MONTIES, (1980)

## II.- LES CONTRAINTES PHYSICO-CHIMIQUES A LA DEGRADATION BIOLOGIQUE DE LA PAROI VEGETALE.

L'énergie brute de la paille s'élève à 4.400 Kcal, l'ensemble cellulose-hémicelluloses représente 75 p.100 de l'énergie brute, soit 3.300 Kcal ; les lignines indigestibles les matières pectiques et les matières azotées représentent respectivement 14 ; 4 et 3 p.100.

Les calculs montrent que si l'ensemble cellulose-hémicelluloses pouvait-être complètement dégradé dans le rumen, 6 Kg seulement de paille suffiraient pour satisfaire les besoins en énergie d'entretien d'une vache de 600 Kg.

Mais si les unités de base de la cellulose ou des hémicelluloses (Hexosanes ; Pentosanes ; Acides galacturoniques) sont rapidement fermentées dans les poches de fermentations des animaux, leur accès (donc leur détachement des chaînes principales de cellulose et d'hémicelluloses) est rendu difficile par les liaisons chimiques contractées avec les autres composants de la paroi notamment les lignines ou par l'état physique de la fibre de cellulose.

### 1.- L'humidité de la fibre.

La faible teneur en eau des fibres protège la cellulose de l'attaque microbienne. L'extension de la structure capillaire des fibres gonflées par l'eau entraîne une augmentation significative de la surface des fibres celluloses. Il en résulte, des modifications des fibres rendant ainsi la cellulose plus accessible aux enzymes cellulolytiques (FAN ; LEE et BEARDMORE, 1980).

## 2.- Structure capillaire des fibres de cellulose.

La cellulose comprend 2 types de capillaires :

\* Les gros capillaires tel que le lumen cellulaire dont le diamètre est supérieur à 200<sup>o</sup>Å et dont la surface spécifique exposée est de  $2.10^3$  cm<sup>2</sup>/g pour le bois et le coton.

\* Les capillaires des parois cellulaires de diamètre inférieur à 200 Å placés entre les microfibrilles et dans les régions amorphes et dont la surface spécifique exposée est de l'ordre de  $3.10^6$  cm<sup>2</sup>/g (COWLING, 1963).

Pour ces derniers, l'accessibilité par les cellulases serait limitée, compte tenu de la taille des enzymes qui est en moyenne de 59 Å (COWLING et KIRK, 1976).

## 3.- Cristallinité de la cellulose.

Le degré de cristallinité de la cellulose est l'un des paramètres structuraux le plus important qui affecte la vitesse de l'hydrolyse enzymatique.

NORKRANS (1950), et WALSETH (1952) indiquent que les enzymes cellulolytiques dégradent plus fortement les portions amorphes de la fibre cellulosique mais sont incapables d'attaquer les portions cristallines. Aussi, la cristallinité de la cellulose augmente au cours de la dégradation.

KING (1961), a suggéré que la forte résistance de la cellulose cristalline par rapport à la cellulose amorphe n'est pas uniquement liée à son inaccessibilité aux molécules enzymatiques mais aussi à sa conformation dans l'espace et à la rigidité stérique des unités anhydroglucose.

#### 4.- Degré de polymérisation.

Les substrats dont la cellulose est hautement polymérisée sont plus résistants à l'attaque enzymatique que ceux dont la cellulose est faiblement polymérisée.

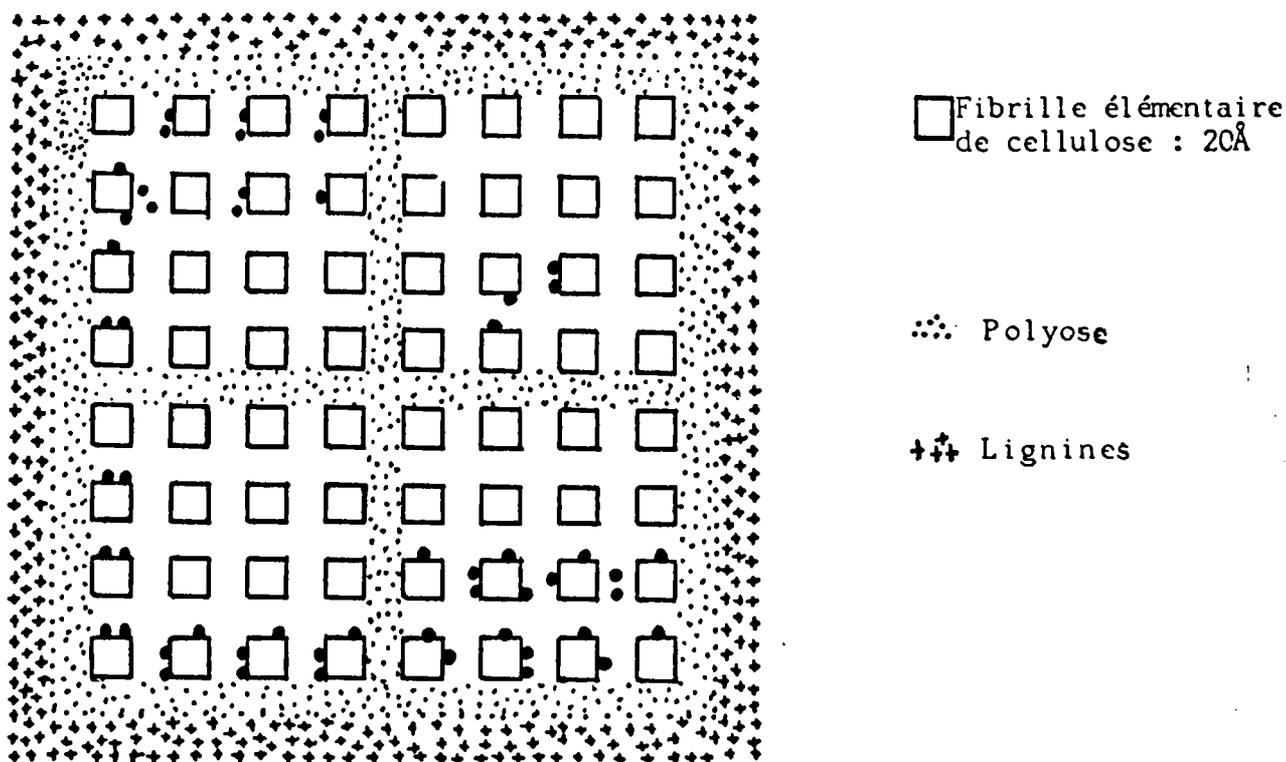
#### 5.- Nature et distribution des substances avec laquelle la cellulose est associée.

##### 5.1.- Les lignines.

La nature de leur association avec la cellulose et les hémicelluloses est mal connue. Les lignines encadreraient et incrusteraient la cellulose formant ainsi une barrière à l'action enzymatique (Figure 8).

Nous observons la microfibrille entourée par des couches de polyoses et de lignines, la protégeant ainsi contre l'action des enzymes.

Figure 8 : Modèle de l'organisation ultrastructurale des composants de la cellule du bois  
(rapporté par FAN et al, 1980).



La liaison des lignines respectivement avec la cellulose cristalline, la cellulose amorphe et les hémicelluloses constitue l'un des matériaux naturels le plus résistant à la dégradation biologique et chimique (JACKSON, 1977).

Pour une même espèce, la proportion de lignines et la nature de ces liaisons peuvent varier avec la variété et les conditions de culture affectant ainsi la digestibilité de l'espèce végétale (HARTLEY, 1985).

Dans le cadre d'une stratégie d'utilisation des pailles de céréales dans l'alimentation du ruminant, ces considérations (à rendement égal en grains) pourraient être prises en compte par le sélectionneur.

#### 5.2.- Les hémicelluloses.

L'action des hémicelluloses peut se situer à deux niveaux :

a)- Au niveau des groupes acétyles qu'elles portent particulièrement sur les xyloses (un résidu sur quatre serait acétylé). MORRIS et BACON (1977) indiquent par ailleurs que ces groupements jouent un rôle important sur la digestibilité des xylanes dans le rumen. Ainsi, la digestibilité de ces composants est multipliée par deux après désacétylation.

De même, le degré de branchement des xylanes qui augmente avec la maturation des plantes, rendrait difficile l'accès des endoxylanases (RICHARDS, 1976). Ce degré de branchement serait de 1 pour 5 pour la paille d'orge. (MORRISSON, 1979).

b)- Au niveau des liaisons qu'elles contractent avec les lignines. HARTLEY (1985) estime que les fractions aromatiques des pailles sont très liées aux composants des hémicelluloses.

Toutes ces actions expliquent probablement que la digestibilité des hémicelluloses soit très variable et à coup sûr plus faible en moyenne que celle de la cellulose (Tableau 4).

### III.- PRETRAITEMENTS DES LIGNOCELLULOSES.

#### a) - Traitements physiques et chimiques.

Les principaux sont résumés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Principaux traitements appliqués aux matériaux lignocellulosiques en relation avec la digestibilité.

Traitements	Produits	Résultats de digestibilité % M.S.		Références
		Avant	Après	
* <u>Physique</u> :				
- Broyage	Paille de blé	45.4	44.9	MELCION, (1978)
- Rayonnements ionisants	Paille de blé	Mal connu		PARTOS, (1981)
- Thermique (170°C/h)	Paille d'orge	39.0	3	PEARCE, (1982)
* <u>Chimique</u> :				
- Na OH 5 %	Bagasse	19.7	60.1	PLAYNE, (1984)
- Na OH 6 %	Paille de blé	42.0	55.0	PEARCE, (1982)
- Na OH 12%	Paille de blé	45.7	71.2	HOMB ; SUNDSTØL et ARNASON, (1977)
- Ammoniac 3 %	Paille d'orge	47.3	60.5	BORHANI ; SUNDTØL et GARNO (1982)
- Ammoniac 5 %	Paille d'orge	47.6	66.1	HARTLEY et JONES (1978)
- Ammoniac + Ac. acétique 3 %	Paille d'orge	47.3	60.4	BORHANI ; SUNDSTØL et GARNO, (1982)
- Ammoniac (21°C) 3 %	Epi de maïs	56.1	66.2	OJI et MOURAT, (1979)
- Ammoniac (90°C) 3 %	Epi de maïs	56.1	69.4	OJI ; MOURAT et BUCHAMENSMITH (1979)
- Ca (OH) <sub>2</sub>	Bagasse	19.7	60.1	PLAYNE, (1984)
- HCl				
- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				
- CMC <sub>s</sub>	Lignocellulosiques diverses			
- Dioxyde de soufre		Mal connu		PARTOS, (1981)
- Ozone				
- Permanganate de potassium				

Parmi ces traitements, seuls les traitements à la soude (à la dose de 6 p.100 maximum) et à l'ammoniac (à la dose de 3 à 5 p.100) se sont développés sur le terrain.

b)- Traitement biologique.

Ce traitement reste prometteur, car il permet :

- L'enrichissement protéique des lignocelluloses ;
- L'amélioration de la digestibilité de la matière organique .

Les microorganismes susceptibles de valoriser les matériaux lignocellulosiques dans l'alimentation du bétail sont nombreux. Ce sont, soit des bactéries (anaérobies et aérobies) soit des champignons (ligninolytiques et cellulolytiques).

Les principaux organismes qui font actuellement l'objet d'étude sont répertoriés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Microorganismes à intérêt biotechnologique  
pour valoriser les lignocelluloses.

Microorganismes	Activité vis-à-vis de la		Références
	Cellulose	Lignines	
<u>Bactéries :</u>			
* <u>Aérobies</u>			
- <u>Pseudomonas</u>	+	-	NAKAMURA et KITAMURA (1982)
- <u>Cellovibrio</u>	+	-	NAKAMURA et KITAMURA (1982)
- <u>Cellulomonas</u>	+	-	VERACHTERT, (1982)
- <u>Sporocytophaga</u>	+	-	VERACHTERT, (1982)
- <u>Bacillus</u>	+	-	MOLDOVEANU et KLUEPFOL (1983)
- <u>Actinomycètes</u>	+	-	VALTRAND, RAPP et VAGNER, (1982)
- <u>Mycobacterium</u>	+	-	ODIER et ROLONDO, (1985)
- <u>Cytophaga</u>	+	-	DESCHAMPS, (1985)
- <u>Sporocytophaga</u>	+	-	DESCHAMPS, (1985)
- <u>Streptomicés basidi</u>	+	-	DESCHAMPS, (1985)
- <u>Streptomicés viridospore</u>	+	+	SACCHI et TASTARD, (1971)
* <u>Anaérobies :</u>			
- <u>Bacteroides</u>	+	+	SACCHI et TASTARD, (1971)
- <u>Butyrivibrio</u>	+	-	SACCHI et TASTARD, (1971)
- <u>Clostridium</u>	+	-	SACCHI et TASTARD, (1971)
- <u>Plectridium</u>	+	+	SACCHI et TASTARD, (1971)
* <u>Champignons :</u>			
- <u>Trichoderma sp</u>	+	-	ROUSSOS et RAIMBAULT (1982)
- <u>Aspergillus niger</u>	+	-	RAIMBAULT et ALAZARD, (1980)
- <u>Pellicularia filamentosa</u>	+	-	TANAKA et al, (1978)
- <u>Penicellium sp</u>	+	-	RAPP, KNOBLOCK et WAGNER, (1982)

Compte tenu des contraintes liées à la transformation des matériaux cellulosiques en aliment du bétail par voie biologique ; ces deux catégories de microorganismes (bactéries et champignons) ne présentent pas les mêmes intérêts (Tableau 7).

Tableau 7 : Avantages et inconvénients des bactéries, des champignons cellulolytiques et des champignons ligninolytiques pour valoriser les lignocelluloses en aliments pour bétail.

Microorganismes	Avantages	Inconvénients
<u>Bactéries</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Temps de dédoublement court : 20 minutes</li> <li>- Production élevée de cellulase</li> <li>- Apport protéique élevé et stable (60 à 75 % de M.S)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nécessité d'un milieu de culture liquide, d'où des effluents à traiter et des risques de contamination</li> <li>- Cellulases moins actives sur cellulose cristalline.</li> <li>- Nécessité de pH élevé, entraînant des risques de contamination.</li> <li>- Teneur en acides nucléiques élevée (15 %).</li> </ul>
<u>Champignons Cellulolytiques</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Apport protéique moyen et variable (6 à 70 % de la M.S).</li> <li>- Cultivables en milieu solide, d'où absences d'effluents à traiter.</li> <li>- Teneur en acides nucléiques faible (5 % de la M.S).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Temps de dédoublement long : 2 à 5h.</li> <li>- Sécrétion possible de substances toxiques.</li> </ul>
<u>Champignons Ligninolytiques</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cultivables en milieu solide.</li> <li>- Améliorent sensiblement la digestibilité</li> <li>- Teneur en acides nucléiques faible (5% de la M.S).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Temps de dédoublement long : 2 à 5h.</li> <li>- Enrichissement en protéines faible .</li> <li>- Système ligninolytique réprimé en milieu azoté.</li> </ul>

Plus que tout, c'est la possibilité de culture en milieu solide qui justifie que, parmi ces microorganismes, ce soient essentiellement les champignons qui ont fait l'objet d'étude en vue de l'amélioration de la valeur protéique et de la digestibilité des matériaux lignocellulosiques. Le tableau 8 rapporte les principaux travaux effectués dans ce domaine. La méthode de digestibilité utilisée par les auteurs est celle de TILLEY et TERRY (1963).

Nous observons que les champignons ligninolytiques sont plus performants que les champignons cellulolytiques pour améliorer la digestibilité des matériaux lignocellulosiques. Par contre, ils ne modifient pas la teneur en protéines de la biomasse et le temps de culture est particulièrement long.

Tableau 8 : Fermentation fongique en milieu solide des substrats lignocellulosiques :  
Teneur protéique et digestibilité in-vitro de la MS (%) de la biomasse.

Champignons	Substrats	Temps de Culture (J)	% Protéines de la biomasse		Digestibilités		Références	
			Non fermentée	Fermentée	Non fermentée	Fermentée		
<b>* Ligninolytiques :</b>								
- <u>P.frongarus</u>	Tremble	64	-	-	67	71.0	KIRK et MOORE (1972)	
- <u>F.ulimarius</u>	Bouleau	64	-	-	20	27.0	KIRK et MOORE (1972)	
- <u>P. sp florida</u>	Hêtre	60	-	-	6	35	ZADRAZIL (1980)	
- <u>P. sp florida</u>	Paille de colza	60	-	N.S.	34	71	ZADRAZIL (1980)	
- <u>A.biennis</u>	Paille de blé	61	-	N.S.	40	49.5	ZADRAZIL et BRUNNERT (1981)	
- <u>T.hirsuta</u>	Paille de blé	60	-	N.S.	40	60	ZADRAZIL et BRUNNERT (1982)	
- <u>P.anceps</u>	Peuplier	56	-	-	30	72.0	READÉ et MC QUEEN (1983)	
- <u>Coprinus sp</u>	Paille de blé	21	-	8.2	40	65.5	YADAV (1988)	
<b>Moyenne</b>					34.6	56.4		
<b>* Cellulolytiques :</b>								
- <u>C.utilis</u>	Paille de ray-gras	7	3.1	12.7	32.7	37.6	HAN et ANDERSON (1975)	
- <u>A.pullulans</u>	Paille de ray-gras	7	3.1	13.9	32.7	39.7	HAN et ANDERSON (1975)	
- <u>T.viride</u>	Paille de ray-gras	7	3.1	10.9	32.7	35.7	HAN et ANDERSON (1975)	
- <u>A.niger 110</u>	Lignocellulose farine	3	-	4.3	-	-	ZAWODZKA (1982)	
- <u>T.viride 9411</u>	Lignocellulose farine	3	-	11.6	-	-	ZAWODZKA (1982)	
- <u>T.viride 9411</u>	Lignocellulose broyée	3	-	10.1	-	-	ZAWODZKA (1982)	
- <u>T.viride 3653</u>	Lignocellulose broyée	3	-	5.9	-	-	ZAWODZKA (1982)	
- <u>M.verrucaria</u>	Paille de blé	4	3.8	6.8	32.8	47.7	ANGOIBA (1987)	
<b>Moyenne</b>					3.3	9.5	32.7	40.2

IV.- MODE DE DEGRADATION DES MATERIAUX LIGNOCELLULOSIQUES  
PAR LES CHAMPIGNONS.

Ce sont principalement les champignons compte tenu de leur facilité de culture en milieu solide qui ont servi de modèles à ces études.

A.- PARAMETRES DE CULTURE DES CHAMPIGNONS LIGNINOLYTIQUES.

1.- Humidité.

Contrairement aux levures et aux bactéries, les moisissures tolèrent ou même préfèrent des milieux à pression osmotique élevée ; d'où la possibilité de les cultiver sélectivement en milieu solide (NAKAHARA et al, 1982 ; KUNDA et al, 1983).

Le tableau 9 rapporte l'humidité optimale de quelques souches de champignons cultivées en milieu solide sur des substrats divers.

Tableau 9 : Humidité optimale pour quelques souches de moisissures  
cultivées en milieu semi-solide.

Souches	H°, Opt. (%)	Substrats	Références
- <u>Aspergillus niger</u>	55	Manioc	RAIMBAULT et ALAZARD, (1980)
- <u>Abortiporus biennis</u>	83	Paille de blé	ZADRAZIL et BRUNNERT, (1981)
- <u>Lensites betulina</u>	80	Paille de blé	ZADRAZIL et BRUNNERT, (1981)
- <u>Trichoderma reesei</u>	64.3	Paille de blé	LAUKEVIS, APSITI et VITURE, (1984)
- <u>Aspergillus hennebergii</u>	55.0	Manioc	SENEZ, (1983)
- <u>Candida utilis</u>	75.0	Paille de ray-gras	HAN et ANDERSON, (1975)
- <u>Aureobasidium pellulans</u>	75.0	Paille de ray-gras	HAN et ANDERSON, (1975)
- <u>Myrothecium verrucaria</u>	80.0	Paille de blé	DJEBAILI, (1985)

2.- Température.

Les champignons sont classés en psychrophiles, en mésophiles et en thermophiles selon que leur température optimale de croissance est située respectivement entre 10 - 20°C, 25 - 34°C et 40 - 60°C (Tableau 10).

Tableau 10 : Températures optimales de croissance de quelques souches de champignons.

Souches	T°, Opt. de croissance (°C)	Références
* <u>Psychrophiles</u> :		
- <u>Cladosporium herbarum</u>	15°C	MOREAU, (1974)
- <u>Botrytus cinerea</u>	15°C	MOREAU, (1974)
* <u>Mésophiles</u> :		
- <u>Dichomitus squalens</u>	35	ROUAU, 1985 ; AGOSIN, (1985)
- <u>Aspergillus niger</u>	35	RAIMBAULT et ALAZARD, (1980)
- <u>Coriolus hirsutus</u>	25	SAXENA et al, (1985)
- <u>Sporotricium puiverulentum</u>	35	ZADRAZIL et BRUNNERT, (1982)
- <u>Pleurotus ostreatus</u>	29	AGOSIN, (1985)
- <u>Cyatus stercorens</u>	32	AGOSIN, (1985)
- <u>Lentinus edodes</u>	28	AGOSIN, (1985)
- <u>Polyporus resinatus</u>	25	AGOSIN, (1985)
- <u>Myrothecium verrucaria</u>	27	DOMSH et GAMS, (1980)
* <u>Thermophiles</u> :		
- <u>Chaectomium cellulolyticum</u>		PAMAMENT, ROBINSON et MOO-YOUNG, (1979)
- <u>Chaectomium thermophile var</u>		MOO-YOUNG et al, (1977)
- <u>Chorpohile</u>	40 à 60°C	ROMANELLI et al, (1975)
- <u>Thermoascus aurantiacus</u>		
- <u>Taralomyces sp.</u>		NISHIO, KURISU et NAGAI, (1981)

Les champignons, comparativement aux bactéries préfèrent des pH acides (Tableau 11). Sur le plan pratique, un pH acide en début de fermentation évite les risques de contaminations bactériennes.

Tableau 11 : pH optimum de quelques souches de moisissures.

Souches	pH optimum	Références
- <u>Aspergillus heunebergii</u>	3	SENEZ, (1983)
- <u>Candida utilis</u>	3	HAN et ANDERSON, (1975)
- <u>Trichoderma album</u>	3	NOJAK, (1984)
- <u>Penicellium chrysogenum</u>	3	NOJAK, (1984)
- <u>Aspergillus fumigatis</u>	6	NOJAK, (1984)
- <u>Neurospora sitophila</u>	4	NOJAK, (1984)
- <u>Mucor racemosus</u>	4	NOJAK, (1984)
- <u>Pleurotus ostreatus</u>	5.7	AGOSIN, (1985)
- <u>Pleurotus coraiucopiae</u>	5.6	AGOSIN, (1985)
- <u>Phanerochaete chrysosporium</u>	4.6	AGOSIN, (1985)
- <u>Pycnoporus cinnabarinus</u>	4.6	AGOSIN, (1985)
- <u>Dichomitus squalens</u>	4	AGOSIN, (1985)

### 3.- Aération.

La quantité d'oxygène mise à la disposition du mycélium doit-être suffisante pour ne pas limiter la croissance de celui-ci. A défaut d'études précises sur les besoins en oxygène, nous rapportons au tableau 12 des vitesses d'aération jugées suffisantes, par de nombreux auteurs, en fermentation solide ou liquide.

Tableau 12 : Vitesse d'aération adoptée pour quelques souches.

	Débit d'air l/h/100g de substrat	Souches	Substrats	Références
Fermentation en Milieu liquide	8 à 180	- <u>Trichoderma</u> <u>harzianum</u> - <u>Trichoderma</u> <u>album</u>	Milieu MENDELS et WEBER Lactosérum	ROUSSOS et RAIMBAULT (1982 - 1983) ICONOMOU (1982)
Fermentation en milieu solide	7	- <u>Myrothecium</u> <u>verrucaria</u>	Paille de blé	ROUSSOS (1981)
	7	- <u>Penicellium</u> <u>sp</u>	Paille de blé	ROUSSOS (1981)
	7	- <u>Trichoderma</u> <u>viride</u>	Paille de blé	ROUSSOS (1981)
	20	- <u>Aspergillus</u> <u>niger</u>	Manioc	RAIMBAULT (1981)
	308	- <u>Aspergillus</u> <u>niger</u>	blé tempeh	NAGAI et NISHIO (1980)
900	- <u>Taralomyces</u> <u>sp</u>	Son de blé	NISHIO, KURISU et NAGAI (1982)	
	2 à 2.5	- <u>Aspergillus</u> <u>orryzae</u>	Riz grain	SUGAMA et OKOISAKI (1979)

#### 4.- Supplémentation azotée.

Les sources d'azote utilisées dans les cultures de champignons sur substrats lignocellulosiques sont généralement l'urée, le sulfate d'ammonium, l'hydroxyde d'ammonium et le nitrate d'ammonium.

La supplémentation azotée semble répressive sur l'activité des champignons ligninolytiques ; quoique le niveau de tolérance de l'azote varie avec la souche étudiée : La dégradation de la paille de blé par Pleurotus salmonea stramineus, Pleurotus eryngii, Pleurotus sp "Florida", Lentinus edodes diminue par rapport au témoin (sans apport azoté) lorsque le taux de nitrate d'ammonium par rapport au substrat dépasse 0,75 p.100 (ZADRAZIL et BRUNNERT, 1980).

D'autre part, ODIER et ROCHE (1985) indiquent que les rapports C/N < 280 retardent et diminuent l'activité ligninolytique de Phanerochaete chrysosporium et Phlebia radiata.

S'agissant des champignons cellulolytiques, la supplémentation azotée semble favorable à l'activité cellulolytique et à la synthèse protéique. Toutefois, la nature et la dose des sources d'azote est un paramètre important dans le métabolisme de ces champignons. Ainsi, l'assimilation du sulfate d'ammonium peut entraîner une chute de pH incompatible avec la croissance des champignons. L'urée à une dose de 15g/l chez Trichoderma album (ICONOMOU, 1982), 25g/l chez Rhizopus arrhizus (VEZINHET et al, 1977) provoque une inhibition de la croissance.

En effet, la dégradation de l'urée sous l'action de l'uréase fongique s'effectue avec libération d'ions  $\text{NH}_4^+$  qui entraîne une élévation du pH (ICONOMOU, 1982). Quelques résultats de RAIMBAULT (1981) montrent que le pH varie de 3 à 11 pour des combinaisons urée-sulfate d'ammonium allant de 0 à 100 %, lorsque Aspergillus hennebergii est cultivé sur substrat manioc.

## B.- MODE DE DEGRADATION DES SUBSTRATS LIGNOCELLULOSIQUES.

### 1.- Dégradation de la cellulose.

Dès 1921, PRINGSHEIM indique que la dégradation enzymatique de la cellulose native comporterait trois étapes :

- a)- Désintégration de la structure cristalline de la cellulose.
- b)- Dégradation des fibres de cellulose décristallinisée en  $\beta$ -1 - 4 oligoglucosides.
- c)- Hydrolyse des  $\beta$ -1 - 4 oligoglucosides en glucose.

En 1925, KARRER, SCHUBERT et WERLI étudiant les cellulases du suc digestif des escargots ne confirment pas ce processus puisqu'ils observent que les produits de dégradation de la cellulose était le cellobiose. Ces premiers travaux semblaient indiquer la nécessaire intervention de plusieurs enzymes pour dégrader la cellulose.

Cette hypothèse fut vérifiée en 1950 par REESE, SIU et LEVINSON qui observent que pour de nombreux champignons qui dégradent la cellulose dans la nature, leur filtrat est parfois inactif sur la cellulose.

Cependant, si cette cellulose est traitée (broyage puis gonflage), leur filtrat devient actif. Il y a bien donc un travail enzymatique préalable que certains champignons peuvent effectuer et d'autres non.

De cette observation, ces auteurs ont formulé le concept des composants  $C_1$  (facteur de gonflage préalable de la cellulose) et  $C_x$  (complexe de plusieurs enzymes). Les recherches ultérieures en matière de cellulolyse ont pris pour modèle le concept  $C_1 - C_x$ . Ainsi, WOOD, (1968) n'observe pas d'action hydrolytique de  $C_1$  sur la cellulose cristalline alors que OKADA et al (1968) indiquent que le composant  $C_1$  est capable à lui tout seul de dégrader la cellulose cristalline.

Il est maintenant bien établi (WOOD et MC CRAE, 1972) que  $C_1$  est une enzyme hydrolytique qui libère du cellobiose à partir de l'extrémité non réductrice d'une chaîne de  $\beta$ -glucane d'où le nom d'exoglucannase qui lui a été attribué. Le terme  $C_1$  a donc disparu ainsi que celui de  $C_x$ .

Depuis les travaux de WOOD et MC CRAE (1972) ; REESE (1975) ; CRITZALI et BROWN (1979) ; FAN et LEE (1983) ; POURQUIE et VANDESCASTEELE (1984), GROWS et al, (1985), l'hydrolyse enzymatique de la cellulose s'identifie à un mécanisme coopératif entre trois types d'enzymes du complexe cellulasique.

### 1.1.- Les endoglucannases ( $E_c$ : 3.2.1.4.).

Ce sont d'une façon générale, des glucoprotéines dont la teneur en glucide est variable, mais peut atteindre 21 p.100. Cette partie glucidique interviendrait dans la fixation de l'enzyme sur la surface de la cellulose à hydrolyser. Elle jouerait également un rôle de protection contre l'attaque des protéases (GAWTHORNE, 1979). L'activité des endoglucannases est plus élevée lorsque leur poids moléculaire est faible. Ce dernier peut varier entre 12.500 et 50.000. Le pHi des endoglucannases se situe respectivement entre 4 et 7 et entre 30 et 60°C (Tableau 13).

Tableau 13 : Poids moléculaire (PM), taux de glucides, et point isoélectrique (Phi) des enzymes provenant de trois filtrats de culture.

Sources	Type d'enzyme	PM	Taux de glucides	pHi	Références
<u>Sporotrichum pulverulentum</u>	Endoglucannase T <sub>1</sub>	32.300	10.5	5.32	ERIKSSON et PETERSSON (1975)a
	Endoglucannase T <sub>2a</sub>	36.700	0.0	4.72	
	Endoglucannase T <sub>2b</sub>	28.300	7.8	4.40	
	Endoglucannase T <sub>3a</sub>	37.500	4.7	4.65	
	Endoglucannase T <sub>3b</sub>	37.000	2.2	4.20	
<u>Trichoderma viride</u>	Endoglucannase I	12.500	21	4.60	PETERSSON, (1975)
	Endoglucannase II	50.000	12	3.39	
<u>Trichoderma kiningii</u>	Endoglucannase E <sub>1</sub>	13.000	-	4.73	WOOD et MC CRAE (1978)
	Endoglucannase E <sub>3a</sub>	48.000	-	4.32	
	Endoglucannase E <sub>3b</sub>	48.000	-	-	
	Endoglucannase E <sub>4</sub>	31.000	-	5.09	

Les endoglucannases attaquent la fibre de cellulose en milieu de chaîne au hasard pour libérer des cellulodextrines de degré de polymérisation compris entre 1 et 6.

### 1.2.- Les exoglucannases (E<sub>c</sub> : 3.2.1.21).

Ce sont également des glucoprotéines, mais leur partie glucidique serait plus faible. Par contre, leur poids moléculaire est plus élevé, il se situe entre 42.000 et 62.000. Leur pHi, température d'action et pH optimum d'action sont comparables à celui des endoglucannases (Tableau 14).

Tableau 14 : Poids moléculaire (PM), taux de glucides, et point isoélectrique (pHi) des enzymes provenant de trois filtrats de culture.

Sources	Types d'enzymes	PM	Taux de glucides	pHi	Références
<u>Sporotrichum pulverulentum</u>	Exoglucannase	48.6000	0.0	4.30	ERIKSSON et PETERSSON (1975)b
<u>Trichoderma viride</u>	Exoglucannase	42.000	9	3.79	PETERSSON (1975)
<u>Trichoderma koningii</u>	Cellobiohydrolase	62.000 ~	3.9	-	WOOD (1968)

Les exoglucannases sont de deux types :

- Les  $\beta$  - 1,4 - glucohydrolases.
- Les  $\beta$  - 1,4 - cellobiohydrolases.

Les exoglucannases coupent les liaisons  $\beta$  - 1,4 des cel-lulodextrines libérées par les endoglucannases, et les chaînes entières de cellulose à partir de l'extrémité non réductrice. Le résultat de ces attaques est la libération de glucose (par les  $\beta$  - 1,4 glucohydrolases) et de cellobiose (par les  $\beta$  - 1,4 cellobiohydrolases).

### 1.3.- Les $\beta$ - glucosidases.

A côté de ces deux groupes principaux d'enzymes, existent, les  $\beta$ -glucosidases qui libèrent du glucose à partir des petites molécules résultant de l'action d'endo et /ou d'exoglucannases. Leur activité est particulièrement prononcée sur les molécules de cellobiose d'où le nom de cellobiase qui leur été fréquemment attribué .

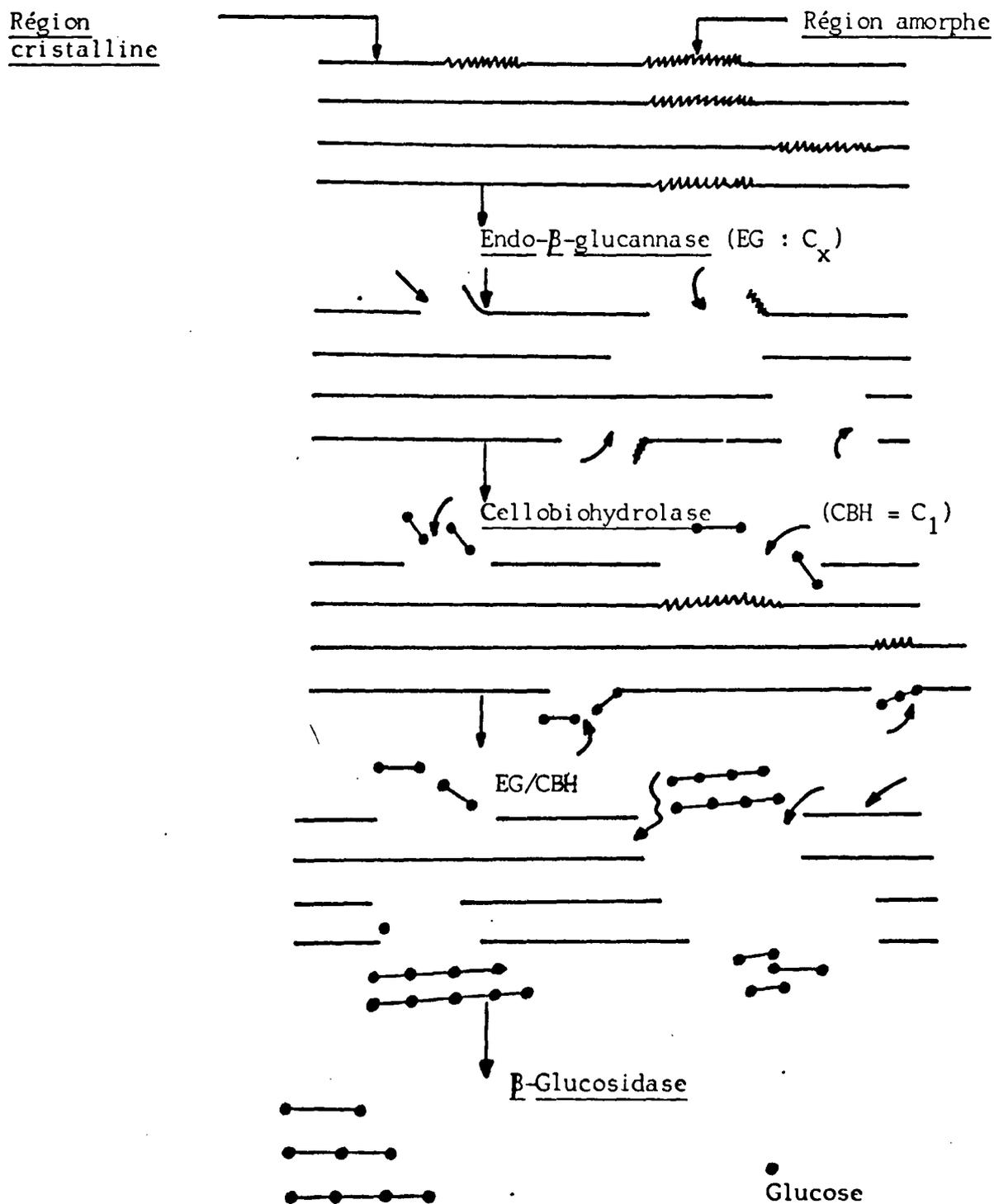
La dégradation de la cellulose est une action synergique des trois principales enzymes du complexe cellulolytique comme le montre le tableau 15.

Tableau 15 : Activités cellulolytiques des constituants du complexe cellulasique de Fusarium solani et Trichoderma koningii agissant seul ou en combinaison (WOOD, 1981).

	Solubilisation de coton (%)	
	<u>Fusarium solani</u>	<u>Trichoderma koningii</u>
Cellobiohydrolase	1	2
Endo (1,4) $\beta$ -glucannase	1	2
$\beta$ -glucosidase	0	1
Cellobiohydrolase+endoglucannase	53	58
Endoglucannase+ $\beta$ -glucosidase	6	4
Cellobiohydrolase + Endoglucannase + $\beta$ -Glucosidase	72	71
Surnageant initial	71	71

Par ailleurs, la figure 9 illustre les différents stades de la cellulolyse.

Figure 9 : Schéma représentatif des différents stades de la cellulolyse (MONTENECOURT et EVELEIGH, 1979).



## 2.- Régulation.

Les cellulases fongiques sont des enzymes extracellulaires c'est-à-dire synthétisées à l'intérieur de la cellule et secrétées dans le milieu extérieur.

La biosynthèse des cellulases est régulée par des mécanismes d'induction et de répression catabolique.

La cellulase est dite constitutive lorsque sa présence est détectée dans le milieu quelque soit la source carbonnée utilisée par le microorganisme pour sa croissance. Au contraire, elle est dite adaptative lorsque sa synthèse est induite par la présence du substrat.

Dans le cas des moisissures, les cellulases sont généralement adaptatives (la cellulose est un très bon inducteur). Par contre chez les bactéries, les cellulases sont souvent constitutives.

## 3.- Les éléments inducteurs.

Ce sont généralement des éléments solubles du milieu extérieur à la cellulase (à notre connaissance, aucun inducteur physiologique n'a été identifié). Il faut qu'il traverse la membrane cellulaire pour agir au niveau de l'expression des gènes de structure. Très classiquement : Le cellobiose, le sophorose le lactose, le disodium dihydrogène éthylène - diamine tétra acétique dihydraté sont des inducteurs. Pourtant, la cellulose qui est insoluble est également un puissant inducteur de la synthèse de cellulase. MANDELS et REESE (1960), supposent que le microorganisme secrèterait d'infimes petites quantités d'enzymes indissolubles capables de libérer des sucres solubles assimilables (notamment le cellobiose) à partir de la cellulose soluble.

Une fois la synthèse de la cellulose induite, elle est sujette à la répression catabolique. Le glucose est connu pour être un des répresseurs le plus actif sur la synthèse des cellulases fongiques et bactériennes (ERIKSSON, HAMP, 1978), il agit à des doses très faibles (50 mg/l).

D'autres substances comme les phénols, les alcools et les acides phénoliques les thiols et les ions métalliques ( $Ba^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Mn^{++}$ ,  $Zn^{++}$ ,  $Co^{++}$ ,  $Ag^{++}$ ,  $Hg^{++}$ ,  $Cu^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ), inhibent également la synthèse des cellulases.

#### 4.- Dégradation des lignines.

Les souches de microorganismes ligniholytiques sont peu abondantes dans la nature comparativement aux souches cellulolytiques (Tableau 6).

ODIER (1980) sur 122 souches de bactéries testées, 11 seulement présentent une activité ligninolytique. Selon DESCHAMPS (1985), chez les bactéries ne coexistent jamais l'activité cellulolytique et l'activité ligninolytique. Il semble cependant que les deux soient nécessaires pour assurer une bonne dégradation des lignines. Cela explique que le modèle de microorganisme utilisé dans les laboratoires soit souvent un champignon classé parmi les pourritures blanches et connu sous le nom de Sporotrichum pulverulentum.

Le processus de dégradation des lignines est peu connu. Jusqu'à une date très récente, les chercheurs pensaient à un processus oxydatif.

En effet, la dégradation des lignines fait intervenir soit l'oxygène, soit des radicaux de type  $H_2 O_2$  et superoxydes ( $OH^\bullet$  et  $O^\bullet$ ). C'est en 1983 que TIEN et KIRK émettent l'hypothèse enzymatique. Ces auteurs travaillant sur Sporotrichum pulverulentum isolent une enzyme extracellulaire capable de couper d'une part les liaisons  $C_\alpha - C_\beta$  des chaînes latérales et d'autre part, les cycles aromatiques (cf. p.3).

Cette enzyme de PM 42.000 a besoin pour fonctionner de la présence de  $H_2O_2$  dans le milieu. FORNEY et al, (1982) avaient déjà signalé une relation entre l'activité ligninolytique et la production d' $H_2O_2$  dans une culture limitée en azote.

Cette  $H_2O_2$  ne serait pas cytotoxique car elle est produite comme les catalases dans les structures périplasmiques sub-cellulaire des champignons notamment de Phanerochaete chrysosporium.

Le processus de dégradation des lignines n'interviendrait qu'à la fin de la phase de croissance du champignon lorsque la concentration en azote atteint sa valeur la plus faible.

L'activité ligninolytique représenterait donc un métabolisme secondaire (réponse à une carence en azote du milieu).

L'influence négative de l'azote a été étudiée notamment par ZADRAZIL (1980). Cet auteur montre que la digestibilité des biomasses est d'autant plus faible que la teneur en azote du substrat de départ ou du milieu est élevée.

Ainsi, les champignons ligninolytiques n'enrichissent pas le substrat ligninolytique en protéines contrairement aux champignons cellulolytiques.

Néanmoins, DEMEYER et VERVAEKE (1985) indiquent que cette répression du système ligninolytique par la présence d'azote dans le milieu ne s'observe pas pour toutes les souches.

Actuellement, les travaux s'orientent vers la sélection des souches capables de dégrader les lignines tout en enrichissant le substrat en protéines.

-ooOoo- CONCLUSION GENERALE -ooOoo-

Ces rappels bibliographiques nous ont permis de montrer la complexité structurale des matériaux lignocellulosiques comme la paille, dont l'énergie brute par unité de poids est comparable à celle des céréales. Pourtant du point de vue chimique, la cellulose ne diffère de l'amidon que par un simple détail dans la liaison 1 - 4 ( $\beta$  pour la cellulose ;  $\alpha$  pour l'amidon) détail oh combien important ! puisque seule les termites, les escargots et les microorganismes vivant dans le tube digestif des herbivores ou dans le sol, notamment certains champignons filamenteux sont capables de libérer et d'utiliser à des fins de croissance, l'énergie de ces substrats particulièrement abondants.

Domestiquer le microorganisme en maîtrisant ses exigences et ses aptitudes pour le mettre au service de l'homme dans ce domaine déficitaire qu'est la production d'aliments performants pour l'animal est un espoir.

Les modestes expériences qui vont suivre tenteront de contribuer à l'inscription de la première lettre.

## 2° PARTIE

### MATERIEL ET METHODES

EXPERIENCE 1 : ISOLEMENT ET CHOIX DES SOUCHES.

EXPERIENCE 2 : RECHERCHE D'UN TAUX D'HUMIDITE POUR LA  
CROISSANCE DES SOUCHES T.V ET M.V.

EXPERIENCE 3 : CINETIQUE DE LA FERMENTATION DE LA PAILLE.

EXPERIENCE 4 : PRODUCTION DE PAILLES TRAITEE PAR M.V.

EXPERIENCE 1 : ISOLEMENT ET CHOIX DES SOUCHES.

1.- Isolement et conservation des souches de champignons.

La méthode d'isolement utilisée est inspirée de celle de LARPENT ; LARPENT et GOURGAUD (1970).

Dans des boîtes de pétri de 10 mm de diamètre est réparti un milieu à pH compris entre 7 et 7,5 composé de :

- Phosphate bipotassique	1g,
- Nitrate de potassium	1g,
- Sulfate de magnésium	0,5g,
- Chlorure de calcium	0,2g,
- Gélose	20g,
- Perchlorure de fer	2 gouttes,
- H <sub>2</sub> O	1000 ml.

Puisensemencé avec 0,2 ml d'une suspension de terre de dilution croissante ( $10^{-1}$  à  $10^{-8}$ ). La culture ainsi préparée est recouverte avec un papier filtre stérile puis incubée à 28°C.

Chaque souche isolée est purifiée sur milieu MEA (Malt ,extrait agar) puis conservé sur le même milieu.

Composition du milieu MEA (g/l) :

- Extrait de malt	20g,
- Extrait de levure	02g,
- Gelose	20g.

Vingt trois souches de champignons sont ainsi isolées.

## 2.- Screening des souches isolées.

Dans le but de choisir les souches les plus performantes pour la suite de notre travail, nous avons mesuré sur un substrat paille, l'activité cellulolytique et la capacité de synthèse de protéines de chaque souche.

### a)- Obtention de l'inoculum.

Avant toute culture, les souches conservées au froid subissent deux régénérations successives sur milieu MEA (3 jours de culture).

Dans un erlenmeyer de 250 ml sont placés 50 ml de la solution minérale STARON n° 1 dont la composition est donnée dans le tableau 16.

Tableau 16 : Composition de la solution minérale  
STARON n° 1.

Eléments	Quantités(mg)
Glucose	20.000
Peptone pancréatique	6.000
Extrait de levure	1.000
Chlorure de sodium	500
Sulfate de magnésium	500
Phosphate monopotassique	1.000
Sulfate ferreux	10.000
Eau q.s.p.	1.000 ml

Les erlens ainsi préparés sont bouchés avec du coton cardé puis sont stérilisés à l'autoclave à 110°C pendant 30 minutes.

Refroidis, ils sont ensemencés en milieu stérile puis incubés sous agitation pendant 5 jours à une température de 27°C.

b)- Culture sur paille.

La paille utilisée est une paille de blé dur de variété ALCEDO cultivée dans la région d'ALGER.

Dans des erlens de 250 ml, 2g de paille de blé broyés (grille de 0,8 mm de diamètre) et 50 ml de solution minérale STARON n°2 (Tableau 17) sont introduits successivement.

Tableau 17 : Composition de la solution minérale  
STARON n° 2 (1984).

Eléments	Quantités (mg)
Sulfate d'ammonium	4.000
Phosphate monopotassique	1.000
Sulfate de magnésium	500
Chlorure de potassium	200
Chlorure de calcium	200
Sulfate ferreux	30
Sulfate de zinc	10
Sulfate de cuivre	20
Eau q.s.p.	1.000 ml
pH 6.4 ajusté avec une solution minérale d'acide orthophosphorique	

Les erlens sont ensemencés avec 10 ml d'inoculum précédemment obtenu puis incubés à 27°C pendant cinq jours.

A l'issue de ce temps d'incubation, le contenu de chaque erlen est passé dans un mixer pendant 10 minutes, puis centrifugé.

Sur le surnageant récupéré sont mesurés et dosés respectivement le pH, les sucres réducteurs et les protéines pour apprécier la croissance de l'organisme.

### 3.- Dosage des sucres réducteurs.

Nous avons utilisé la méthode de MILLER (1959).

Dans des tubes à essai de 16 mm de diamètre sont placés :

- 2 ml de solution à doser convenablement diluée (1/70),
- 3 ml du réactif au D.N.S (acide dinitrosalicylique),

#### Réactif au D.N.S (/100 ml).

- Acide 3,5 - Dinitrosalicylique 1g.
- Hydroxyde de sodium 1g.
- Sulfite de sodium anhydre 0,05g.
- Phénol 0,2g.
- Eau q.s.q. 1000 ml.

Les tubes ainsi préparés sont bien agités puis sont portés au bain-marie à 100°C pendant 5 minutes. Trois tubes témoins où la solution à analyser est remplacée par 2 ml d'eau sont traités dans les mêmes conditions.

La teneur en sucres réducteurs est mesurée à 575 nm par rapport à une gamme étalon de glucose allant de 0 à 1g/l.

### 4.- Dosage des protéines.

Nous avons employé la méthode de LOWRY et al (1951) conseillée pour le dosage des protéines microbiennes (RAIMBAULT, 1981).

Dans des tubes à essai de 16 mm de diamètre sont apportés successivement :

- 1 ml de solution à doser convenablement diluée (1/20).
- 1 ml d'hydroxyde de sodium normal.

Les tubes sont chauffés pendant 5 minutes sans être agités.

- 5 ml du réactif du biuret : mélange de solutions A + B + C dans les proportions 50 ; 1 ; 1 V/V.

#### Réactif du Biuret.

- Solution A =  $\text{Na}_2 \text{CO}_3$ , 20g dans une solution de soude à 0,4 %.
- Solution B =  $\text{Cu SO}_4$  à 1 % dans l'eau.
- Solution C = Tartrate double de sodium et de potassium à 2 % dans de l'eau.

Les trois solutions sont mélangées au dernier moment. Les tubes sont laissés 30 minutes à l'obscurité à la température du laboratoire.

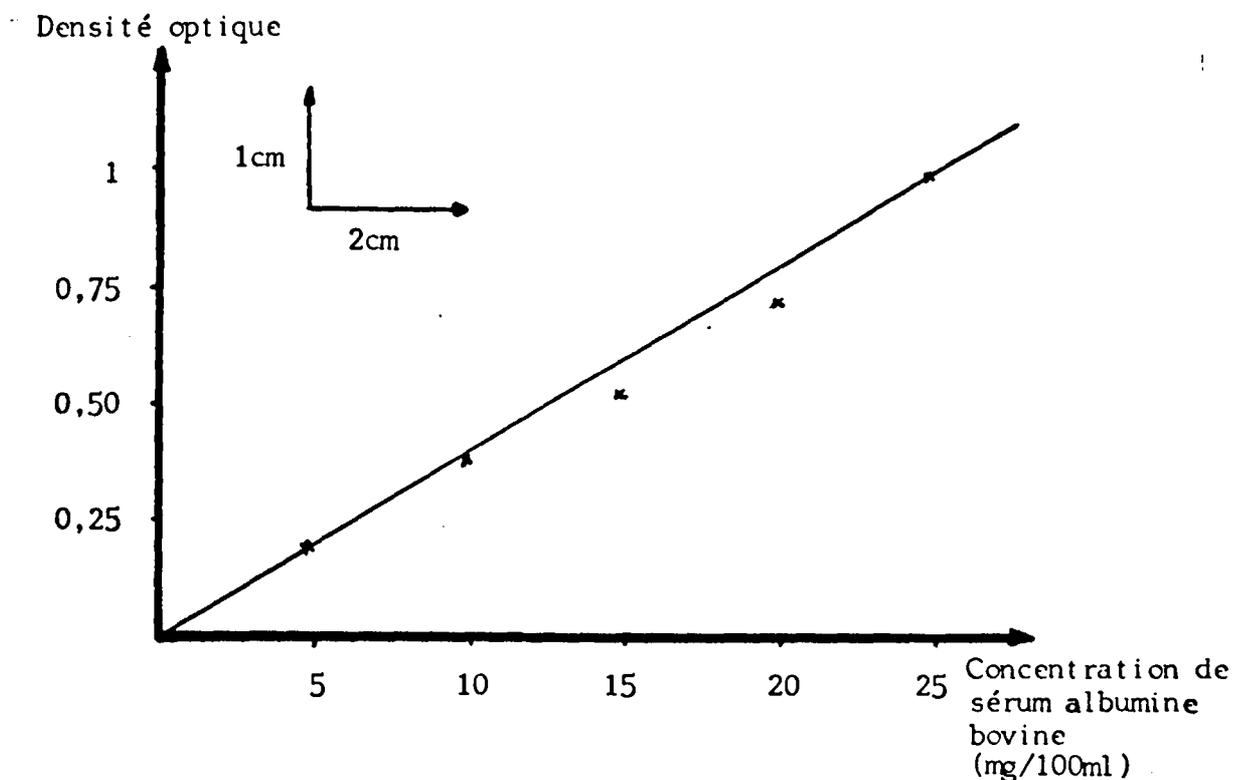
- 1 ml du réactif de Folin - ciocalteu dilué de moitié dans l'eau.

Les tubes sont bien agités puis sont laissés pendant 30 minutes à nouveau à l'obscurité, à la température du laboratoire.

La teneur en protéines est mesurée à 750 nm par rapport à une gamme étalon allant de 0 à 300 mg (Figure 10) de sérum albumine bovine.

Trois tubes témoins (sans solution à analyser) sont préparés dans les mêmes conditions.

Figure 10 : Courbe d'étalonnage du dosage des protéines.



Le choix de nos souches s'est donc porté sur celles qui présentent à la fois une bonne capacité à produire des protéines et des sucres réducteurs sur paille ce qui suppose une activité cellulolytique. La souche 23 et la souche 15 ont été retenues.

Elle ont été identifiées respectivement par le département de Botanique de l'I.N.A d'El-Harrach, et par le muséum d'histoire naturelle de PARIS, comme étant Trichoderma viride et Myrothecium verrucaria. Ces deux souches ont donc fait l'objet d'étude plus approfondie.

EXPERIENCE 2 : RECHERCHE D'UN TAUX D'HUMIDITE POUR LA  
CROISSANCE DES SOUCHES *Trichoderma viride*  
ET *Mirothecium verrucaria*.

Compte tenu de la valeur relativement faible de la masse volumique des pailles, de fortes quantités d'eau sont nécessaires pour humidifier correctement ce substrat.

Les travaux d'ICONOMOU (1982) indiquent des taux d'humidité d'environ 80 % pour la croissance de *Trichoderma album* sur paille. Nous avons choisi les taux 80, 84 et 87 %.

A chaque taux d'humidité est associé 3 pH (4 - 5 et 6).

Les solutions minérales (STARON n° 2) sont calculées de telle sorte que les quantités d'éléments soient identiques dans chaque boîte de pétri (Tableau 18).

Tableau 18 : Quantité des différents éléments minéraux  
apportés par STARON n° 2 (1984) pour les  
trois taux d'humidité.

Eléments minéraux	Q U A N T I T E S		
	Humidité 80 %	Humidité 84 %	Humidité 87 %
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (g)	0.91	0.71	0.61
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K (g)	0.22	0.79	0.15
SO <sub>4</sub> Mg 6H <sub>2</sub> O (mg)	144	95	76
KCl (mg)	45.6	38	30.4
Ca Cl <sub>2</sub> (mg)	45.6	38	30.4
Zn SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O (mg)	2.28	1.9	1.52
Cu SO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O (mg)	0.21	0.18	0.14
Fe SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O (mg)	6.48	5.7	4.56
Eau q.s.p		1000 ml	

Les souches conservées au froid subissent deux régénérations sur milieu M.E.A modifié de composition suivante :

- Extrait de Malt	20g,
- Agar	20g,
- Lactose	20g,
- Peptone	1g,

Le lactose étant connu comme inducteur de la synthèse de cellulose.

#### 1.- Procédés de culture et traitement des pailles traitées.

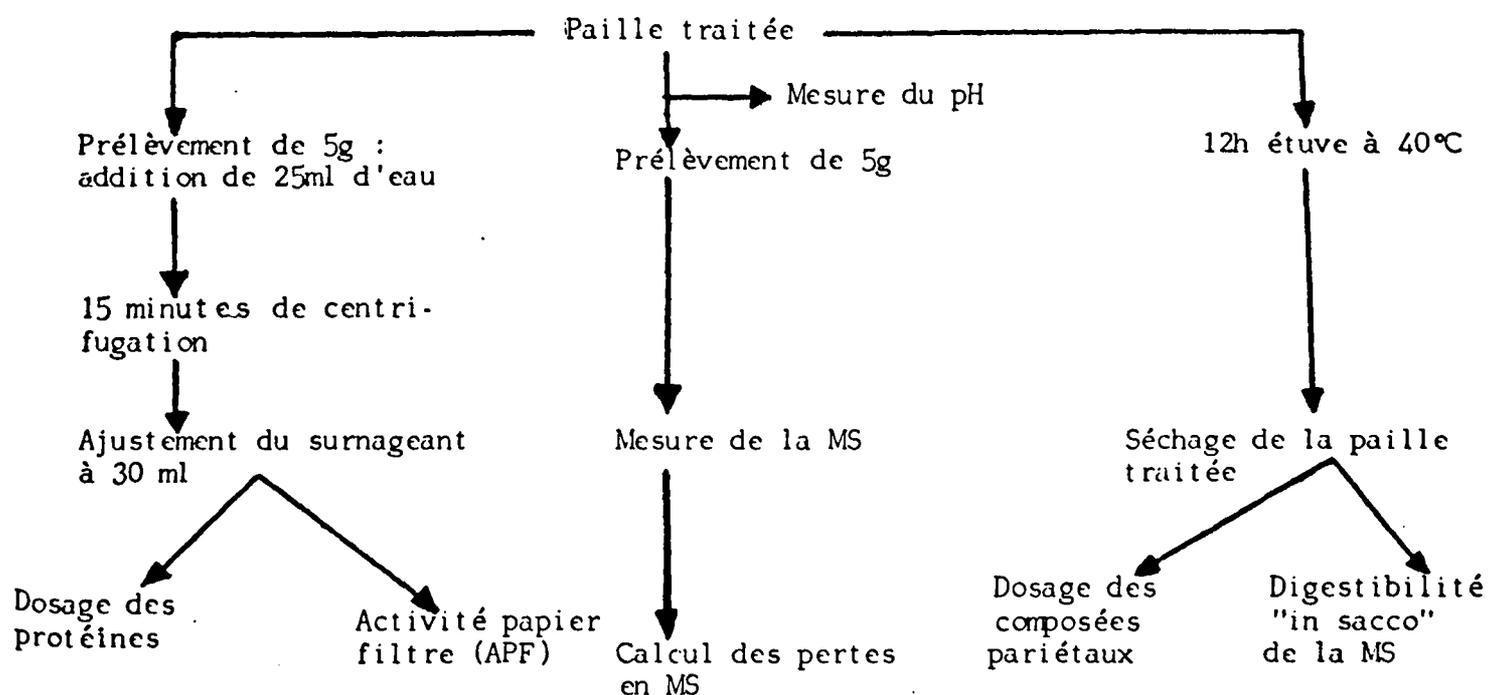
Dans une boîte de pétri de 210mm de diamètre, 16g de paille (dosant 92 p.100 de M.S. et 3,7 p.100 de M.A.T) finement broyée (grille de 0,8 mm) sont amenés à chaque taux d'humidité avec la solution minérale STARON n°2 (1984) ajustée aux différents pH avec une solution normale d'acide ortho-phosphorique.

Les boîtes de pétri ainsi préparées sont stérilisées à l'autoclave pendant 30 minutes à 120°C pour chaque taux d'humidité et pour un pH de 5, un témoin ensemencé mais non incubé est réalisé et traité dans les mêmes conditions que précédemment (il permet de doser notamment la quantité d'azote apporté par le mycélium de l'inoculum). Par addition de la solution minérale de sulfate d'ammonium enrichie de mycélium d'insémination (culture de 3 jours), tous les échantillons sont amenés à la teneur de 10 p.100 en matières azotées totales par rapport à la matière sèche (3,7 p.100 natifs de la paille ; 6,3 p.100 apportés par la solution minérale).

Après 8 jours de culture à 28°C, la biomasse est obtenue et traitée selon le schéma 1.

Les essais sont effectués en double et répétés 2 fois dans le temps.

Schéma 1 : Processus de traitement de la paille.



2.- Analyses.

a.)- Dosage de l'activité papier filtre (APF) :

(MANDELS, ANDREOTTI et ROCHE 1976).

Dans des tubes à essai de 16 mm de diamètre sont placés :

- 1 rectangle de 1 x 6 cm de papier Wattman N°1,
- 1 ml de tampon citrate - phosphate de 0,05 M ;  
pH = 4.8 (mélange de 59 ml de sodium acétate  
trihydraté + 49 ml d'acide acétique pour 100ml  
d'eau distillée).

- 1 ml de solution à doser.

Les tubes sont portés au bain-marie à 50°C pendant 1 heure. Puis, 3 ml de D.N.S (acide dinitro - salicylique) sont ajoutés.

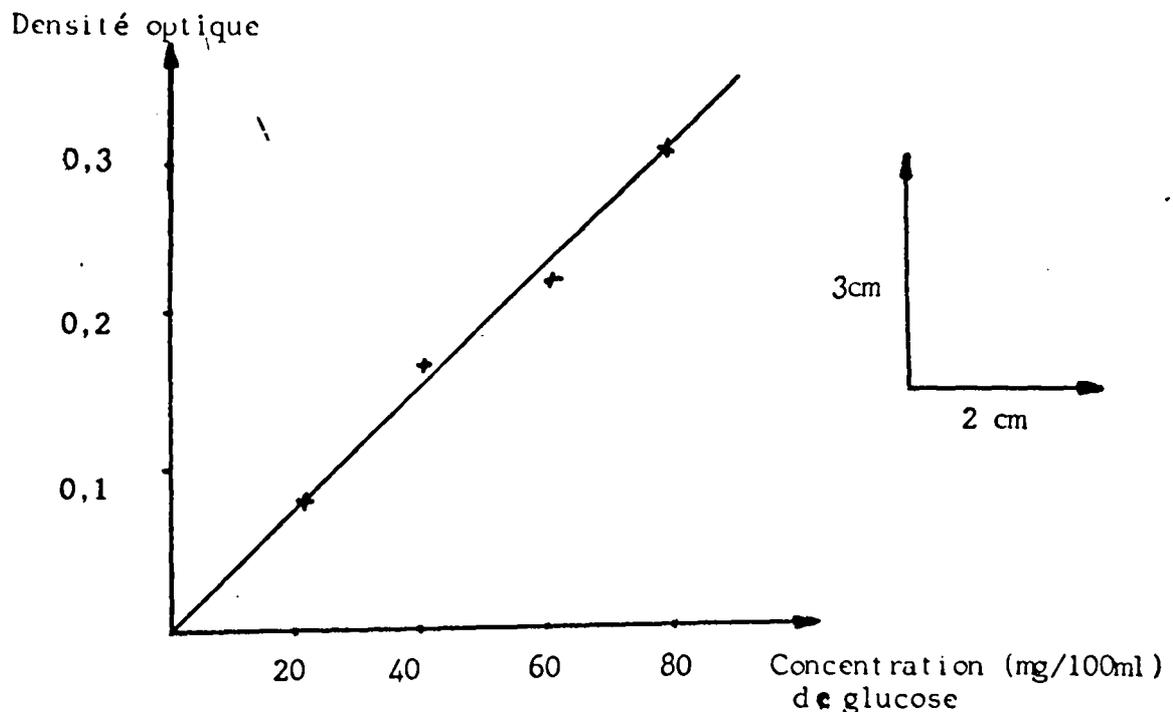
Après les avoir agités, ils sont remis au bain bouillant pendant 3 minutes.

A l'issue de ce traitement, 16 ml d'eau distillée sont ajoutés dans chaque tube.

La lecture est faite à 575 nm par référence à une gamme étalon allant de 0 à 0,8g de glucose/l (Figure 11).

Trois tubes témoins (sans enzymes) et trois tubes constituant un blanc (sans papier Wattman) sont réalisés dans les mêmes conditions.

Figure 11 : Courbe d'étalonnage du dosage des sucres réducteurs.



CALCUL :

APF = Quantité de sucres réducteurs libérés par ml et par heure.

Les résultats sont exprimés en UI ( $\mu$  moles de glucose/mn/ml).

b) - Dosage des composants de la paroi.

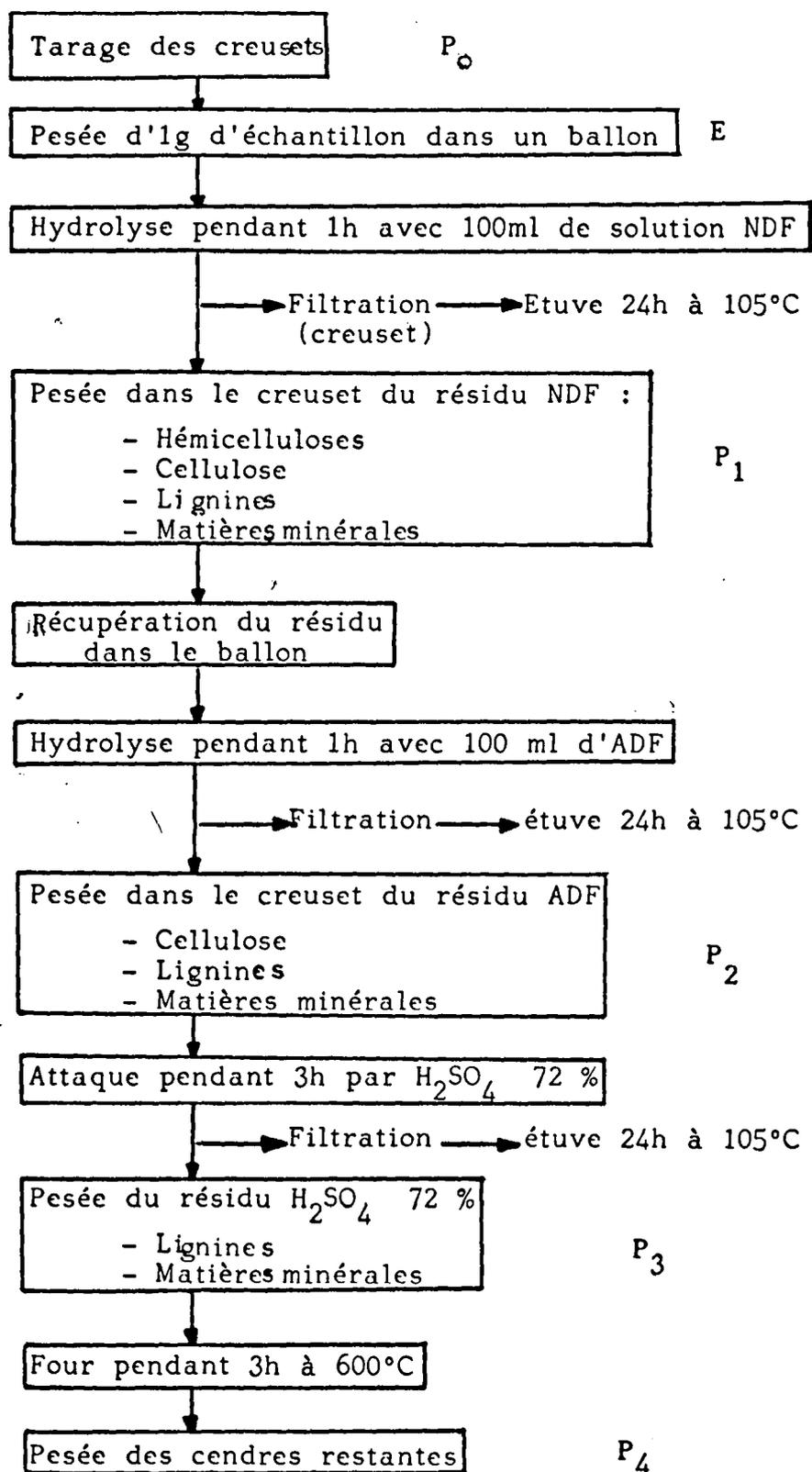
Nous avons utilisé la méthode de VAN-SOEST et WINE (1967) très couramment employée en nutrition.

Principe : La méthode est basée sur le fractionnement des constituants pariétaux par des hydrolyses successives de l'échantillon. Le mode opératoire est montré par le schéma 2.

Le résidu neutre de VAN-SOEST (NDF) contient pratiquement toutes les hémicelluloses, la cellulose et les lignines des fourrages (BAILEY et ULYATT, 1970). Cependant, SOUTHGATE (1969) indique que la méthode de VAN-SOEST sous-estime la teneur en hémicelluloses des fourrages.

Quant au résidu ADF, il contient virtuellement toute la cellulose et les lignines mais également des polysides non cellulosiques et des protéines.

Schéma 2 : Partition des composés pariétaux selon VAN-SOEST et WINE (1967).



Calcul :

$$\text{Hémicelluloses} \quad : \quad \frac{P1 - P2}{E} \times 100$$

$$\text{Cellulose} \quad : \quad \frac{P3 - P4}{E} \times 100$$

$$\text{N.D.F} \quad : \quad \frac{P1 - P4}{E} \times 100$$

$$\text{A.D.F} \quad : \quad \frac{P2 - P4}{E} \times 100$$

La composition des différentes solutions d'hydrolyse est présentée dans le tableau 19.

Tableau 19 : Composition des solutions d'hydrolyse.

PRODUITS	QUANTITES
<u>NDF</u> : <u>Neutral detergent fiber</u>	
- Lauryl sulfate de sodium	30.0g
- Phosphate de sodium	4.56g
- E.D.T.A.	18.61g
- Borate de sodium 10 H <sub>2</sub> O	6.81g
- 2 éthoxyl - éthanol éthylglycol	10 ml
- Eau distillée q.s.p	1000 ml
<u>ADF</u> : <u>Acid detergent fiber</u>	
- C.T.A.B	20.0g
- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (N)	1 capsule
<u>Lignines</u> :	
- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 72 %	670ml d'H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 415ml H <sub>2</sub> O

### 3.- Mesures.

#### a.)- Digestibilité "in sacco" de la matière sèche.

##### Principe :

La digestibilité de la matière sèche des échantillons est mesurée dans des sachets en nylon placés dans le rumen de mouton muni de fistules.

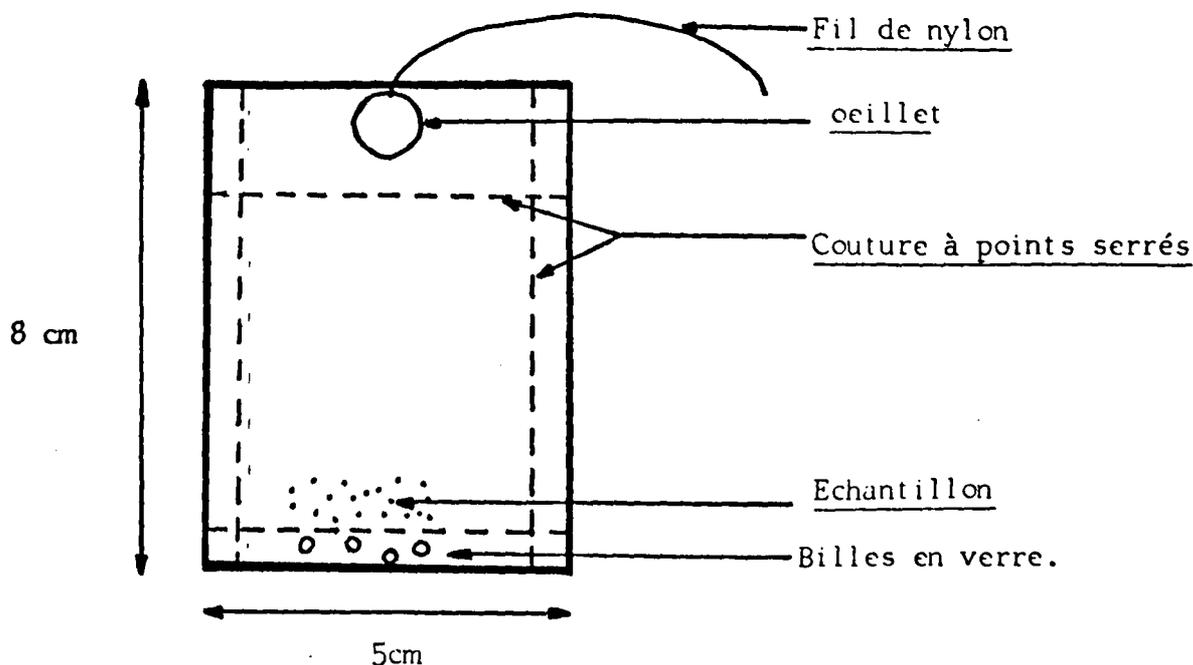
La méthode que nous avons utilisée est inspirée de celle de DEMARQUILLY et CHENOST (1969).

##### Mode opératoire.

Les sachets de dimensions 8 x 5cm sont confectionnés à partir d'un tissu en nylon dont le diamètre des mailles est  $< 50 \mu\text{m}$ .

Trois côtés du sachet sont fermés par une couture à points très serrés réalisée avec du fil synthétique. Le quatrième côté est fermé après introduction de 1g d'échantillon. Les sachets par paquets de neuf sont introduits dans le rumen. Chaque sachet est lesté par des billes en verre (Schéma 3).

Schéma 3 : Sachet prêt à être mis dans le rumen.



Les moutons utilisés sont de race Ouled Djellal, fistulés du rumen et recevant une ration journalière composée de 1Kg de foin de vesce - avoine de qualité moyenne et de 150g de tourteau de Soja.

Après une incubation de 48h dans le rumen, les sachets sont lavés abondamment à l'eau chaude puis sont introduits dans des tubes à centrifuger de 100 ml contenant 50 ml de solution de pepsine (2g + 10 ml d'Hcl normal + eau distillée q.s.p 1 litre) qui sont de nouveau incubés pendant 48h dans un bain-marie à 39°C.

Les sachets sont ensuite retirés, lavés et séchés à l'étuve jusqu'à poids constant.

CALCUL :

$$dMS(\%) = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100$$

$m_0$  = Poids de la matière sèche incubé;

$m_1$  = poids de la matière sèche après incubation.

dMS (%) = digestibilité de la matière sèche.

b) Calcul des pertes en MS :

A l'issue de la période de culture, le bilan quantité de MS incubée et quantité de MS récoltée est réalisé et les pertes apparentes de MS sont calculées selon l'expression :

$$MS_{ap} = \frac{x_0 - x_n}{x_0} \times 100$$

$x_0$  = Poids de la MS incubé;

$x_n$  = Poids de la MS récolté.

c) - Mesure du pH.

A l'issue de la culture, 1g de biomasse est prélevé, auquel sont ajoutés 10 ml d'eau. Le flacon est gardé au réfrigérateur durant 24 heures pour limiter les proliférations microbiennes. Après centrifugation la mesure du pH est effectuée sur le surnageant.

EXPERIENCE 3 : CINETIQUE DE LA FERMENTATION DE LA PAILLE.

Le précédent travail réalisé sur 8 jours de culture nous a permis de constater que le pourcentage en lignines (facteur de diminution de la digestibilité) des échantillons traités avait augmenté en moyenne de 12 %.

Pour mieux connaître le temps de culture qui assure une digestibilité maximum, nous avons réalisé une cinétique de fermentation sur 16 jours.

Pour cela, nous avons choisi l'échantillon pH 5- Humidité 87% de la souche Myrothecium verrucaria qui a présenté des résultats corrects de digestibilité et de synthèse protéique.

Les préparations des boîtes et les conditions de culture sont celles décrites précédemment. Tous les 2 jours, 2 boîtes de pétri sont prélevées en vue d'analyses (Schéma 1).

EXPERIENCE 4 : PRODUCTION DE PAILLE TRAITEE PAR Myrothecium verrucaria.

Connaissant la température optimum de culture de Myrothecium verrucaria ; (27°C) ; le pH ; le taux d'humidité et grossièrement le temps de culture; nous avons tenté de produire de la paille traitée à l'aide d'un dispositif de culture en affinant davantage le facteur temps de culture et en introduisant respectivement deux nouveaux paramètres de culture (le taux azoté et l'apport d'air) et une nouvelle mesure (le CO<sub>2</sub> dégagé au cours de la culture).

Pour ce travail, nous avons choisi l'échantillon pH 5 - Humidité 80 %, car des essais préliminaires nous ont permis de constater qu'à un fort taux d'humidité, la paille se tasse formant ainsi une pâte, empêchant la croissance du champignon.

Trois teneurs en azote apportées par du sulfate d'ammonium sont testées (6 ; 10 et 14 %) durant trois jours de culture. Des prélèvements sont effectués toutes les 12h après 24h de culture c'est-à-dire à 36 ; 48 ; 60 et 72h de culture car il y a peu de croissance avant ce temps d'incubation de 24h.

#### MODE OPERATOIRE.

Les colonnes, les tuyaux et les erlens sont stérilisés à 100°C à l'autoclave pendant 30 minutes avant chaque essai. Les différents échantillons de paille (6 ; 10 et 14 % d'N) préparés, homogénéisés, stérilisés et ensemencés comme précédemment sont introduits dans la colonne en milieu stérile puis fermés hermétiquement.

L'air qui a balayé la collone est recueilli dans des tubes à centrifuger de 100 ml contenant 15 ml de solution de soude 2 N pour piéger le CO<sub>2</sub> de respiration.

Toutes les 12h (36 . 48 ; 60 et 72h), une colonne est prélevée, la paille récupérée subit le même traitement que précédemment (Schéma 1).

Les tubes de NaOH sont également prélevés toutes les 12h (mais de 0 à 72h pour le dosage de CO<sub>2</sub>).

#### DOSAGE DU CO<sub>2</sub>.

Principe : Le carbonate de sodium formé et précipité par addition de 60 ml de Ba Cl<sub>2</sub> à 20 %.

La soude résiduelle est dosée par titrimétrie jusqu'à virage au blanc par l'HCl 2N en présence de quelques gouttes de solutions de phénolphtaleine à 1 % dans l'éthanol.

Calcul.

Le CO<sub>2</sub> rejeté exprimé en g est calculé par la formule :

$$\text{CO}_2 \text{ (g)} = 0,044 (14,8 - x),$$

x = Volume d'HCl nécessaire pour neutraliser l'excès de soude.

14,8 = Volume d'HCl 2N nécessaire pour neutraliser 15 ml de soude 2N dans nos conditions expérimentales.

Les résultats sont exprimés en g de CO<sub>2</sub>/100g de MS récoltés.

Description du dispositif d'incubation.

Le dispositif que nous avons utilisé est inspiré de celui de RAIMBAULT (1981).

Dans un bac rempli d'eau maintenue à une température de 27°C (à l'aide d'une pompe thermostatique régulée par un thermomètre à contact) sont disposées 4 colonnes réactionnelles.

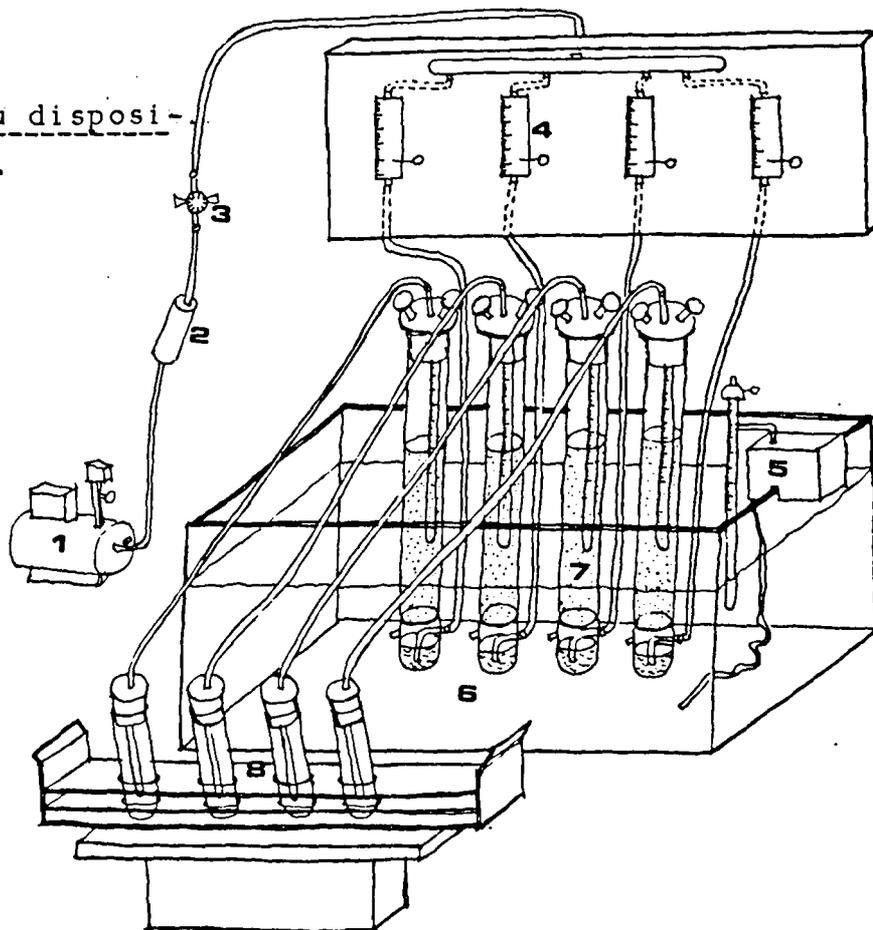
(Schéma 4).

Chaque colonne est reliée à une arrivée d'air filtré produit par un compresseur. Avant de circuler dans le milieu de culture, l'air barbote dans un erlenmeyer contenant une solution de streptomycine (5 ml pour 1.5l d'eau) pour éliminer tout risque de contamination, puis réchauffé à la température du bac.

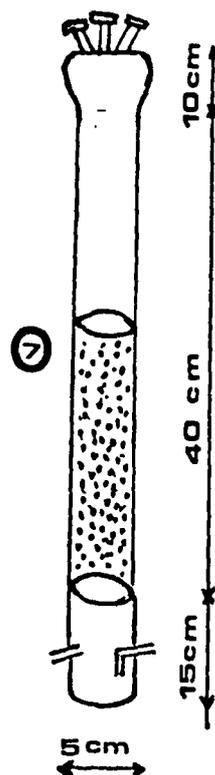
Le schéma 4 présente le détail du dispositif utilisé.

Le volume d'air qui circule dans la colonne a été mesuré à l'aide d'un débitmètre à bulles et fixé à 6l/h (RAIMBAULT, 1981).

Schéma 4 : Détails du dispositif utilisé.



1. Compresseur.
2. Filtre.
3. Manodétendeur.
4. Débitmètre.
5. Pompe thermostatique
6. Bain-Marie.
7. Colonne de fermentation
8. Tubes de piégeage du  $\text{CO}_2$



# **3° PARTIE**

**RESULTATS ET DISCUSSION**

**CCNCLUSION**

## RESULTATS

EXPERIENCE 1 : ISOELEMENT ET CHOIX DES SOUCHES.

EXPERIENCE 2 : EFFET DE L'HUMIDITE ET DU pH SUR LA CROISSANCE

EXPERIENCE 3 : CINETIQUE DE FERMENTATION DE LA PAILLE.

EXPERIENCE 4 : PRODUCTION DE PAILLE TRAITEE PAR  
Myrothecium verrucaria.

EXPERIENCE 1 : ISOLEMENT ET CHOIX DES SOUCHES.

L'opération d'isolement et la purification nous a permis d'obtenir 23 souches de champignons qui ont fait l'objet d'un criblage sur la base de leur capacité à produire des sucres réducteurs et à synthétiser des protéines à partir d'un substrat paille. Les résultats sont reportés dans le tableau 20.

Tableau 20 : Screening des souches isolées.

Souches	Concentration en mg/l de milieu	
	Sucres réducteurs	Protéines
1	120	260
2	0	260
3	120	218
4	120	218
5	10	226
6	10	242
7	120	260
8	120	218
9	10	242
10	10	200
11	10	218
12	10	218
13	180	184
14	240	184
15	240	218
16	120	200
17	120	206
18	120	242
19	120	184
20	10	200
21	10	226
22	120	260
23	180	226

Il apparaît que 9 souches dégradent très faiblement ou pas du tout la paille. 14 autres génèrent des sucres réducteurs dont 4 approchent ou dépassent 200 mg/l.

Quant aux protéines, les 23 souches en synthétisent. Les quantités s'établissent à 180 mg/l pour la souche 13 ; 14 et 19 à 206 pour la souche 17.

Il est à signaler que la souche 2 qui ne dégrade pas le substrat paille, synthétise néanmoins 260 mg/l de solution il est vrai que les 10 ml d'inoculum utilisés pour ensemencer la paille renferment des protéines. Dans nos conditions expérimentales ; il apparaît que la concentration en protéines n'est pas un critère totalement fiable pour sélectionner des souches cellulolytiques. Ainsi avons-nous porté notre choix sur les souches 15 et 23. La souche 14 aurait pu être retenue, mais nous avons jugé la concentration en protéines trop faible (la plus faible des 23 souches). Mais objectivement, les concentrations en protéines, mesurées pour l'ensemble des souches sont faibles comparativement à celles rapportées par d'autres auteurs notamment par ROUSSOS (1981) qui sur 9 souches de Trichoderma et 2 souches d'Aspergillus cultivées sur milieu de MANDELS et WEBER à 1 p.100 de cellulose avicel a obtenu des concentrations en protéines allant de 560 à 1240 mg/l. Cet auteur n'a pas obtenu de concentration de sucre réducteur supérieur à 130 mg/l.

#### EXPERIENCE 2 : EFFET DE L'HUMIDITE ET DU pH SUR LA CROISSANCE.

Pour étudier l'influence du pH et de l'humidité sur la croissance des 2 souches retenues nous avons mesurés les paramètres suivants :

- La teneur en protéines de la biomasse.
- L'activité papier filtre (APF) et le degré de dégradation des composés pariétaux de la paille par les 2 souches;
- Le niveau de perte en matière sèche;
- La digestibilité de la biomasse récoltée.

Après 24 à 36 heures de culture, la surface des échantillons de paille présente de nombreux boutons blancs de mycélium. L'envahissement total du milieu commence au bout de 48 heures : A la fin de la culture, la paille est prise en masse et présente un aspect grumeleux.

A.- TENEUR EN MATIERE SECHE DES ECHANTILLONS DE PAILLE TRAITEE.

Au départ de la culture, la teneur en matière sèche des préparations était de 20 ; 16 et 13 p.100. A la fin de la période de culture (8 jours), elle est tombée en moyenne respectivement à 16 . 13 et 11 p.100 indistinctement pour les 2 souches de champignons (Tableau 21).

Cet enrichissement en eau n'est pas affecté par le pH ; il s'explique par la production d'eau métabolique par les organismes. Il est donc important lors du choix d'un taux d'humidité de prendre en compte cette production d'eau.

Tableau 21 : Teneur en matière sèche des pailles traitées.

Echantillons (1)	Teneur en MS avant fermentation (%°)	Teneur en MS après fermentation (%)	
		T.V.	M.V.
4.80 5.80 6.80	20	15.6 16.2 15.6	17.2 16.1 17.7
Moyenne		15.8 <sup>a</sup>	16.3 <sup>a</sup>
4.84 5.84 6.84	16	13.4 12.9 12.7	13.4 13.4 13.0
Moyenne		13.0 <sup>a</sup>	13.3 <sup>a</sup>
4.87 5.87 6.87	13	12.3 11.6 11.6	11.3 11.6 11.6
Moyenne		11.8 <sup>a</sup>	11.5 <sup>a</sup>

(1) A chaque pH ; 4;5 et 6 est associé une humidité 80 ; 84 et 87 %.

T.V = *Trichoderma viride*.

M.V = *Myrothecium verrucaria*.

Sur une même ligne, les valeurs affectées de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de STUDENT, P = 0.05).

## B.- ACTIVITE PAPIER FILTRE.

L'activité papier filtre du milieu de culture correspond à la mesure de l'activité du complexe cellulosique (endo et exoglucannase +  $\beta$  - glucosidase).

L'APF est significativement plus élevée pour les échantillons traités par T.V que pour ceux traités par M.V (+ 3 points en moyenne) (Tableau 22).

Par ailleurs, aussi bien pour T.V que pour M.V, l'activité papier filtre diminue significativement avec le taux d'humidité.

Nous observons également que le pH associé à chaque taux d'humidité affecte l'APF de manière différente pour T.V et pour M.V. Ainsi, pour M.V, l'APF est toujours plus élevée pour le pH 4 aussi bien pour l'humidité 80 que pour l'humidité 84 et 87 p.100.

Tandis que pour T.V, l'APF la plus élevée s'observe pour le pH 5 de l'humidité 80 et 84 et pour le pH 6 de l'humidité 87.

Tableau 22 : Effet du pH et de l'humidité sur l'APF  
(UI :  $\mu$  moles/ml/mn).

Echantillons (1)	A . P . F.	
	T.V	M.V.
4-80	5.2 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	2.6 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>
5-80	6.5 $\pm$ 1.3a	1.9 $\pm$ 0.4b
6-80	6.2 $\pm$ 0.4a	2.0 $\pm$ 0.5b
Moyenne	5.9 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	2.2 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>
4-84	4.4 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>	2.0 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>
5-84	4.5 $\pm$ 0.5a	1.9 $\pm$ 0.6b
6-84	3.9 $\pm$ 0.6a	1.2 $\pm$ 0.5b
Moyenne	4.3 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	1.7 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>
4-87	3.9 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	0.9 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>
5-87	3.2 $\pm$ 0.4a	0.5 $\pm$ 0.2b
6-87	4.4 $\pm$ 0.9a	0.7 $\pm$ 0.5b
Moyenne	3.8 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	0.7 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>

(1) à chaque pH 4;5 et 6 est associé une humidité 80;84 et 87 %  
T.V = *Trichoderma viride*.

M.V = *Myrothecium verrucaria*.

Sur une même ligne, les valeurs affectées de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de STUDENT, P=0.05).

### C - TENEUR EN COMPOSES PARIETAUX DES PAILLES TRAITEES.

Le tableau 23 présente d'une part, la quantité de MS solubilisée par la solution NDF ainsi que les valeurs de NDF et d'autre part, la proportion de cellulose, d'hémicelluloses et de lignines que renferme le résidu NDF. Mais auparavant, il nous paraît nécessaire de repréciser la signification chimique des termes : cellulose, hémicelluloses et lignines lorsque ces composants sont obtenus par la méthode de VAN-SOEST, (1967)

De nombreux auteurs (BAILEY et ULYATT, 1970 ; RIQUET, 1979) rapportent que la fraction cellulose est contaminée par des quantités substantielles de résidus hémicellulosiques (notamment par le xylose) et par des protéines.

Quant à la fraction hémicellulosique, elle serait sous-estimée car le réactif au détergent neutre solubilise des unités hémicellulosiques (RIQUET, 1979 ; SOUTHGATE, 1969), il solubiliserait également des composants phénoliques et des lignines, cette fraction serait donc légèrement sous-estimée. Nous utiliserons néanmoins dans nos commentaires les termes de cellulose, hémicelluloses et lignines.

Les éléments solubilisés par le réactif NDF dans le cas de la paille sont selon RIQUET (1979) des protéines ; des lipides (en faibles quantités), des composés phénoliques, des sucres et des composants hémicellulosiques.

Comparativement aux témoins autoclavés mais non ensemencés, la matière sèche solubilisée par la solution NDF augmente en moyenne de 6,8 et 2,7 points respectivement pour les échantillons T.V et M.V. Cet accroissement s'expliquerait par l'apport en éléments solubles du mycélium, il serait donc un indicateur grossier de la croissance des champignons.

Tableau 23 : Partition de 100g de MS et teneur en composés pariétaux (% MS)  
des pailles avant et après traitement (méthode de VAN-SOEST, 1967).

Echantillons (1)	Partition de 100g de MS				Composition des parois végétales					
	Matière sèche solubilisée		N.D.F.		Cellulose		Hémicelluloses		Lignines	
Paille autoclavée 5 - 80	27.7		72.3		41.1		27.8		6.2	
5 - 84	26.9		73.1		41.6		27.1		6.1	
5 - 87	26.4		73.6		41.5		26.6		5.6	
Moyenne	27.0		73.0		41.4		27.7		5.9	
Paille traitée	T.V	M.V	T.V	M.V	T.V	M.V	T.V	M.V	T.V	M.V
4 - 80	33.9	28.9	66.1	71.1	32.8	34.5	24.0	28.5	8.8	6.7
5 - 80	32.8	30.0	67.2	70.0	30.8	33.6	21.1	27.8	10.5	6.2
6 - 80	33.1	29.5	66.9	70.5	30.7	33.9	27.2	27.8	8.3	6.5
4 - 84	32.8	30.9	67.2	69.1	31.7	33.3	27.8	26.9	11.1	6.4
5 - 84	33.6	29.4	66.4	70.6	25.2	34.8	27.3	28.1	13.5	6.6
6 - 84	30.2	31.2	66.8	68.8	27.2	33.5	27.1	26.4	10.7	6.6
4 - 87	34.5	28.4	65.5	71.6	29.8	33.7	27.9	28.8	11.3	6.9
5 - 87	32.9	29.4	67.1	70.6	28.7	35.7	27.7	26.9	12.2	6.7
6 - 87	31.8	29.6	68.2	70.4	31.9	35.4	27.1	26.8	12.9	6.4
Moyenne	33.8 <sup>a</sup> ± 0.68	29.7 <sup>b</sup> ± 0.79	66.8 <sup>a</sup> ± 0.72	70.3 <sup>b</sup> ± 0.79	29.8 <sup>a</sup> ± 0.79	34.3 <sup>b</sup> ± 0.82	26.3 <sup>a</sup> ± 2.16	27.5 <sup>a</sup> ± 0.79	11.0 <sup>a</sup> ± 1.62	6.5 <sup>b</sup> ± 0.19

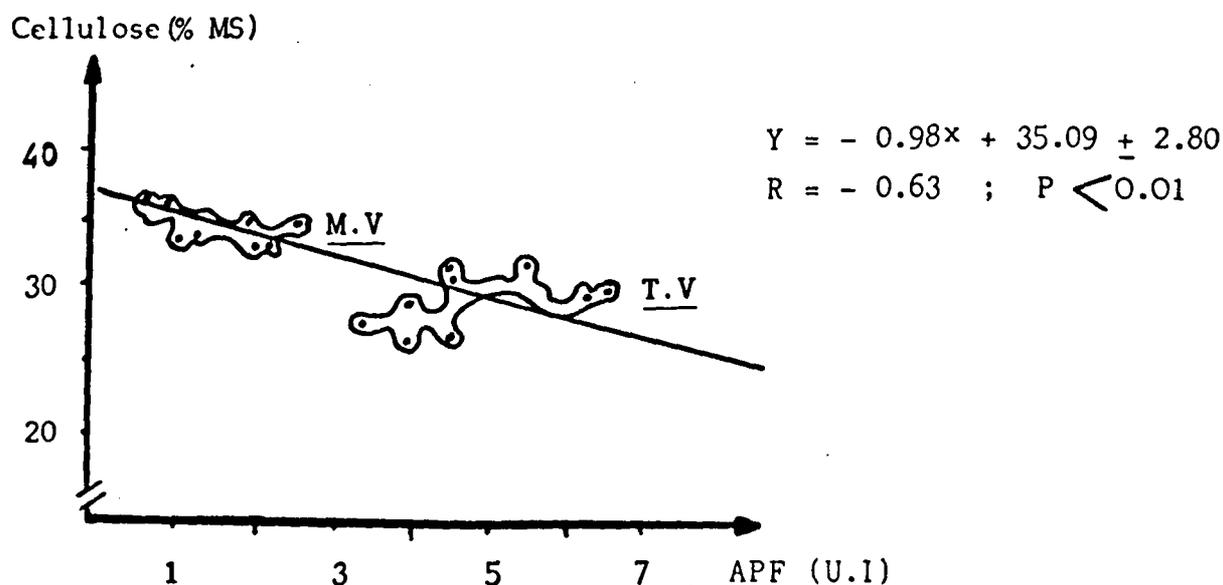
Il est intéressant d'analyser la composition centésimale de la paroi végétale : Il apparaît que la cellulose est le seul composant de la paroi utilisé par les 2 souches de moisissures. En moyenne, "la ponction" effectuée par Trichoderma est plus forte (- 11,5 points) que celle effectuée par Myrothecium (- 7.1 points). Ces résultats sont en accord avec les valeurs de l'activité papier filtre consignées dans le tableau 22.

La diminution de la teneur en cellulose du résidu NDF ne modifie pas les teneurs en hémicelluloses, mais nous observons une forte progression des lignines, notamment pour les échantillons Trichoderma (5.08 points) et à moindre degré pour les échantillons Myrothecium (0.6 points).

Le pH et le taux d'humidité ne semblent pas affecter la composition en paroi des pailles traitées sauf relativement pour les échantillons Trichoderma pH 5 et pH 6 du taux d'humidité 84 p.100 pour lesquels nous notons une plus forte dégradation de la cellulose (3,7. points en moyenne).

Logiquement la teneur en cellulose des échantillons traités devrait être d'autant plus élevée que l'APF est faible. C'est bien ce que la figure 12 illustre.

Figure 12 : Relation entre la teneur en cellulose et l'activité papier filtre des échantillons.



D.- PERTES EN MATIERE SECHE EN COURS DE CULTURE.

Les moisissures, pour tirer l'énergie nécessaire à leur croissance, dégradent le substrat paille, il en résulte donc des pertes de matière sèche dont les valeurs sont présentées dans le tableau 24.

Tableau 24 : Pertes de MS après traitement

Echantillons (1)	MS paille incubée (g)	MS résiduelle après traite- ment (g)		Pertes en MS (g)		Pertes en MS (%)	
		T.M	M.V	T.V	M.V	T.V	M.V
4 - 80	14,7	13,4	13,4	1,3	1,3	8,8	8,6
5 - 80	14,7	13,3	13,5	1,4	1,2	9,2	8,4
6 - 80	14,7	13,2	13,4	1,5	1,2	10,0	8,5
4 - 84	14,7	13,4	13,8	1,3	0,9	8,8	6,2
5 - 84	14,7	13,3	13,5	1,4	1,2	9,3	8,2
6 - 84	14,7	13,3	13,4	1,4	1,3	9,7	8,9
4 - 87	14,7	13,3	13,7	1,4	1,0	9,8	7,0
5 - 87	14,7	13,3	13,9	1,3	0,7	9,2	5,1
6 - 87	14,7	13,3	13,7	1,4	0,9	9,4	6,5
Moyenne	14,7	13,3 ± 0,05 <sup>a</sup>	13,6 ± 0,17 <sup>a</sup>	1,4 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,19 <sup>b</sup>	9,4 ± 0,39 <sup>a</sup>	7,5 ± 1,25 <sup>b</sup>

(1) à chaque pH 4 ; 5 et 6 est associé une humidité 80 ; 84 et 87 %.

T.V = *Trichoderma viride*.

M.V = *Myrothecium verrucaria*.

Pour une même rubrique, les valeurs affectées de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de STUDENT, P = 0.05).

Pour 100g de paille incubée, les valeurs s'établissent en moyenne à 9.4 et à 7.5 p.100 respectivement pour les échantillons Trichoderma et Myrothecium. Concernant ce dernier organisme, nous avons enregistré des pertes de matière sèche plus faibles pour les échantillons du taux d'humidité 87 p.100 (6.2 p.100 contre 7.5 p.100 en moyenne pour l'ensemble des échantillons). Ces pertes intéressent essentiellement les composants celluloseux et à moindre degré, les composants hémicelluloseux de la paroi (Tableau 23).

#### E.- TENEUR EN PROTEINES DES PAILLES TRAITEES ET UTILISATION DE L'AZOTE.

##### 1.- Teneur en protéines totales des échantillons traités.

La quantité de protéines totales mycéliennes dosée/100g de MS de paille récoltées est nettement plus élevée pour les échantillons M.V (3.7 à 5.4g) que pour les échantillons T.V (2 à 4.2g). Par ailleurs il apparaît que T.V synthétise plus de protéines en humidité 80 p.100 que pour les autres taux d'humidité (3.9 contre 2.9g en moyenne). Par contre pour M.V, c'est l'humidité 87 p.100 qui a permis la synthèse maximum de protéines mycéliennes (5.3g contre 4.3g).

Pour un taux d'humidité donné, le pH ne semble pas affecter la synthèse de protéines des organismes à l'exception toutefois du pH 4 - H°, 84 p.100, de l'organisme T.V. En associant à cette synthèse de protéines, la teneur native de la paille en cet élément (en considérant que les protéines natives de la paille n'ont pas été dégradées par les champignons au cours des 8 jours de culture), nous obtenons la teneur totale en protéines de 100g de paille. Les valeurs se situent en moyenne à 6.9 (5.7 à 7.9g) et à 8.4g (7.4 à 9.1g) respectivement pour les échantillons T.V et M.V (Tableau 25).

Tableau 25 : Teneur en protéines totales de la paille traitée.

Echantillons (1)	g. de protéines synthétisées/100 de MS de paille traitée		Protéines natives de la paille (2) g/100g de MS		Teneur en protéines totales de la paille traitée g/100g de MS	
	T.V	M.V	T.V	M.V	T.V	M.V
4 - 80	3.8	4.5	3.7	3.7	7.5	8.2
5 - 80	4.2	3.7	3.7	3.7	7.9	7.4
6 - 80	3.7	4.0	3.7	3.7	7.4	7.7
4 - 84	2.0	4.5	3.7	3.7	5.7	8.2
5 - 84	3.3	4.5	3.7	3.7	7.0	8.2
6 - 84	2.9	4.9	3.7	3.7	6.6	8.6
4 - 87	3.3	5.3	3.7	3.7	7.0	9.0
5 - 87	2.9	5.4	3.7	3.7	6.6	9.1
6 - 87	3.1	5.2	3.7	3.7	6.8	8.9
Moyenne	3.3	4.7	3.7	3.7	6.9	8.4
	± 0.44a	± 0.55b	± 0.0	± 0,0	± 0.44a	± 0.55b

(1) à chaque pH 4 ; 5 et 6 est associé une humidité 80 ; 84 et 87 %.

(2) Doser par la méthode de KJELDAHL.

M.V = *Myrothecium verrucaria*.

T.V = *Trichoderma viride*.

Pour une même rubrique, les valeurs affectées de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de STUDENT.,  $P = 0.05$ ).

Les valeurs de l'ordre de 9 p.100 enregistrées pour les pailles M.V de l'humidité 87 p.100 correspondent à une utilisation de l'ordre de 37 p.100 de l'azote du sulfate d'ammonium à des fins de synthèse protéique par la moisissure.

Tableau 26 : Utilisation de l'azote par les organismes.

ECHANTILLONS (1)	g. de protéines brutes/100g de MS de paille traitée		Protéines apportées par le mycélium d'inoculum/100g de MS		g. de protéines synthétisées/100g de MS de paille		% du sulfate d'ammonium transformés en protéines		g Hémicelluloses + cellulose+sucres solubles/100g de MS		g protéines synthétisées/g de cellulose+hémicelluloses+sucres solubles	
	T.V	M.V	T.V	M.V	T.V	M.V	T.V	M.V	T.V	M.V	T.V	M.V
4 - 80	3.8	4.5	1.1	1.1	2.7	3.4	42.8	54.0	13.4	8.9	0.20	0.38
5 - 80	4.2	3.7	1.1	1.1	3.1	2.6	49.2	41.3	18.7	9.8	0.16	0.26
6 - 80	3.7	4.0	1.1	1.1	2.6	2.9	41.3	46.0	12.7	9.5	0.20	0.30
4 - 84	2.0	4.5	1.1	1.1	0.9	3.4	14.3	54.0	11.9	10.0	0.07	0.34
5 - 84	3.3	4.5	1.1	1.1	2.2	3.4	34.9	54.0	18.2	8.6	0.12	0.39
6 - 84	2.9	4.9	1.1	1.1	1.8	3.8	28.6	60.3	16.2	9.9	0.11	0.38
4 - 87	3.3	5.3	1.1	1.1	2.2	4.2	34.9	66.7	13.6	9.7	0.16	0.43
5 - 87	2.9	5.4	1.1	1.1	1.8	4.3	28.6	68.2	14.7	7.7	0.12	0.55
6 - 87	3.1	5.2	1.1	1.1	2.0	4.1	31.7	65.0	11.4	8.0	0.17	0.51
Moyenne	3.3 ± 0.60 <sup>a</sup>	4.7 ± 0.55 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	2.1 ± 0.60 <sup>a</sup>	3.5 ± 0.55 <sup>b</sup>	34.0 ± 9.51 <sup>£</sup>	56.6 ± 8.51 <sup>b</sup>	14.5 ± 2.51 <sup>a</sup>	9.12 ± 0.82 <sup>b</sup>	0.14 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.14 <sup>b</sup>

(1) : A chaque pH 4 ; 5 et 6 correspond une humidité 80 ; 84 et 87 %.

T.V = *Trichoderma viride*.

M.V = *Myrothecium verrucaria*.

Dans une même rubrique, les valeurs affectées de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de STUDENT, P=0.05).

Comme le faisait pressentir les résultats du tableau 26 l'azote du sulfate d'ammonium est mieux utilisé par M.V que par T.V : 57 p.100 en moyenne (41 à 68 p.100) contre 34 p.100 (14 à 49 p.100) pour T.V. De même, la quantité de substrat carboné utilisée au cours de la culture est significativement plus faible pour M.V (9.12g contre 14.5g pour T.V) ; il en résulte un rendement de synthèse protéique (en retranchant la quantité de protéines mycéliennes apportée par l'inoculum : 1.1g par 100g de MS de paille mise en culture) en moyenne de 0.14 et 0.38g par g de substrat carboné consommé respectivement pour T.V et pour M.V ( $P < 0.05$ ).

#### F.- DIGESTIBILITE DES ECHANTILLONS DE PAILLES TRAITEES.

Le tableau 27 présente les résultats de digestibilité des pailles traitées par les 2 organismes, dans différentes conditions de pH et d'humidité.

Tableau 27 : Digestibilité "in sacco" de la MS des échantillons de paille avant et après traitement (%).

Témoins autoclavés (1)	Digestibilités de la MS (%) + écart-type			
pH 5 - H°, 80	57.8	+ 3.7		
pH 5 - H°, 84	59.8	+ 3.8		
pH 5 - H°, 87	58.7	+ 4.0		
Moyenne	58.8	+ 0.9		
Pailles traitées	T.V	M.V		
pH 4 - H°, 80	53.7	+ 3.0a	60.3	+ 2.9b
pH 5 - H°, 80	54.0	+ 2.4a	54.4	+ 3.7a
pH 6 - H°, 80	53.0	+ 3.2a	59.2	+ 4.1b
pH 4 - H°, 84	58.1	+ 1.8a	59.1	+ 2.5a
pH 5 - H°, 84	53.5	+ 3.5a	62.4	+ 3.0b
pH 6 - H°, 84	51.1	+ 2.0a	60.1	+ 1.8b
pH 4 - H°, 87	54.3	+ 1.9a	60.9	+ 4.5b
pH 5 - H°, 87	52.3	+ 4.9a	64.4	+ 6.0b
pH 6 - H°, 87	54.4	+ 2.5a	66.6	+ 5.6b
	53.8	+ 3.2	61.1	+ 3.0

(1) à chaque pH ; 4 ; 5 et 6 correspond une humidité 80;84 et 87%

T.V = *Trichoderma viride*.

M.V = *Myrothecium verrucaria*.

Sur une même ligne, les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de STUDENT,  $P \leq 0.05$ ).

Pour les échantillons traités par Trichoderma, le taux d'humidité et le niveau de pH n'affectent pas dans l'ensemble la digestibilité qui s'établit en moyenne à 53.8 p.100, soit 5 points de moins que les échantillons témoins ( $P < 0.01$ ).

Pour ceux traités par Myrothecium, la digestibilité moyenne s'établit à 61.1 p.100 ; elle est significativement différente de celle des témoins (61.1 contre 58.8 p.100 ;  $P < 0.01$ ).

Pour ce dernier organisme, le taux d'humidité influence positivement la digestibilité, ainsi le taux d'humidité de 87 p.100 associé au pH 6, présente une digestibilité de 66.6 p.100.

Par ailleurs, nous observons une forte corrélation entre la digestibilité et la teneur en cellulose et en protéines respectivement (Figure 13 et Figure 14).

Figure 13 : Relation entre la digestibilité "in sacco" et la teneur en cellulose des échantillons.

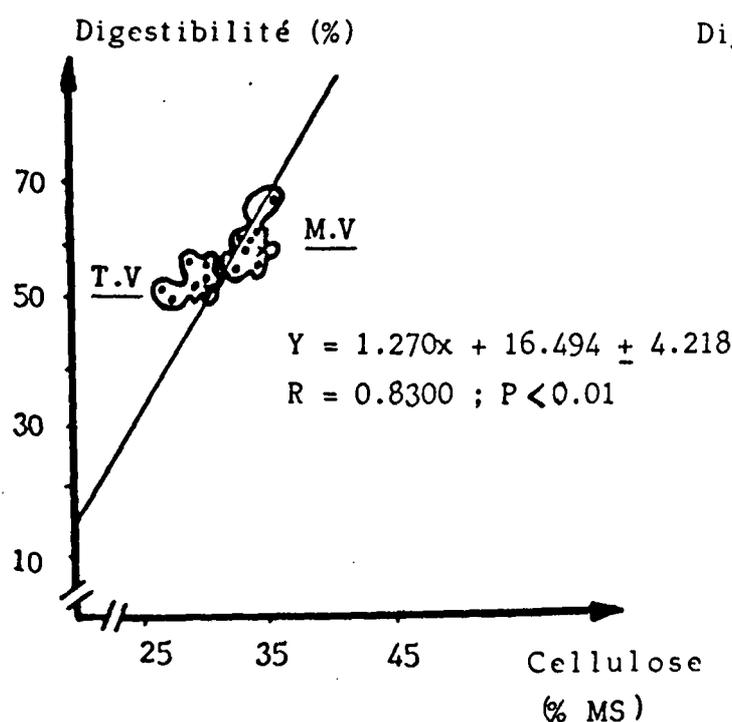
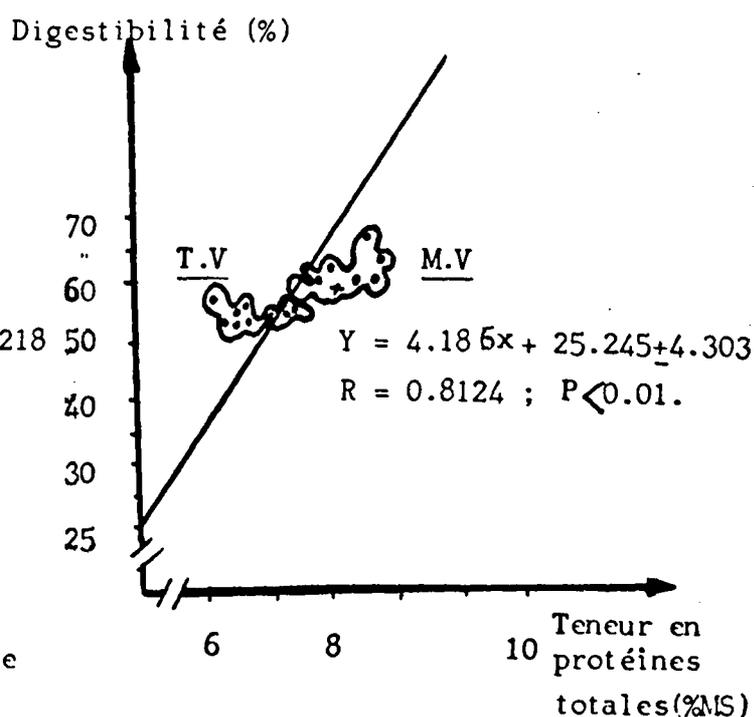


Figure 14 : Relation entre la digestibilité "in sacco" et la teneur en protéines totales des échantillons.



EXPERIENCE 3 : CINETIQUE DE FERMENTATION DE LA PAILLE.

Il ressort de l'expérience 2 que la digestibilité maximum s'observe pour Myrothecium verrucaria au pH 6 et à un taux d'humidité 87 p.100. après 8 jours de culture. Néanmoins, il était intéressant de connaître le comportement de M.V en deçà et au delà de ce temps de culture. Pour cela, nous avons réalisé une cinétique de 16 jours. L'humidité 87 p.100 et pH 5 a été choisie. Car à faible pH les contaminations par des bactéries sont limitées.

A.- TENEUR EN MATIERE SECHE DES ECHANTILLONS ET DISPARITION DE LA MATIERE SECHE EN FONCTION DU TEMPS DE CULTURE.

La teneur en matière sèche des échantillons après incubation diminue avec le temps de culture. Elle passe de 12.9 p.100 après 2 jours de culture à 10.7 p.100 après 16 jours de culture (nous avons précédemment donné l'explication de cet enrichissement en eau). Par ailleurs nous observons qu'après 8 jours de culture nous enregistrons la même valeur de 11.6 p.100 que pour l'expérience 2.

Par contre, les pertes en matière sèche augmentent surtout après le 4e jour de culture. Elles passent de 7.5 à 11.1 p.100 au 8e jour puis se stabilisent à partir du 12e jour de culture à 18.0 p.100 (Tableau 28).

Nous notons que la valeur de 11.1 p.100 est 2 fois plus élevée que celle que nous avons observée pour le même temps de culture pour l'expérience 2, sans que nous puissions toutefois apporter une explication.

Tableau 28 : Variation de la MS avant et après incubation et pertes de MS après incubation.

	MS avant incubation (%)	MS après incubation (%)	Pertes en MS (%)
0 jour	11.97	-	-
2 jour	13.24	12.9	5.4 ± 1.3 <sup>a</sup>
4 jour	12.38	11.7	7.5 ± 1.6 <sup>bc</sup>
6 jour	12.79	11.2	10.1 ± 1.94 <sup>de</sup>
8 jour	12.95	11.6	11.1 ± 1.5 <sup>de</sup>
10 jour	12.37	10.9	14.2 ± 1.8 <sup>f</sup>
12 jour	12.21	10.8	17.8 ± 0.9 <sup>g</sup>
14 jour	13.23	10.2	18.4 ± 0.5 <sup>g</sup>
16 jour	12.49	10.7	18.0 ± 1.8 <sup>g</sup>

*Dans une même colonne, les valeurs qui diffèrent entre elles d'au moins 2 lettres sont significatives (Test de STUDENT ;  $p = 0.05$ ).*

B.- EVOLUTION DU pH ET DE L'APF EN FONCTION DU TEMPS DE CULTURE.

Pour un pH initial de 5, au temps 0 jour, (c'est-à-dire avant autoclavage des échantillons) la valeur s'établit à 5.9 après autoclavage probablement, à la suite de libération d'ions  $\text{NH}_4^+$  à partir du sulfate d'ammonium. Par ailleurs, la paille, milieu complexe, pourrait libérer des sels ou des minéraux alcalins. A partir du 2<sup>e</sup> jour de culture (temps maximum de croissance) nous observons une chute de pH allant de 1 à 2 points jusqu'au 6<sup>e</sup> jour de culture puis apparaît une nouvelle augmentation (Tableau 29).

Tableau 29 : Evolution du pH et de l'APF en fonction du temps de culture.

Temps de culture	pH après incubation	APF (U.I)
0 jour	5.9	0.74 ± 0.08a
2 jour	4.8	1.68 ± 0.22b
4 jour	4.7	1.12 ± 0.14c
6 jour	4.9	1.06 ± 0.08c
8 jour	5.3	1.04 ± 0.22c
10 jour	5.4	1.08 ± 0.11c
12 jour	5.3	1.17 ± 0.07c
14 jour	5.2	1.28 ± 0.24c
16 jour	5.7	1.28 ± 0.23c

*Dans une même colonne, les valeurs affectées de la même lettre ne sont pas significatives (Test de STUDENT, ; P = 0.05).*

Cette diminution de pH que l'on observe couramment pendant la phase de croissance du microorganisme s'expliquerait selon STENBERG (1976) non pas par une libération dans le milieu d'acides organiques par le microorganisme mais par la consommation des ions  $\text{NH}_4^+$  sous forme  $\text{NH}_3$  avec accumulation des ions  $\text{H}^+$ . De la diminution de la croissance qui limite le fonctionnement de ce processus résulte après le 6e jour; une augmentation du pH qui s'établit à 5.7 le 16e jour de culture.

Le pH n'apparaît pas dans cette expérience comme un facteur limitant de la croissance. En plus, la paille exerce un effet tampon non négligeable. Il est vrai que le sulfate d'ammonium en tant que source d'azote ne génère pas comme l'urée (RAIMBAULT 1981 . ANGOIBA, 1986) des pH élevés du milieu.

Quant à l'APF, elle est de 0.74 U.I au temps 0 jour, cette présence de cellulases est liée à l'apport de l'inoculum d'ensemencement, l'APF maximum est observée au 2e jour de culture (1.68 U.I), au 4e jour apparaît une diminution de 30 p.100 de l'APF puis s'instaure un pallier jusqu'au 12e jour à partir duquel nous observons une nouvelle augmentation (bien qu'elle ne soit pas significative). Il est normal qu'à l'APF maximum corresponde le pH minimum du milieu c'est-à-dire au pic de croissance. La valeur la plus élevée enregistrée au bout de 48h de culture est observée par d'autres auteurs notamment ROUSSOS (1981).

C.- VARIATION DES COMPOSANTS DE LA PAROI DE LA PAILLE EN FONCTION DU TEMPS DE CULTURE.

La quantité de matière sèche solubilisée dans la solution NDF passe de 26.4g au temps 0 jour à 34.3g au temps 16 jours soit une augmentation de 7.9 points, mais dès le 2e jour, 43 % de cette augmentation sont déjà réalisés. Parallèlement, le résidu pariétal passe de 73.6 à 70.2g au temps 0 et 2 jours respectivement, il atteint au 16e jour de culture 65.7g (Tableau 30).

Cette diminution de NDF résulte essentiellement de la consommation de cellulose dont la teneur dans la biomasse passe de 41.5 p.100 au temps 0 jour à 30.7 p.100 au 16e jour de culture. Les hémicelluloses diminuent également mais à moindre degré (-3.2 points).

Quant aux lignines, leur teneur augmente de 1.2 point en fin de culture.

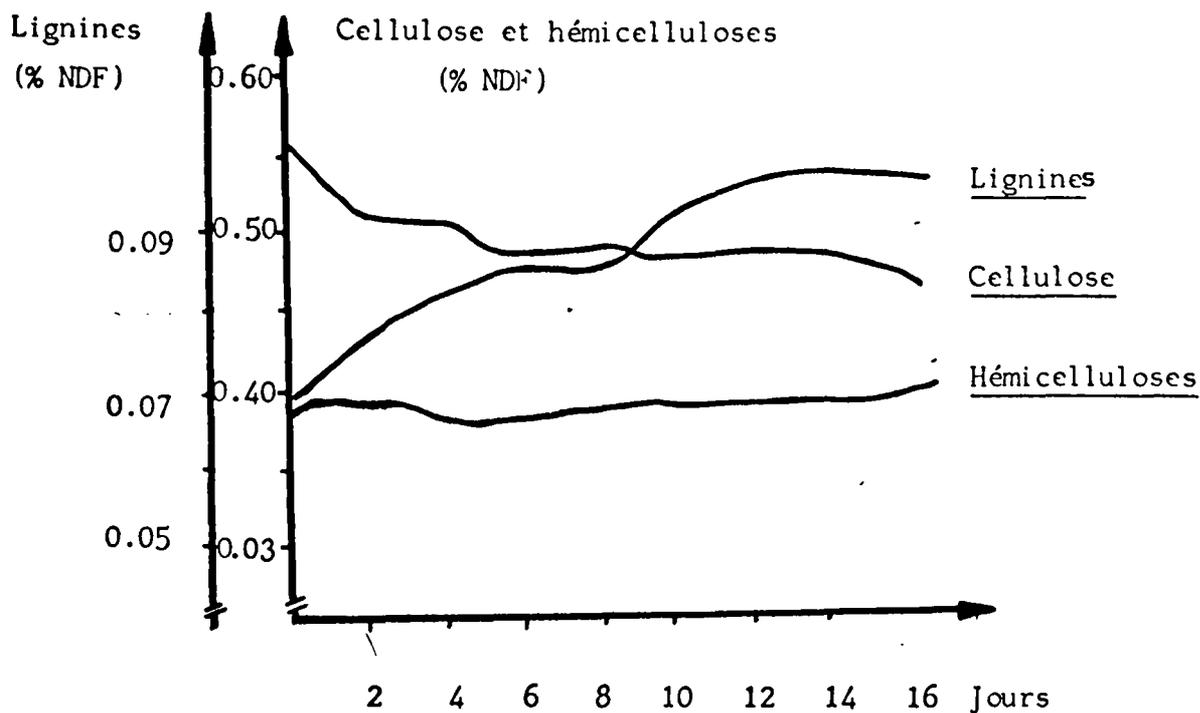
Lorsque ces 3 composants sont exprimés non plus par rapport à la matière sèche de la biomasse mais par rapport à la paroi totale, les courbes présentées par la figure 15 montrent que l'intensité de la dégradation des composants de NDF varie de façon différente. Ainsi les hémicelluloses se situent dans un rapport à peu près constant allant de 0.390 à 0.391.

Tableau 30 : Variation de la composition pariétale de la paille en fonction du temps de culture.

Temps de culture	Partition de 100g de MS		en % de MS		
	Matière sèche solubilisée	N.D.F	Cellulose	Himécelluloses	Lignines
0 jour	26.4 ± 0.7 <sup>a</sup>	73.6 ± 0.7 <sup>a</sup>	41.5 ± 0.6 <sup>a</sup>	28.8 ± 0.6 <sup>a</sup>	5.1 ± 0.2 <sup>ab</sup>
2e jour	29.8 ± 0.6 <sup>b</sup>	70.2 ± 0.6 <sup>b</sup>	35.6 ± 1.0 <sup>b</sup>	27.9 ± 1.4 <sup>ab</sup>	5.2 ± 0.2 <sup>bc</sup>
4e jour	30.3 ± 0.6 <sup>b</sup>	69.7 ± 0.6 <sup>b</sup>	35.3 ± 0.8 <sup>b</sup>	27.1 ± 1.9 <sup>ab</sup>	5.7 ± 0.3 <sup>bc</sup>
6e jour	30.9 ± 0.9 <sup>b</sup>	69.1 ± 0.9 <sup>b</sup>	33.8 ± 0.8 <sup>c</sup>	26.8 ± 1.9 <sup>bc</sup>	6.0 ± 0.8 <sup>cd</sup>
8e jour	33.3 ± 0.8 <sup>c</sup>	66.7 ± 0.8 <sup>c</sup>	32.0 ± 1.3 <sup>d</sup>	26.3 ± 1.8 <sup>bc</sup>	5.9 ± 0.3 <sup>cd</sup>
10e jour	33.3 ± 1.2 <sup>c</sup>	66.7 ± 1.2 <sup>c</sup>	31.6 ± 0.4 <sup>d</sup>	26.2 ± 1.8 <sup>bc</sup>	6.0 ± 0.5 <sup>cd</sup>
12e jour	33.9 ± 1.4 <sup>c</sup>	66.1 ± 1.4 <sup>c</sup>	31.2 ± 0.3 <sup>d</sup>	25.7 ± 0.4 <sup>cd</sup>	6.3 ± 0.1 <sup>cd</sup>
14e jour	34.2 ± 0.7 <sup>c</sup>	65.8 ± 0.7 <sup>c</sup>	31.2 ± 0.3 <sup>d</sup>	25.7 ± 0.4 <sup>cd</sup>	6.3 ± 0.1 <sup>cd</sup>
16e jour	34.3 ± 0.3 <sup>c</sup>	65.7 ± 0.3 <sup>c</sup>	30.7 ± 0.8 <sup>de</sup>	25.6 ± 0.8 <sup>cd</sup>	6.3 ± 0.1 <sup>cd</sup>

*Dans une même colonne, les valeurs qui diffèrent entre-elles par au moins 2 lettres sont significatives (Test de STUDENT ; P = 0.05).*

Figure 15 : Variation en fonction du temps de culture  
de la cellulose, des hémicelluloses et  
des lignines (% NDF).



Tandis que la cellulose est dégradée plus rapidement que l'NDF, les rapports variant entre 0.467 et 0.564 de 0 jour de culture au 16<sup>e</sup> jour. Quant aux lignines, elles ne sont pas utilisées par le champignon; aussi, leur représentation par rapport à NDF passe de 0.069 à 0.096.

D.- VARIATION DE LA TENEUR EN PROTEINES DES PAILLES TRAITEES  
EN FONCTION DU TEMPS DE CULTURE.

Le tableau 31 et 32, présentent différentes expressions de l'utilisation de l'azote par l'organisme. Après 2 jours de culture, la quantité de protéines synthétisée par 100 g de MS de paille récoltée s'établit à 3.1 g, nous assistons jusqu'au 4e jour à une progression sensible puisque la valeur enregistrée est de 4.77g (Tableau 31).

Tableau 31 : Teneur en azote total de la paille traitée.

Temps de culture	g. de protéines synthétisées/100g de MS de paille traitée	Protéines natives de la paille(1) g/100g de MS	Teneur en protéines totales de la paille traitée g/100g de MS
0 jour	-	-	-
2e jour	3.10 ± 1.08 <sup>a</sup>	3.7	6.8 ± 1.08 <sup>a</sup>
4e jour	4.44 ± 0.67 <sup>b</sup>	3.7	8.14 ± 0.67 <sup>b</sup>
6e jour	4.77 ± 0.89 <sup>bc</sup>	3.7	8.47 ± 0.89 <sup>b</sup>
8e jour	4.52 ± 0.26 <sup>bc</sup>	3.7	8.22 ± 0.26 <sup>b</sup>
10e jour	4.77 ± 0.73 <sup>bc</sup>	3.7	8.47 ± 0.73 <sup>b</sup>
12e jour	4.92 ± 0.68 <sup>d</sup>	3.7	8.86 ± 0.68 <sup>c</sup>
14e jour	4.98 ± 1.07 <sup>dc</sup>	3.7	8.68 ± 1.07 <sup>c</sup>
16e jour	4.97 ± 1.73 <sup>f</sup>	3.7	8.67 ± 1.73 <sup>d</sup>

(1) Protéine de la paille dosée par la méthode de KJEDAHL.

Dans une même colonne, les valeurs qui diffèrent entre-elles par 2 lettres sont significatives (Test de STUDENT, P=0.05).

A partir du 6e jour de culture la quantité de protéines synthétisée n'est pas modifiée et s'établit autour de 5g/100g de MS de paille récoltée.

Le tableau 32 indique précisément l'utilisation de l'azote par l'organisme.

Tableau 32 : Utilisation de l'azote par les organismes.

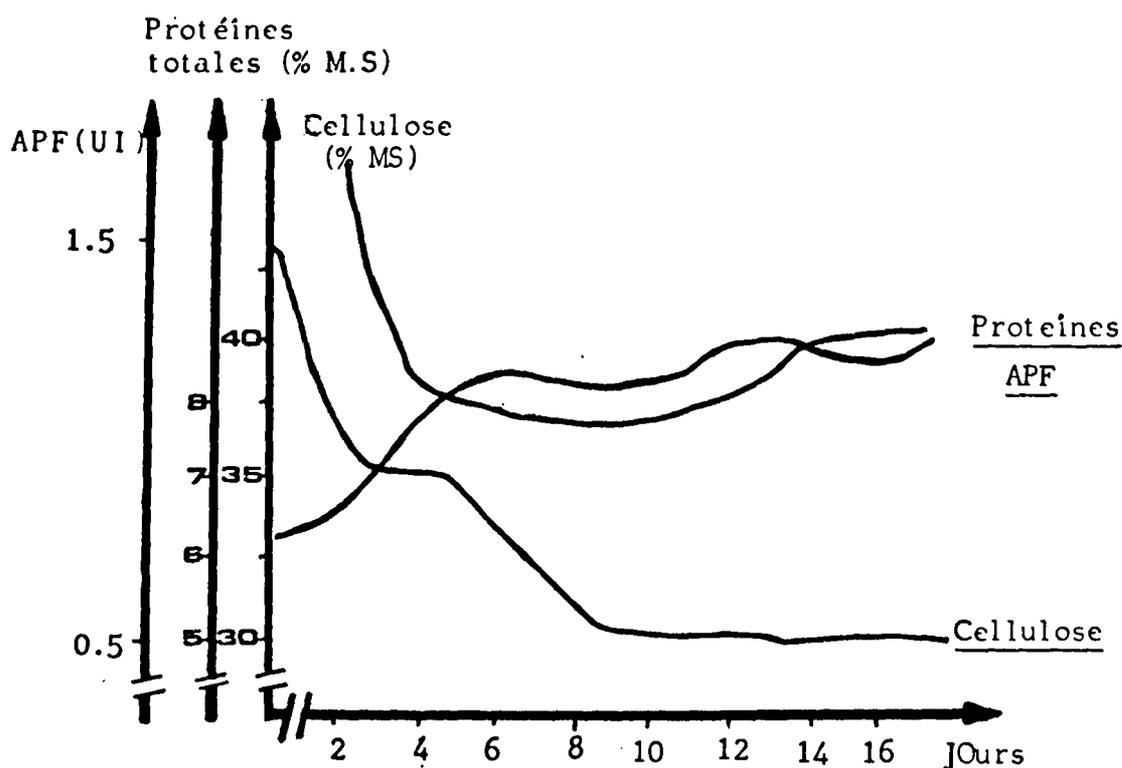
Temps de Culture	g. de protéines brutes synthétisées/100g de MS de paille traitée	Protéines apportées par le mycélium d'inoculation g/100g de MS paille	Protéines nettes synthétisées g/100 de MS paille	% du sulfate d'ammonium transformés	g. d'hémicelluloses+ cellulose + sucres solubles utilisés	g. de protéines synthétisées/g de cellulose + Hémicelluloses + éléments solubles
0 jour	-	-	-	-	-	-
2e jour	3.10 ± 1.08 <sup>a</sup>	1.3	1.8 ± 1.08 <sup>a</sup>	28.6 ± 8.2 <sup>a</sup>	8.8 ± 1.4 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.16 <sup>a</sup>
4e jour	4.44 ± 0.67 <sup>b</sup>	1.3	3.1 ± 0.67 <sup>b</sup>	49.2 ± 7.4 <sup>b</sup>	9.9 ± 1.9 <sup>b</sup>	0.32 ± 0.08 <sup>ab</sup>
6e jour	4.77 ± 0.89 <sup>bc</sup>	1.3	3.5 ± 0.89 <sup>bc</sup>	55.5 ± 13.4 <sup>c</sup>	11.7 ± 1.9 <sup>c</sup>	0.30 ± 0.09 <sup>a</sup>
8e jour	4.52 ± 0.26 <sup>bc</sup>	1.3	3.2 ± 0.26 <sup>bc</sup>	50.8 ± 3.5 <sup>b</sup>	12.0 ± 1.8 <sup>c</sup>	0.27 ± 0.03 <sup>a</sup>
10e jour	4.77 ± 0.73 <sup>bc</sup>	1.3	3.5 ± 0.73 <sup>bc</sup>	55.5 ± 12.7 <sup>cd</sup>	14.5 ± 1.8 <sup>d</sup>	0.24 ± 0.06 <sup>a</sup>
12e jour	4.92 ± 0.68 <sup>d</sup>	1.3	3.6 ± 0.68 <sup>d</sup>	57.1 ± 10.5 <sup>e</sup>	15.4 ± 0.4 <sup>de</sup>	0.23 ± 0.06 <sup>a</sup>
14e jour	4.98 ± 1.07 <sup>de</sup>	1.3	3.7 ± 1.07 <sup>de</sup>	58.7 ± 17.1 <sup>f</sup>	15.4 ± 0.4 <sup>de</sup>	0.24 ± 0.08 <sup>a</sup>
16e jour	4.97 ± 1.73 <sup>f</sup>	1.3 ± 0.0	3.7 ± 1.73 <sup>f</sup>	58.7 ± 28.7 <sup>g</sup>	16.0 ± 0.8 <sup>de</sup>	0.23 ± 0.12 <sup>cb</sup>

Dans une même colonne, les valeurs qui diffèrent entre-elles par 2 lettres sont significatives. (Test de STUDENT, P = 0.05).

La synthèse protéique atteint des valeurs appréciables dès le 4<sup>e</sup> jour de culture où environ 50 p.100 de l'azote minéral sont transformés. Dans l'expérience 2, pour le même pH et le même taux d'humidité, 68 p.100 de transformation avaient été obtenues après 8 jours de culture. Par ailleurs, le substrat carboné est plus intensément utilisé dans l'expérience 3 puisque dès le 2<sup>e</sup> jour de culture 55 p.100 de la totalité du substrat consommé durant toute la culture étaient déjà réalisés.

Nous observons par ailleurs qu'à partir du 12<sup>e</sup> jour de culture, la source de carbone n'est pas dégradée ; de même, la synthèse de protéines reste invariable. A ce stade de la culture, des lyses de mycélium doivent probablement se produire. La lyse mycélienne expliquerait alors la présence dans le milieu d'une forte APF peu efficace sur la cellulose résiduelle des pailles (Figure 16) à cause probablement d'une indisponibilité de celle-ci suite à la présence de la "lignine barrière", nos échantillons n'ayant pas été prétraités.

Figure 16 : Evolution respective de la teneur en cellulose, en protéines totales et de l'activité papier filtre.



La quantité de protéines synthétisée par g de substrat consommé varie entre 0.20g (2e jour de culture) et 0.32g (4e jour de culture) puis nous assistons à une diminution progressive qui se stabilise au 10e jour de culture à environ 0.23g. Le plus fort rendement obtenu au 14e jour de culture (qui correspond au pic de croissance) est conforme aux résultats de la littérature. En effet, durant la phase de croissance exponentielle, de l'organisme, la teneur en protéines du mycélium est plus élevée (RAIMBAULT, 1981).

Il est intéressant par ailleurs de noter qu'entre le 4e jour et le 8e jour de culture, la quantité de protéines synthétisée reste inchangée. Ce qui laisse supposer pour l'expérience n° 2 que les résultats enregistrés au 8e jour de culture étaient déjà atteints dès le 4e jour de culture.

#### E.- EVOLUTION DE LA DIGESTIBILITE EN FONCTION DU TEMPS DE CULTURE.

Comparativement au témoin, paille autoclavée dont la digestibilité s'établit à 59.5 p.100 nous observons une augmentation de 5.1 points au temps 0 jour c'est-à-dire pour l'échantillonensemencé avec 1.6g environ de protéines mycéliennes mais non incubé. Au 2e jour la digestibilité progresse jusqu'à 67.1 p.100. La progression de la digestibilité entre la paille autoclavée témoin et la paille à 0 jour est plus forte qu'entre 0 jour et le 2e jour de culture (Tableau 33).

Tableau 33 : Digestibilité "in sacco" des échantillons de paille après fermentation.

Temps de culture	Digestibilités (% MS)
0 jour	64.6 ± 1.7 <sup>a</sup>
2e jour	67.1 ± 1.2 <sup>b</sup>
4e jour	63.4 ± 3.2 <sup>a</sup>
6e jour	61.2 ± 2.9 <sup>c</sup>
8e jour	60.6 ± 2.0 <sup>c</sup>
10e jour	60.1 ± 2.2 <sup>c</sup>
12e jour	59.0 ± 0.8 <sup>c</sup>
14e jour	60.0 ± 4.8 <sup>c</sup>
\ 16e jour	59.3 ± 0.9 <sup>c</sup>

*Dans une même colonne, les valeurs qui diffèrent entre-elles d'au moins une lettre sont significatives (Test de STUDENT ; P = 0.05).*

EXPERIENCE 4 : PRODUCTION DE PAILLE TRAITEE PAR MYROTHECIUM VERRUCARIA.

Dans l'expérience 3, nous avons obtenu au 2e jour de culture une digestibilité et une teneur en protéines élevées. Dans cette nouvelle expérience, nous voulions encore préciser le facteur temps.

En outre 2 nouveaux paramètres sont introduits.

- 2 doses d'azote pour tenter d'augmenter la teneur en protéines des échantillons.
- Ventilation du milieu.

#### A.- TAUX ET PERTES DE MS APRES INCUBATION.

Rappelons que le taux de MS de départ et de l'ordre de 20 p.100.

Les résultats consignés dans le tableau 34, montrent que la matière sèche après incubation évolue par rapport à ce taux :

- Echantillon 6 p.100 d'azote : Quelque soit le temps de culture (36 à 72h) la MS reste stable ; autour de 17.5 p.100. La diminution par rapport à la MS de départ est donc de 2.5 points.

- Echantillon 10 p.100 d'azote : La teneur en MS diminue moins au temps de 36 à 48h mais retrouve les valeurs de l'échantillon 6 p.100 à 60 et 72h de culture.

- Echantillon 14 p.100 d'azote : La diminution de la MS est beaucoup plus faible que pour les 2 échantillons précédents ; elle s'établit en moyenne à environ 1.4 point. Quant aux pertes en MS, elles augmentent logiquement avec le temps de culture pour les 3 doses d'azote : mais, elles sont relativement plus importantes pour l'échantillon 6 p.100 et l'échantillon 10 p.100 d'azote que pour l'échantillon 14 p.100 d'azote (respectivement 7.65 ; 7.18 et 6.16 p.100).

Globalement, les pertes en matière sèche sont du même ordre de grandeur que celles obtenues dans l'expérience 3.

Tableau 34 : Taux et pertes de MS après incubation.

	Taux de MS après incubation			Pertes MS (%)		
	6.3 % d'azote	10.2% d'azote	14.1% d'azote	6.3% d'azote	10.2% d'azote	14.1% d'azote
36 heures	17.62 ± 1.40 <sup>a</sup>	19.12 ± 1.66 <sup>a</sup>	18.97 ± 1.40 <sup>a</sup>	3.96 ± 0.21 <sup>ab</sup>	3.78 ± 2.50 <sup>bc</sup>	3.37 ± 0.25 <sup>cd</sup>
48 heures	17.42 ± 0.27 <sup>ab</sup>	18.06 ± 2.02 <sup>bc</sup>	18.90 ± 1.03 <sup>cd</sup>	5.21 ± 0.03 <sup>ab</sup>	5.93 ± 0.99 <sup>bc</sup>	3.73 ± 0.16 <sup>de</sup>
60 heures	17.59 ± 0.65 <sup>ab</sup>	17.28 ± 0.87 <sup>bc</sup>	18.22 ± 0.53 <sup>ad</sup>	5.75 ± 1.23 <sup>ab</sup>	6.15 ± 0.32 <sup>bc</sup>	4.92 ± 1.69 <sup>ad</sup>
72 heures	17.82 ± 0.25 <sup>ab</sup>	17.70 ± 0.45 <sup>bc</sup>	18.36 ± 0.11 <sup>de</sup>	7.65 ± 0.02 <sup>ab</sup>	7.18 ± 0.00 <sup>cd</sup>	6.16 ± 0.05 <sup>ef</sup>
<p><i>Sur une même ligne, les valeurs affectées d'au moins 3 lettres différentes sont significatives (Test STUDENT ; P=0.05).</i></p>			<p><i>Sur une même ligne, les valeurs affectées d'au moins 3 lettres sont significatives (Test de STUDENT ; P = 0.05).</i></p>			

## B.- UTILISATION PAR LE CHAMPIGNON DE L'AZOTE APPORTE.

Après 36h de culture, la quantité de protéines synthétisée s'établit à 2.3g pour les 3 doses d'azote. Elle progresse jusqu'à 72h pour les doses de 10 et 14 p.100, mais pour la dose de 6 p.100 la quantité de protéines synthétisée pour les temps 60 et 72h est identique (Tableau 35).

Par ailleurs ; la plus forte progression s'observe entre 48h et 60h (respectivement 0.8 et 0.8g) pour les doses 6 et 10 p.100 d'azote.

Tandis que pour la dose 14 p.100, la même augmentation s'observe entre 60 et 72h.

La teneur en protéines totales des échantillons est comparable pour les trois doses d'azote elle se situe entre 6 et 7.7g valeur moyenne plus faible que dans les deux expériences précédentes.

Le rendement de transformation de l'azote minéral apporté sous forme de sulfate d'ammonium en protéines est d'autant plus faible que la dose d'azote est élevée ; ainsi, elle varie de 14 à 26 p.100 pour la dose de 6 p.100 d'azote de 13 à 22 p.100 pour la dose de 10 p.100 et de 9 à 16 p.100 pour la dose de 14 p.100 d'azote. Les différences de synthèse de protéines pour les trois doses et pour les différents temps ne sont pas suffisamment importantes pour imprimer en hausse les rendements respectifs pour les doses 10 et 14 p.100 d'azote.

Le tableau 36, présente les quantités de l'ensemble cellulose + hémicelluloses + sucres solubles dégradés pour chaque temps de culture et pour chaque dose d'azote ainsi que la quantité de protéines synthétisée lorsque 1g de cellulose + hémicelluloses + sucres solubles a été utilisé (les calculs ont été effectués à partir des résultats de l'annexe 1).

Tableau 35 : Teneur en azote total de la paille traitée.

Temps de Culture	g. de protéines synthétisées /100g de MS de paille traitée			Protéines natives de la paille			Teneur en protéines totales de la paille traitée		
	6.3 % d'azote	10.2 % d'azote	14.1 % d'azote	6.3 % d'azote	10.2 % d'azote	14.1 % d'azote	6.3 % d'azote	10.2 % d'azote	14.1 % d'azote
36H	2.3±0.15 <sup>a</sup>	2.3±0.33 <sup>b</sup>	2.3±0.00 <sup>c</sup>	3.7	3.7	3.7	0.6±0.15 <sup>a</sup>	6.0±0.33 <sup>b</sup>	6.0±0.00 <sup>c</sup>
48H	2.7±0.09 <sup>ab</sup>	2.8±0.32 <sup>a</sup>	2.3±0.15 <sup>bc</sup>	3.7	3.7	3.7	4.6±0.09 <sup>ab</sup>	6.5±0.33 <sup>a</sup>	6.0±0.15 <sup>bc</sup>
60H	3.5±0.17 <sup>ad</sup>	3.6±0.51 <sup>a</sup>	2.5±0.18 <sup>bc</sup>	3.7	3.7	3.7	7.2±0.17 <sup>ad</sup>	7.3±0.51 <sup>a</sup>	6.2±0.18 <sup>bc</sup>
72H	3.4±0.21 <sup>ab</sup>	4.0±0.06 <sup>c</sup>	3.3±0.09 <sup>ab</sup>	3.7±0.00	3.7±0.00	3.7±0.00	7.1±0.21 <sup>ab</sup>	7.7±0.06 <sup>c</sup>	7.0±0.09 <sup>ab</sup>

*Sur une même ligne, les valeurs affectées de 3 lettres différentes sont significatives (Test STUDENT, P = 0.05 )*

*Sur une même ligne, les valeurs affectées d'au moins 3 lettres différentes sont significatives (Test de STUDENT ; P = 0.05)*

Tableau 36 : Utilisation de l'azote par les microorganismes.

	g. de protéines brutessynthétisées/ 100g de MS de paille traitée			Protéines apportées par le mycélium d'inoculation			g. de protéines nettes synthétisées			% du sulfate d'ammonium trans-formés			g. de cellulose + hémicelluloses+ sucres solubles utilisés			g. de protéines synthétisées g. de cellulose + Hémicelluloses+ sucres utilisés		
	6,3% d'N	10,2% d'N	14,1% d'N	6,3 % d'N	10,2% d'N	14,1% d'N	6,3 % d'N	10,2% d'N	14,1% d'N	6,3% d'N	10,2% d'N	14,1% d'N	6,3% d'N	10,2% d'N	14,1 % d'N	6,3 % d'N	10,2 % d'N	14,1% d'N
36H	2.3 <sup>a</sup>	2.3 <sup>b</sup>	2.3 <sup>c</sup>	1.4	1.4	1.4	0.9 <sup>a</sup>	0.9 <sup>b</sup>	0.3 <sup>c</sup>	14,3	8,8	6.4	6.5 <sup>ab</sup>	6.9 <sup>cd</sup>	8.8 <sup>ef</sup>	0.14 <sup>ab</sup>	0.13 <sup>cd</sup>	0.10 <sup>ef</sup>
48H	2.7 <sup>ab</sup>	2.8 <sup>a</sup>	2.3 <sup>bc</sup>	1.4	1.4	1.4	1.3 <sup>ab</sup>	1.4 <sup>a</sup>	0.9 <sup>bc</sup>	20.6	13.7	6.4	7.6 <sup>ab</sup>	8.8 <sup>cd</sup>	10.7 <sup>ef</sup>	0.17 <sup>ab</sup>	0.16 <sup>cd</sup>	0.09 <sup>ef</sup>
60H	3.5 <sup>ad</sup>	3.6	2.5 <sup>bc</sup>	1.4	1.4	1.4	2.1 <sup>ab</sup>	2.2 <sup>a</sup>	1.1 <sup>bc</sup>	33.3	21.6	7.8	8.1 <sup>ab</sup>	9.1 <sup>cd</sup>	10.6 <sup>ef</sup>	0.26 <sup>ab</sup>	0.14 <sup>cd</sup>	0.10 <sup>ef</sup>
72H	3.4 <sup>ab</sup>	4.0 <sup>c</sup>	3.3 <sup>ab</sup>	1.4	1.4	1.4	2.0 <sup>ab</sup>	2.6 <sup>c</sup>	1.9 <sup>ab</sup>	31.7	25.5	13.5	11.2 <sup>a</sup>	11.6 <sup>b</sup>	12.0 <sup>c</sup>	0.18 <sup>ab</sup>	0.22 <sup>cd</sup>	0.16 <sup>ef</sup>

*Sur une même ligne d'une même rubrique, les valeurs affectées d'au moins 3 lettres différentes sont significatives (Test de STUDENT ; P = 0.05).*

Il apparaît que la dégradation de la source de carbone fort logiquement augmente avec le temps de culture ; elle passe de 6.5 ; 6.91 et à 8.81g au temps 36h à 11.22 ; 11.59 et 11.98g au temps 72 heures respectivement pour les doses 6 ; 10 et 14 p.100 d'azote. Les doses d'azote élevées occasionnent donc des dégradations plus intenses de la source de carbone. En prenant en compte la quantité de protéines synthétisée , il est possible de calculer un rendement qui apparaît dans le tableau 36.

### C.- EVOLUTION DE LA QUANTITE DE CO<sub>2</sub> REJETE.

Les résultats du tableau 37 montrent que le CO<sub>2</sub> rejeté au temps 12 et 24h est insignifiant. C'est à 36h de culture que le CO<sub>2</sub> atteint son maximum aussi bien pour la teneur de 6 p.100 que pour celle de 10 et 14 p.100 d'azote (respectivement 2.42 ; 2.11 et 2.28g/100g de biomasse récoltés ). Puis pour chaque période de 12h, la respiration diminue pour atteindre une valeur de CO<sub>2</sub> rejeté de l'ordre de 1g entre 60 et 72h.

Tableau 37 : CO<sub>2</sub> (g) rejeté par 100g de MS de biomasse récolté.

Temps de culture	6.3 % de M.A.T	10.2 % de M.A.T	14.1 % de M.AT
12 heures	0.005	0.007	0.005
24 heures	0.03	0.04	0.01
36 heures	2.42 ± 0.25 <sup>ab</sup>	2.11 ± 0.04 <sup>cd</sup>	2.28 ± 0.13 <sup>ef</sup>
48 heures	1.57 ± 0.26 <sup>ab</sup>	1.34 ± 0.03 <sup>cd</sup>	1.76 ± 0.11 <sup>ef</sup>
60 heures	1.33 ± 0.27 <sup>ab</sup>	0.99 ± 0.06 <sup>cd</sup>	1.26 ± 0.13 <sup>ef</sup>
72 heures	1.07 ± 0.31 <sup>ab</sup>	0.89 ± 0.00 <sup>bc</sup>	1.02 ± 0.13 <sup>ab</sup>

*Sur une même ligne, les valeurs affectées d'au moins 3 lettres sont significatives. (test de STUDENT P = 0.05).*

D. - EVOLUTION DE LA DIGESTIBILITE "IN SACCO" DES ECHANTILLONS DE PAILLE APRES FERMENTATION.

La digestibilité de la matière sèche des différents échantillons mesurée dans des sachets en nylon est représentée dans le tableau 38.

Tableau 38 : Digestibilité des échantillons de paille après fermentation.

Temps de culture	Digestibilités (%)		
	6.3 % M.A.T	10.2 % M.A.T	14.1 % M.A.T
36 heures	59.9 ± 1.8 <sup>ab</sup>	57.9 ± 1.7 <sup>bd</sup>	58.8 ± 1.8 <sup>be</sup>
48 heures	59.0 ± 1.7 <sup>ab</sup>	58.9 ± 1.2 <sup>bd</sup>	59.3 ± 1.3 <sup>be</sup>
60 heures	59.0 ± 1.9 <sup>ab</sup>	60.0 ± 2.0 <sup>bd</sup>	58.8 ± 1.4 <sup>be</sup>
72 heures	58.0 ± 1.4 <sup>ab</sup>	61.9 ± 1.5 <sup>cd</sup>	60.1 ± 1.9 <sup>bd</sup>
Paille témoin autoclavée	58.8 ± 0.9 <sup>ab</sup>		

\* Sur une même ligne, les valeurs affectées d'au moins 3 lettres différentes sont significatives (Test de STUDENT ; P = 0.05).

\* Dans une même colonne, les valeurs affectées d'au moins 3 lettres différentes par rapport au témoin sont significatives (Test de STUDENT ; P = 0.05).

D'une façon générale, les valeurs obtenues sont peu différentes de la paille témoin autoclavée à l'exception toutefois de l'échantillon 72h de la dose 10 p.100 d'azote qui présente une digestibilité de 62 p.100. Cette valeur reste néanmoins plus faible que la valeur la plus élevée obtenue dans l'expérience 3 (67 p.100).

## DISCUSSION

A.- TENEUR EN PROTEINES DES PAILLES.

B.- DIGESTIBILITE.

C.- PERTES EN MATIERE SECHE.

-ooOoo- D I S C U S S I O N -ooOoo-

Les objectifs que nous assignons à un tel procédé de valorisation des pailles dans l'alimentation du ruminant sont de deux ordres :

1.- Augmenter la digestibilité des pailles traitées dans les mêmes proportions que celles enregistrées pour un traitement classique à l'ammoniac (environ 10 points).

2.- Augmenter la teneur en protéines du substrat de manière à diminuer ou à supprimer la part du concentré dans la ration. Ce dernier aspect est particulièrement important pour les pays dont le rapport S.A.U. est faible et qui doivent tout de même maintenir ou promouvoir l'élevage du ruminant.

Nous insisterons sur deux paramètres qui nous semblent importants dans le cadre de la valorisation par ce procédé des pailles dans l'alimentation du ruminant : La teneur en protéines des pailles traitées et le niveau de leur digestibilité. Les pertes en matière sèche feront l'objet de quelques remarques.

A.- TENEUR EN PROTEINES DES PAILLES TRAITEES.

De façon rationnelle, la valorisation des pailles traitées par ce procédé n'est intéressante que dans la mesure où la synthèse de protéines est supérieure à celle observée chez l'animal ingérant la même paille préparée dans les mêmes conditions. En effet, nous savons que le ruminant grâce aux micro-organismes qui vivent dans sa panse est un valorisateur des fourrages pauvres en synthétisant des protéines de bonne qualité à partir d'une source d'azote simple et d'énergie qui dans les conditions classiques d'alimentation dans les pays chauds est apportée essentiellement par les parois végétales.

Les nombreuses études consacrées à cet aspect de la nutrition du ruminant montrent que les quantités de protéines synthétisée dans le rumen, lorsque les rations sont constituées de fourrages pauvres varient entre 8 et 13g par 100g de matière organique digestible (Revue de DEMEYER et VAN NEVEL, 1986). Les calculs effectués à partir des résultats de CORDESSE et TABA TABAI (1981) pour une paille traitée à l'ammoniac, la situe à 15g.

En prenant comme rendement moyen de synthèse dans le rumen, 10g de protéines microbiennes par 100g de MOD (pour la paille, la MOD est constituée essentiellement de : cellulose, hémicelluloses, éléments solubles dont traces de protéines). Nous observons que les deux souches de moisissures que nous avons testées transforment les fractions cellulose ; hémicelluloses + éléments solubles (en fait MOD) avec un rendement moyen en protéines mycéliennes de 14 et 38 p.100 respectivement pour la souche Trichoderma et Myrothecium dans l'expérience 2 (Tableau 26). Cette meilleure synthèse de Myrothecium résulte probablement d'une préférence de ce champignon pour le sulfate d'ammonium comme source d'azote. En effet, de nombreux auteurs (STARON, 1984 ; GRANGAUD, 1990) ont souligné l'importance de la nature de la source azotée sur la croissance des microorganismes.

Les valeurs de 14 et 38 p.100 de rendement enregistré respectivement pour Trichoderma et pour Myrothecium sont 3 à 7,5 fois plus élevées que celles de 10g de protéines calculées pour un ruminant consommant 100g de MOD.

L'expérience n° 3 nous permet d'observer qu'un rendement dépassant 30 p.100 est atteint avec Myrothecium dès le 4eme jour de culture. Sur cette base, il ne semble pas utile de conduire la culture au-delà de ce temps à l'issue duquel la teneur en protéines de la biomasse atteint 8 p.100.

Il existe dans la littérature, très peu d'exemples de rendement de bioconversion de la paille en milieu semi-solide.

Cependant, ICONOMOU (1982) indique pour la pulpe de betterave ; les marcs de raisin et pour la paille de blé des rendements moyens respectifs de 36 p.100 (27 à 46 p.100) ; 28 p.100 (25 à 32 p.100) et de 29 p.100 (24 à 34 p.100), cette dernière valeur intéresse notre substrat, elle est de 2.1 fois plus élevée que celle obtenue pour Trichoderma mais inférieure de 26 p.100 pour Myrothécium. Sur cette base, nos résultats sont acceptables bien que nos échantillons n'avaient pas subi de prétraitement chimique pour rendre plus disponible l'ensemble cellulose + hémicelluloses. Dans cet ordre d'idée, les résultats de l'expérience 4 bien que plus faibles, montrent que sans prétraitement, il est inutile de dépasser la dose de 6 p.100 de matières azotées. Cette dernière correspondrait à peu près à la possibilité de synthèse permise par le niveau de disponibilité de la source énergétique. Cela explique qu'en moyenne, l'utilisation de l'azote du sulfate d'ammonium et la dégradation de la cellulose n'ont pas dépassé respectivement 60 et 26 p.100, alors que ICONOMOU (1982) indique des niveaux d'utilisation de la cellulose variant entre 30 et 85 p.100 sur paille prétraitée à la soude servant de substrat à Trichoderma album.

Outre ICONOMOU précédemment cité, FAN ; LEE et BEARDMORE (1980) ; BULEON et BERTRAND (1982) ; GHARPURAY, LEE et FAN (1983) observent une nette amélioration de la cellulolyse lorsque le substrat est préalablement traité notamment à la soude.

La synthèse de protéines mycéliennes se fait essentiellement par consommation de cellulose ; très peu d'hémicelluloses sont dégradées. Ainsi dans l'expérience 3, après 2 jours de culture, 87 p.100 du substrat dégradés sont représentés par la cellulose ; ce pourcentage est encore élevé (77 p.100) en fin de culture. L'activité hémicellulasique serait donc relativement faible.

Dans une étude antérieure, de HAN et ANDERSON (1975), après 7 jours de culture, les hémicelluloses avaient été plus intensément dégradées (89.2 p.100) ; mais, il est vrai que la paille avait subi un prétraitement à l'acide sulfurique. Les acides sont en effet connus comme agent de solubilisation des hémicelluloses (JARRIGE, 1961 ; SALO, 1965 ; VAN-SOEST, 1963).

Il ne semble donc pas possible sans prétraitement de porter l'enrichissement du substrat à un niveau supérieur à 8 -9p.100. Notons cependant que la quantité d'inoculum apportée par rapport à la matière sèche incubée (entre 1.1 et 1.4 p.100) pourrait ne pas être suffisante, ICONOMOU (1982) avait utilisé des doses de mycélium de l'ordre de 5 à 6 p.100.

#### B.- DIGESTIBILITE.

Le traitement a amélioré la digestibilité des échantillons. Dans l'expérience 2, les meilleurs résultats sont obtenus avec Myrothecium (+ 8 points) alors que pour Trichoderma, la digestibilité de la matière sèche a diminué de 5 points. La disparition de la matière sèche, ayant été mesurée in vivo dans des sachets en nylon suspendu directement dans le rumen c'est-à-dire, dans des conditions de forte dilution du substrat, il n'est pas possible d'évoquer ici l'hypothèse de sécrétion de toxine par Trichoderma.

Il semble que la forte dégradation de la cellulose (source d'énergie dans le rumen) ayant entraîné une augmentation parallèle de la teneur des échantillons en lignines soit la principale explication. En effet, nous observons dans l'expérience 2 une corrélation significative avec la digestibilité  $R = 0,73$  ;  $0,81$  et  $-0,74$  respectivement pour la teneur en cellulose ; la teneur en protéines et la teneur en lignines des échantillons traités.

Il semble donc nécessaire pour obtenir une digestibilité maximum, de limiter la dégradation de la cellulose par la souche de champignon pour éviter un trop fort accroissement de la teneur en lignines de la paille traitée.

En première analyse, l'utilisation d'organismes ligninolytiques semblerait plus appropriée (AGOSIN, 1985 ; DEMEYER et VERVAEKE, 1985).

Mais, si dans ce cas, la cellulose est quasi épargnée, conduisant à des digestibilité de l'ordre de 65 à 70 p.100, les temps de culture sont très longs (60 à 120 jours); en outre, la teneur de la biomasse en protéines n'est pas modifiée (ZADRAZIL et BRUNNERT, 1982)(Voir tableau 8).

La délignification biologique épargnant l'essentiel de la cellulose est pratiquée de façon naturelle à l'image des "Palo Podrido" (bois pourris qui servent d'aliment aux bovins et aux chevaux au CHILI) contaminés par Ganoderma applanatum. Sur 30 échantillons de "Palo Podrido" (à des degrés de décomposition différente) examinés par ZADRAZIL, GRINBERG et GONZALEZ (1982), la teneur en lignines a varié entre 32 et 1 p.100 et la digestibilité in vitro entre 2 et 78 p.100. Quant à la teneur en matières azotées totales, elle est très faible (entre 0.5 et 3 p.100). En effet, le système ligninolytique est réprimé en présence d'azote (DEMEYER et VERVAEKE, 1983).

En revanche, comme le montrent nos résultats et ceux d'autres auteurs (HAN et ANDERSON, 1975 ; ICONOMOU, 1982 ; NOJAC, 1984 ; MILSTEN et al, 1986 ; PUPPOS et SETTINERI, 1987 ; GRAJEK, 1988 ; YADAV, 1988), les champignons cellulolytiques enrichissent effectivement les substrats ligno-cellulosiques en protéines en un temps de culture très court (3 à 8 jours) mais une activité cellulolytique trop forte peut entraîner une diminution de digestibilité de la paille traitée. Dans cet ordre d'idée, nos résultats sont assez révélateurs :

Les échantillons Trichoderma qui génèrent une activité papier filtre 5 fois plus élevés que Myrothecium (Tableau 22) présentent une digestibilité inférieure de 5 points à celle du témoin. Outre la teneur en cellulose, la teneur en protéines a un effet positif sur la digestibilité (figures 13 et 14), cette teneur peut-être améliorée puisque ICONOMOU (1982) ainsi que NOJAC (1984) rapportent des niveaux d'enrichissement de 26 p.100 pour la paille et de 20 p.100 pour la pulpe de betterave.

Nous avons dans l'expérience 4, en augmentant la dose d'azote jusqu'à 14 p.100, espéré améliorer le taux protéique des échantillons mais nos résultats ne sont pas concluants. Nous avons en effet enregistré une baisse de synthèse de protéines de -12 p.100 par rapport aux expériences 2 et 3 malgré un apport supplémentaire d'oxygène.

Plusieurs hypothèses peuvent-être avancées :

\* Compte tenu de la lourdeur du dispositif de traitement employé (Schéma 4) et les nombreuses manipulations qu'il nécessitait, il n'est pas certain que les contaminations soient évitées.

\* L'expérience 2 nous a permis de constater que Myrothecium se développe mieux en milieu de forte humidité notamment à l'humidité 87 p.100. Or, pour des raisons de tassement trop prononcé de la paille dans les colonnes réactionnelles, nous avons dû opter pour le taux d'humidité 80 p.100 sans pour autant régler complètement le problème compte tenu de la taille des particules de paille. A la fin de la culture, la teneur en eau de la biomasse était de l'ordre de 82. p.100 contre 89 p.100 pour les meilleurs résultats obtenus dans l'expérience 2.

Notons que la ventilation n'a pas refroidi le milieu de culture puisque la température a varié entre 27.4 et 28.6°C.

\* Le tassement du substrat n'a donc pas permis un transfert correcte de l'oxygène, le passage de l'air le long des parois de la colonne a dû être privilégié ; la croissance y était en effet plus prononcée.

#### C.- PERTES EN MATIERE SECHE.

Il n'existe pas de références nutritionnelles permettant l'analyse rationnelle des pertes en matière sèche ; elles sont gênantes (car elles résultent d'une consommation de cellulose source d'énergie pour le ruminant et occasionnent une augmentation de la teneur en lignines du produit traité) mais inévitables.

Dans les conditions de culture ne dépassant pas 4 jours les pertes brutes mesurées par pesée avant et après culture sont de l'ordre de 7 à 9 p.100. Mais, en considérant le poids du mycélium formé et la quantité de sels minéraux apportées, les pertes en cellulose + hémicelluloses varient entre 10 et 15 p.100. Néanmoins, ces pertes exprimées en poids n'ont pas une grande signification : le mycélium apportant dans la masse, des protéines, des lipides et des vitamines, seul un bilan nutritionnel in vivo est susceptible de permettre d'apprécier les pertes ; mais, nous ne disposons pas d'informations sur le comportement in vivo de tels aliments.

## **CONCLUSION**

-ooOoo- CONCLUSION GENERALE -ooOoo-

Dans le monde, les terres cultivables régressent alors que le nombre d'habitants ne fait qu'augmenter. Pour certains pays, produire sur le même hectare, la même année l'alimentation de l'homme et le fourrage destiné au ruminant est une nécessité.

L'enrichissement des résidus de récoltes en protéines est une voie originale et prometteuse ; le champignon filamenteux qui se développe très bien en milieu semi-solide en est l'acteur principal.

Pour mener à bien un tel travail, la possession de souches de champignons performantes et un savoir faire sans cesse conforter sont indispensables.

Nous avons isolé, purifié et criblé une trentaine de souches ; deux d'entre-elles ; Trichoderma viride et Myrothecium verrucaria connues pour leur activité cellulolytique ont fait l'objet d'étude plus poussée, nous avons abandonné Trichoderma qui se caractérise par une trop forte activité cellulolytique, un rendement faible en protéines et génère une chute de digestibilité de la paille traitée.

En revanche, Myrothecium a permis de porter la teneur en protéines de la paille de 3.7 à 9 p.100 et d'augmenter la digestibilité de 8.5 points ; premiers résultats somme toute corrects.

Néanmoins, ce premier travail qui n'est pas une fin en soi nous a davantage révélé les pistes à suivre pour aboutir à une paille enrichie, plus digestible.

Les principales sont :

\* Supprimer la stérilisation en intervenant avec des souches qui se développent à des pH de l'ordre de 3 - 4;

\* Prétraiter la paille (non finement broyée pour éviter le tassement dans le fermenteur) pour augmenter le degré de disponibilité de la cellulose et des hémicelluloses et faire progresser du même coup, la teneur en protéines de la biomasse;

\* Etudier des doses variables de mycélium d'inoculation;

\* Rechercher les meilleures sources azotées apportées seules ou en combinaison. L'inocuité du champignon pour l'animal et pour l'homme à travers l'animal représente en outre, un aspect important;

\* A plus long terme, associer dans la même culture deux types de champignons : ceux qui dégradent sélectivement les lignines (facteur de diminution de la digestibilité) et ceux qui enrichissent effectivement le produit final en protéines.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- AGOSIN, E. 1985. Amélioration de la digestibilité des sous-produits ligno-cellulosiques par délignification microbienne. Thèse de Docteur-Ingénieur, 109 p. Paris - Grignon.
- ANGOIBA, H. 1986. Effet de la nature et de la dose d'azote sur la composition chimique et la digestibilité "in vitro" d'une paille de blé fermentée en milieu semi-solide par Myrothecium verrucaria. Thèse d'Ingénieur. INA. Alger. 73p.
- BACON, J.S.D. 1979. Plant cell wall digestibility and chemical structure. Rowett. Ann. Rep. Res. Inst., 35, 99 - 108
- BAILEY, R.W ; ULYATT, M.J. 1970. Posture quality and ruminant nutrition. II - carbohydrate and lignin composition of detergent extrated residues from pastures and legumes. N.Z.J Agric. Res., 13 , 591 - 604.
- BAILEY, R.W. 1973. In butter G.W. BAILEY R.W., chemistry and chemistry of herbage, 1, 157-211. Academic Press. Londres. New York.
- BARNOUD, F. 1980. In : Les polymères végétaux. Gauthier-Villars. Paris. 345p.
- BORHANI, B.E.A ; SUNDSTØL, F. ; GARNO, T.H. 1982. Studies on ammoniac treated straw II : Fixation of ammoniac in treated straw by spraying with acids. Animal Feed Science and technology. 7, 53 - 59
- BULEON, A ; BERTRAND, D. 1982. Relative influence of water sorption properties and cristallinity of Na OH. Treated cellulose on its susceptibility to enzymatic or microbial degradation. J. Appl. Biochemistry. 4,

- CORDESSE, R. ; TABA TABAI, M. 1981. Alimentation d'agneaux à partir de la paille traitée à l'ammoniac. I. Valeur nutritive, croissance et qualité des carcasses des animaux. Ann. Zootech., 30, 137 - 149.
- COWLING, E.B. 1963. In : Advances in enzymatic of cellulose and related material. REESE, E.T. (ed). New York. pergamon Press.
- COWLING, E.B ; KIRK, T.K. 1976. Properties of cellulose and lignocellulosic material as substrates for enzymatic conversion. Biotechnol. Bioeng. Symp. 6, 95 - 123.
- CRITZALI, M ; BROWN, R.D. 1979. The cellulase system of Trichoderma relationships between purified extracellular enzymes from induced or cellulose grown cells. In hydrolysis of cellulose : Mechanisms of enzymatic and acid catalysis (R.D. BROWN jr. and L. JURASEK, ed ), Adv. Chem. Ser., 191, 237 - 260.
- DEKKER, R.F.H ; RICHARDS, G.N. 1976. Hemicellulases : Their occurrence, purification, properties and mode of action. Adv. Carbohydr. Chem., 32, 277 - 352.
- DEMARQUILLY, C ; CHENOST, M. 1969. Etude de la digestion des fourrages dans le rumen par la méthode des sachets de nylon liaisons avec la valeur alimentaire. Ann. Zootech. 18 (4), 419 - 436.
- DEMEYER, D.I ; VAN NEVEL. 1986. Influence of substrate and microbiol interaction of efficiency of rumen microbial. Growth. Reprod. Nutr. Develop., 26, 161 - 179.
- DEMEYER, D.I ; VERVAEKE, I.J. 1985. Digestion dans le rumen des fourrages pauvres et procédés microbiens pour augmenter la valeur nutritive. Document O.C.D.E. Paris, 174p.

- DESCHAMPS, A. 1985. Vers une biotechnologie de la lignine. Biofutur, 39, 26 - 30.
- DJEBAILI, A. 1985. Essai de Bio-Amélioration (par Myrothecium verrucaria) de la paille de blé dans l'alimentation du ruminant. Thèse Ingénieur. INA. ALGER. 69p.
- DOMSH, K.H ; GAMS, W. 1980. Compodium of soil fungi. 1. London. Acad. Press.
- EDWARD, C.S. 1973. Détermination of lignin and cellulose in forages by extraction with triethylene glycol. J. Sci. Fd. Agric., 24, 381 - 388.
- ERIKSSON, K.E ; HAMP, S.G. 1978. Regulation of endo - 1,4- $\beta$  glucanase production in Sporotrichum pulverulentum. Eur. J. Biochem., 90, 183 - 190.
- ERIKSSON, K.E ; PETERSSON, B. 1975a. Extracellular enzyme system utilized by the fungus. Sporotrichum pulverulentum (Chrysosporium lignorum) for the breakdown of cellulose -1- separation, purification and physico - chemical characterization of five endoglucanases. Eur. J. Biochem. 51, 193 - 206.
- ERIKSSON, K.E ; PETERSSON, B. 1975b. Extracellular enzyme system utilized by the fungus Sporotrichum pulverulentum (Chrysosporium lignorum) for the breakdown of cellulose -2- purification and physico-chemical characterization of an exo-1,  $\beta$ -glucanase. Eur. J. Biochem., 51, 213 - 218.
- FAN, L.T ; LEE, Y.H. 1983. Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose. Derivation of a mechanistic kinetic model. Biotechnol. Bioeng. XXV, 2707 - 2733.

- FAN, L.T ; LEE, Y.H ; BEARDMORE, D.H. 1980. Mechanism of the enzymatic hydrolysis of cellulose : Effects of major structural features of cellulose on enzymatic hydrolysis. Biotechnol. Bioeng., 22, 177 - 199.
- FAN, L.T ; LEE, Y.H ; GHARPURAY, M.M. 1982. The nature of lignocellulosics and their pretreatments for enzymatic hydrolysis. Adv. Biochem. Eng., 23, 155 - 189.
- GAWTHORNE, J.M. 1979. Extracellular carbohydrase complex from rumen contents. Ann. Rech. Vet., 10, 249 - 250.
- GHARPURAY, M.M ; LEE, Y.H ; FAN, L.T. 1983. Structural modification of lignocellulosics by pretreatments to enhance enzymatic hydrolysis. Biotechnol. Bioeng. XXV, 157 - 172.
- GIGER, S. 1987. Influence de la composition de l'aliment concentré sur la valeur alimentaire des rations destinées aux ruminants laitiers. Thèse de Docteur. Ingénieur. INA - Paris, grignon, 118p.
- GORING, W.A.I ; TIMEL, T.E. 1962. Chemistry and biochemistry of forage TAPPI, 45, 454 - 460.
- GRAJEK, W. 1988. Production of protein by thermophilic fungi from sugar beet pulp in SSF. Biotechnol. Bioeng. 32, 255 - 260.
- GRANGAUD, N. 1990. Eléments de recherche sur la valorisation des aliments pauvres par traitement biologique. Thèse d'ingénieur, INA - Alger, 74p.
- GROWS, W ; CONVERSE, A ; GRETHLEIN, H ; LYND, L. 1985. Kinetics of cellobiose hydrolysis using cellobiase composistes from Trichoderma reesei and Aspergillus niger, Biotechnol. Bioeng. 27, 463 - 470.

- HAMMOUDA, F. 1984. Effet de différents traitements chimiques sur les composés pariétaux des marcs de raisin et sur leur digestibilité. Thèse de Magister, INA - Alger, 91p.
- HAN, Y.W ; ANDERSON, A.W. 1975. Semi-solid fermentation of ray grass straw. Appl. Microbiol, 30, 930 - 934.
- HARTLEY, R.D. 1985. Chimie des produits végétaux lignocellulosiques et procédés non microbiens pour augmenter la valeur nutritive chez le ruminant. Document O.C.D.E, Paris, 174p.
- HARTLEY, R.D ; JONES, E.C. 1978. Effect of aqueous ammoniac and other alkalis on the "in vitro" digestibility of barley straw. J. Sci. Fol. Agric., 29.
- HERMANS, P.M. 1952. Traduit par CHENE M. Contribution à l'étude physique des fibres cellulosesques. Dunod. Paris, 197 - 215.
- HOMB, T ; SUNDSTØL, F ; ARNASON, J. 1977. Chemical treatment of straw at commercial and farm levels. I - new feed resources F.A.O : Animal production health paper.
- ICONOMOU, D.K. 1982. Valorisation des divers substrats résiduels en vue de la production de protéines par Trichoderma album. Thèse Docteur. Ingénieur, 161p. Université de Dijon.
- JACKSON, M.G. 1977. Review articles. The alkali treatment of straws. Anim. Feed. Sci. Technol, 2, 105 - 130.
- JARRIGE, R. 1961. Analyse des constituants glucidiques des plantes fourragères. II - La lignocellulose : Composition, dosage et comparaison avec la cellulose brute. Ann. Biol. Anim. Biophys, 1;4, 421 - 447.

JOSELEAU, J.P. 1980. Les hémicelluloses dans "les polymères végétaux", (MONTIES B., ed.). Gauthier - Villars. Paris, 87 - 121.

JOUANY, J.P. 1975. Etude des traitements qui permettent d'améliorer les valeur alimentaire des fourrages pauvres. Bull. C.R.Z.V de Theix, 21.5.

KARRER, P ; SCHUBERT, P ; WERLI, W. 1925. Herb. Chem. Acta, 8, 797 (In NISIZAWA, K. ; 1973. Mode of action of cellulases. J. Ferment. Technol., 51 .4', 267 - 304.

KING, K.W. 1961. Cité par FAN, L.T ; LEE, Y.H ; BEARDMORE, D.H. 1980. In major chemical and physical features of cellulosic materials as substrat for enzymatic hydrolysis. Biotechnol. Bioeng., 22, 177 - 199.

KIRK, T.K ; MOORE, W.E. 1972. Removing lignin from wood with white - rot fungi and digestibility of résulting wood. Wood and fibèr., 4, 72 - 79.

KUNDA, A.B ; GHOSH, B.S ; GHOSH, B.L ; GHOSE, S.N. 1983. Role of water in the hydrolysis of cellulose in a solid state. J. Ferment. Technol., 61, 185 - 188.

LARPENT, J.P ; LARPENT, M ; GOURGAUD, M. 1970. Microbiologie pratique. Paris. Herman.

LAUKEVIS, J.J ; APSITE, A.F ; VITURE. 1984. Solid substrat fermentation of wheat straw to fungi - protein. J. Ferment. Technol., 72, 127 - 134.

LARWENCE, A. 1983. Recherches sur les facteurs limitants de la valeur nutritive des marcs de rasin. Thèse de Doctorat Es-Sciences. Université de Dijon. 293p.

- LOWRY, O.H ; ROSEBROUGH, N.J ; FARR, A.L ; RANDALL, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265 - 275.
- MANDELS, M ; ANDREOTTI, R ; ROCHE, C. 1976. Measurement of saccharifying cellulose. Biotechnol. Bioeng. Symp., 6, 21 - 33.
- MANDELS, M ; REESE, E.T. 1960. Induction of cellulase in fungi by cellobiose. J. Bacterial., 79, 816 - 826.
- MELCION, J.P. 1978. Mise en oeuvre des traitements physico-chimiques des pailles in utilisation des matières premières cellulosiques en particulier la paille en alimentation animale ; INA. ADEPRINA. Paris.
- MILLER, G.L. 1959. Dinitrosalicylic acid reagent for détermination of reducing sugar. Analyt. Chem., 31, 426 - 428.
- MILSTEIN, O ; VERED, Y ; SHARMA, A . GRESSEL, J ; FLOWERS, H.M. 1986. Heat and microbial treatment for nutritional upgrading of wheat straw. Biotech. Bioeng., 20, 381 - 386.
- MOLDOVEANU, N ; KLUEPFOL. 1983. Comparaison of  $\beta$ -glucosidase activity in different streptomyces strains. Appl. Environ. Microbiol., 46, 17 - 21.
- MONTENECOURT, B.S ; EVELEIGH, D.E. 1979. Production and characterization of high yielding cellulase mutants of Trichoderma reesi. 101 - 108. TAPPI. Annal. Meeting. Proc. New - York. 12 - 14 Mars 1979.
- MONTIES, B. 1980. Biosynthèse et biodégradation de la lignine chez le blé et le peuplier dans "rapport final du contrat N.B.O. D.G.R.S.T". INRA. Paris.

- MONTIES, B ; LAPIERRE, C. 1981. Données récentes sur l'hétérogénéité de la lignine. Physiol. Végétal., 19, 327 - 348.
- MOO-YOUNG, M ; CHANA, D.S ; SWAN-ROBINSON. 1977. "SCP production by Chaetomium cellulolyticum : A new thermotolerant cellulolytic fungus. B.B. Vol 19, 527 - 538.
- MOREAU, C.P. 1974. Moisissures toxiques dans l'alimentation. 2e édition. Masson et Cie éditeur. 471p.
- MORRIS, E.J ; BACON, J.S.D. 1977. The fate of acetyl groups and sugar components during the digestion of grass cell walls in sheep. J. Agric. Sci. Camb., 89, 327 - 340.
- MORRISON, I.M. 1979. Symposium on carbohydrate metabolism in the ruminant. The hannach. Research. Institut. AYR. KAGSHL the nutrition society.
- NAGAI, S ; NISHIO, N. 1980. Biochemical engineering problems on solid state culture. J. Ferment. Technol., 58, 412 - 415.
- NAKAHARA, H ; KOYAMA, Y ; YOSHIDA, T ; PICHANEHURA, S ; UEDA, R ; TAGUCHI, H. 1982. Growth and enzyme production in solid state culture of Aspergillus oryzae. J. Ferment. Technol., 60, 311 - 320.
- NAKAMURA, K ; KITAMURA, K. 1982. Isolation and identification of crystalline cellulose hydrolysing bacterium its enzymatic properties. J. Ferment. Technol., 60, 343 - 348.
- NISHIO, N ; KURISU, K ; NAGAI, S. 1981. Thermophilic cellulase production by Taralomyces sp in solid cultivation. J. Ferment. Technol., 59, 5, 407 - 410.

- NOJAC, I. 1984. Caractérisation et évaluation de l'aptitude des champignons filamenteux à l'enrichissement en protéines des pulpes de betterave. Mémoire d'Ingénieur. Université de Dijon. 26p.
- NORKRANS, B. 1950. Cité par COWLING et KIRK. 1976. Dans "Properties of cellulose and lignocellulosic materials as substrates for enzymatic conversion process. "Biotechnol. Bioeng. Symp., 6, 95 - 126.
- ODIER, E. 1980. Colloque cellulolyse microbienne. C.N.R.S France Marseille.
- ODIER, E ; ROCH, P. 1985. Factors controlling biodegradation of lignin in wood by various white-rot fungi (communication personnelle).
- ODIER, E ; ROLANDO, C. 1985. Catabolism of arylglycerol  $\beta$ -arylethers lignin model compounds by Pseudomonas cepacia 122. Biochimic., 67, 191 - 197.
- OJI, U.I ; MOURAT, D.N. 1979. Nutritive value of thermo-ammoniated and steam-treated maize stover. I. Intake, digestibility and Nitrogen retention. Animal Feed and Technol., 4, 177 - 186.
- OJI, U.I ; MOURAT, D.N ; BUCHAMAN-SMITH. 1979. Nutritive value of thermo-ammoniated and steam treated maize stover II - rumen metabolites and rate of passage, Animal Feed Science and Technology., 4, 187 - 197.
- OKADA, G ; NISIZAWA, K ; SUZUKI, H. 1968. Cité par LATINO In Etude de l'hydrolyse de la cellulose par les cellulases. Rapport de Seminaire Avril 1980, ENSIAA Massy.

- PAMAMENT, N ; ROBINSON, C.W ; MOO-YOUNG. 1979. Pulpand payer mill soid wastes as substrates for single-cell protein production. Biotechnol. Bioeng., 21, 561 - 573.
- PARTOS, J. 1981. Fermentation de la paille par les cultures mixtes de bactéries : Influence de traitements préalables. Thèse de Docteur - Ingénieur. UNiversité d'Aix - Marseille.
- PEARCE, G.R. 1982. Plant cell wall and the effects of pretreatments on the digestibility of fibrous residues in crops residues and agro-industrial by products in animal feeding. F.A.O : Animal production and health paper., 19 - 22.
- PETTERSSON, L.E. 1975. The mechanism of enzymatic hydrolysis of cellulose by Trichoderma viride. Symp. Enzym. Hydrolysis. Cellulose (M. BAILEY ; T.M. ENARI and M. LINKO, ed ) ; 225 - 261.
- PLAYNE, M.J. 1984. Increased digestibility of bagasse by pretreatments with alkalis and steam explosion. Biotechnol. Bioeng., 25, 426 - 433.
- POURQUIE, J ; VANDECASTEELE, J.P. 1984. Les substrats lignocellulosiques. In. Biotechnologie. Edition : Technique et documentation LAVOISIER. Paris.
- PRINGSHEIM, H. 1921. Cité par LATINO In : Etude de l'hydrolyse de la cellulose par les cellulase. Rapport de seminaire. Avril. 1980 ENSIAA Massy.
- PUPPOS, S ; SETTINERI, D. 1987. Use of microorganisms to increase the nutritive value of agricultural by product with a high cellulose content. Annali d'ell instito sperimentale per la Zootechnica., 18, 81 - 91.

- RAIMBAULT, M. 1981. Fermentation en milieu solide. Document ORSTOM, Paris 291p.
- RAIMBAULT, M ; ALAZARD, D. 1980. Culture method to study fungal growth in solid fermentation. European. J. Appl. Microbiol : Biotechnol., 9, 199 - 209.
- RAPP, P ; KNOBLOCK, U ; WAGNER, F. 1982. Repression of endo-1,4- $\beta$ -glucanase formation in Penicellium janthinelum and product inhibition of its, 1,4- $\beta$ -glucanases and cellobiases. J. Biotechnol., 149, 783 - 786.
- READE, A.E ; MC QUEEN, R.E. 1983. Investigation of white-rot fungi for the conversion of poplar into a potential feed-stuff for ruminants. Can. J. Microbiol., 29, 457 - 463.
- REESE, E.T. 1975. Polysaccharoses and the hydrolysis of insoluble substrates. Bio. Transform. Wood. Micro-organismes. Proc. Sem., 165 - 181.
- REESE, E.T ; SIU, R.G.H ; LEVINSON, H.S. 1950. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulase hydrolysis. J. Bact., 59, 485 - 497.
- RIQUET, A.N. 1979. Etude des constituants membranaires de divers produits végétaux destinés à l'alimentation animale : Signification et limites des principales méthodes de dosage. Thèse de Docteur de 3<sup>e</sup> Cycle. Université Paris XI-ENSIA, 85p.
- ROMANELLI, R.A ; HOUSTON, C.W ; BARNETT, S.M. 1975. Studies on thermophilic cellulolytic fungi. Applied. Microb., 276-281.

- ROUAU, X. 1985. Production et purification, caractérisation de polyosidases d'un basidiomycète de pourriture blanche, Dichomitus squalens Thèse de 3e Cycle, Université de Paris. VII
- ROUSSOS, S. 1981. Etude de l'hydrolyse de la cellulose par des moisissures cultivées en milieu solide. Etude O.R.S.T.O.M. I.R. C.H.A. 80p.
- ROUSSOS, S ; RAIMBAULT, J.M. 1982. Hydrolyse de la cellulose par les moisissures. I - "Screening" des souches cellulolytiques. An. Microbiol. Institut. Pasteur., 133, 455 - 464.
- ROWLAND, S.P ; ROBERTS, E.J. 1972. The nature of accessible surfaces in the microstructure of cotton cellulose. J. Polymer. Sci., 10, 2447 - 2461.
- SACCHI, C.F ; TASTARD, J. 1971. Ecologie animale : organisme et milieu. DOIN. Editeurs. 480p.
- SALO, M.L. 1965. Détermination of carbohydrate fractions in animal food and feces. Suomen maataloustiet. Ellisen. Senra. Juk ; 105., Acte Agralia Fennica. 100p.
- SAUVANT, D. 1978. Importance et composition de la membrane végétale des aliments des animaux domestiques. In : Utilisation des matières premières cellulosiques en particulier la paille en alimentation animale. C.A.A. INA. Paris. Grignon, p 1 - 39.
- SAXENA, S.K ; BISARIA, V.S ; VERMA, J . GOPALKRISHNAN, K.S. 1985. Lignin dégrading potencial of new isolate of Coriolus hirsitus. J. Ferment. Technol., 63, 307 - 310.
- SENEZ, J.C. 1983. New developments in the fields of protein enrichment of foods and feeds (P.E.F.F) Acta. Biotechnol., 3 ; 4 ; 299 - 308.

- SOUTHGATE, D.A.T. 1969. Determination of carbohydrate in foods. II. Unavailable carbohydrate. J. Sci. Food. Agric. 20, 331 - 335.
- STARON, T. 1984. Essais de culture de Trichoderma album sur paille brute et paille sodée in : L'encyclopedie nutritionnelles de l'homme, pp. 308 - 316, I.N.R.A. LUCE.
- SUGAMA, S ; OKOISAKI, N. 1979. Growth estimation of Aspergillus oryzae cultivated on solid media. J. Ferment. Technol., 57, 408 - 412.
- TANAKA, M . TAKENAWA, S ; MATSUNO, R ; KONTKUBO, T. 1978. Some factors affectina cellulose degradation with Pellicularia filamendosa cellulases. J. Ferment. Technol., 56, 108 - 113.
- THEANDER, O. 1985. Alternatives possibles d'utilisation des matières végétaux dans l'avenir. Document O.C.D.E. Paris 174p.
- TIEN, M ; KIRK, T.K. 1983. Lignin-degrading enzyme from the Hymenomycete phanerochaete Chrysosporium burds. Science 221, 661 - 663.
- TILLEY, J.H.A ; TERRY, R.A. 1963. Two stage technique for the "in vitro" digestion of forage crops. J. of. Brit. Grassld Soc. 18, 104- 111.
- VALTRAND, S ; RAPP, P ; VAGNER, F. 1982. Formation, location and regulation of endo, 1,4 - $\beta$ -glucanase and  $\beta$ -glucosidase from Cellulomonas uda. Appl. Environ. Microbiol., 44, 44 - 53.
- VAN-SOEST, P.J. 1963. Use of detergent in the analysis of fibrous feed. II. A rapid method for the determination of fibres and lignin. J.A.O.A.C., 46 5 , 829 - 835.

- VERACHTERT, H ; RAMASAMY, K ; MEYER, S.M . BEVERS, I. 1982. Investigation on cellulose biodegradation In activited gluge plants. Appl. Bacteriol., 52, 185 - 190.
- VEZINHET, F ; ROGER, M ; OTENG, K ; GALZY, P. 1977. Remarques sur la production de protéines par la culture d'un champignon filamenteux amylolytique sur le blé. Essai de culture en milieu pateux. Revue Ferment. Ind. Alimentaire.
- WALSETH, C.S. 1952. The influence of the fine structure of cellulose on the action of cellulase TAPPI., 35, 233 - 238.
- WOOD, T.M. 1968. Biochem. J. 109, 217 - 227(In WOOD, T.M ; MC CRAE, S.I. 1972). The purification and properties of the C<sub>1</sub> component of Trichoderma koningii cellulase. Biochem. J., 128, 1183 - 1192.
- WOOD, T.M ; MC CRAE, S.I. 1972. The purification and properties of the C<sub>1</sub> component of Trichoderma koningii cellulase. Biochem. J., 128, 1183 - 1192.
- WOOD, T.M ; MC CRAE, S.I. 1978: The cellulase of Trichoderma koningii purification and properties of some endoglucanase components with special reference to their action on cellulase when acting alone and in synergism with the cellobiohydrolase. Biochem. J., 171, 61 - 72.
- XANDE, A. 1978. Valeur alimentaire des pailles de céréales chez le mouton. I. Influence de la complémentation azotée et énergétique sur l'ingestion et l'utilisation digestive d'une paille d'orge. Ann. Zootech., 27, 583 - 599.
- YADAV, J.S. 1988 ; SSF of wheat straw with alcaliphilic coprinus Biotechnol. Bioeng., 31, 414 - 417.

- ZADRAZIL, F. 1980. The influence of ammonium nitrate supplementation on degradation and in vitro digestibility of straw colonized by higher fungi. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 9, 37 - 44.
- ZADRAZIL, F ; BRUNNERT, H. 1981. Investigation of physical parameters important for the solid - state fermentation of straws by white - rot; fungi. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 11, 183 - 188.
- ZADRAZIL, F ; BRUNNERT, H. 1982. Solid-state fermentation of lignocellulose containing residues with Sporotrichum pulverulentum. Nov. and Dichomitus squalens (Karst). Reid. Eur. J. Appl. Microbio. Biotechnol., 16, 45 - 51.
- ZADRAZIL, F ; GRINBERG, J ; GONZALEZ, A. 1982. "Palo Podrido". decomposed wood used as feed. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 15, 165 - 171.

ANNEXE 1 : VARIATION DES COMPOSANTS DE LA PAROI EN FONCTION  
DE LA TENEUR EN AZOTE ET DU TEMPS DE CULTURE.

Temps de Culture	MS solubilisée			N.D.F.			Cellulose			Hémicelluloses			Lignines		
	6.3%	10.2%	14.1%	6.3%	10.2%	14.1 %	6.3%	10.2%	14.1 %	6.3%	10.2%	14.1%	6.3%	10.2%	14.1M
36h	20.37	24.85	25.13	79.63	75.15	74.87	39.39	40.22	38.50	31.40	30.16	29.98	4.74	6.53	5.58
46h	21.72	25.15	25.73	78.28	74.85	74.27	38.90	39.83	37.84	30.70	28.69	29.50	5.68	6.27	5.05
60h	22.35	25.58	25.98	77.65	74.42	74.02	38.60	39.63	38.02	30.54	28.50	28.69	6.37	6.38	5.63
72h	22.02	23.84	25.74	77.98	75.16	73.26	36.41	38.12	37.92	29.66	27.58	27.39	6.22	5.12	5.60
Paille témoin	20.3			79.7			41.4			33.9			5.4		



-ooOoo- R E S U M E -ooOoo-

- \* - \* - \* - \* -

Dans le but d'étudier les possibilités d'améliorer par voie biologique et en milieu semi-solide la valeur nutritive des pailles de céréales (amélioration de la digestibilité et de la teneur en protéines), nous avons isolé à partir du sol 23 souches de champignons filamenteux. Criblées sur les paramètres : Activité cellulolytique et enrichissement de la paille en protéines ; deux souches se sont avérées performantes : Myrothecium verrucaria et Trichoderma viride.

Pour une température de 27°C ; pour trois taux d'humidité (80 ; 84 et 87 p.100) associés à trois pH (4 ; 5 et 6) et pour des durées de culture allant de 0 à 16 jours, sont évalués principalement sur une paille de blé traitée :

- La consommation de cellulose par les deux souches.
- L'enrichissement du substrat en protéines en fonction de l'apport azoté et minéral.
- La digestibilité "in sacco" de la biomasse obtenue.

Il ressort que :

1) La consommation de cellulose est élevée pour les deux organismes. Toutefois, elle est plus forte pour Trichoderma (11 points contre 7 pour Myrothecium). Les hémicelluloses sont très faiblement consommées ; alors que les lignines ne sont pas touchées ; il en résulte une augmentation dans le produit final notamment pour Trichoderma.

2) La teneur en protéines des échantillons traités augmente en moyenne respectivement de 3.3 et de 4.7g/100g de MS pour Trichoderma et pour Myrothecium amenant la teneur totale en protéines de la paille à 6.9 et 8.4g/100 de MS. Ces teneurs correspondent à un rendement de 0.14 et 0.38g de protéines mycéliennes/g de glucides utilisés.

3) La digestibilité de la paille témoin s'établit à 59 p.100 contre 54 p.100 et 67 p.100 respectivement pour Trichoderma et Myrothecium.

4) Le passage de l'apport d'azote minéral de 6 à 14 p.100 ne modifie ni la digestibilité, ni la synthèse protéique. Un prétraitement initial de la paille semble nécessaire pour faire évoluer cette situation.

MOTS CLES : Trichoderma viride, Myrothecium verrucaria, paille de blé traitée, digestibilité "in sacco", teneur en protéines, fermenteur.