



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Khider Biskra



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Agronomiques

Réf :

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat en sciences agronomiques
Option : Production animale

Présentée par :
CHEKKAL Fekhreddine

Intitulé :
**Effet de l'emploi de mélange de substances naturelles et de sous produits
du cactus dans l'alimentation des petits ruminants**

Soutenue le : 23/06/2025

Devant le Jury :

Mme. DEGHNOUCHE Kahramen
Mme. CHACHOUA Ilhem
Mr. MESSAI Ahmed
Mr. MEZIANE Toufik

Prof Univ. Biskra
M.C.A Univ. Batna 1
Prof Univ. Biskra
Prof Univ. Batna 1

Président
Rapporteur
Examineur
Examineur

Année Universitaire 2024-2025

Remerciements

*Mes remerciements vont d'abord à Madame **Deghnouche Kahramen**, qui a accepté de présider ce jury et pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail.*

*J'exprime mes plus sincères remerciements à Madame **Chachoua Ilhem**, ma directrice de thèse, pour son encadrement précieux, sa disponibilité et ses conseils avisés tout au long de ce travail. Sa rigueur scientifique et son soutien constant ont été une source d'inspiration et de motivation pour mener à bien cette recherche.*

*Mes remerciements s'adressent également à Monsieur **Messai Ahmed** et à Monsieur **Meziane Toufik**, qui m'ont fait l'honneur d'évaluer ce travail.*

*Je remercie chaleureusement le directeur du CRSTRA, Monsieur **Kechebar Mohamed Seif Allah**, pour son appui, son encouragement, ainsi que pour les facilités accordées dans le cadre de cette recherche.*

*Mes remerciements vont également à Madame **Boukhalifa Hassina Hafida**, directrice du laboratoire PIARA, pour son accueil, son encadrement bienveillant et les moyens mis à disposition afin de mener à bien cette étude.*

Je souhaite également adresser ma reconnaissance à toute l'équipe du laboratoire, ainsi qu'à l'ensemble de mes collègues et enseignants, qui m'ont apporté leur soutien et partagé avec moi leur savoir et leur expérience.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à ma formation et à la réalisation de ce travail, depuis mes premiers pas dans le domaine scientifique jusqu'au jour de ma soutenance.

Dédicace

À mon père, parti trop tôt, mais dont l'amour, les valeurs et les enseignements continuent de m'accompagner chaque jour. Que ton âme repose en paix.

À ma mère, source infinie de tendresse et de sagesse, qui m'a soutenu avec amour et abnégation à chaque étape de ma vie. Que Dieu te préserve et te comble de bienfaits.

À mon épouse, ma compagne de vie, mon soutien inébranlable, celle qui partage mes joies et mes épreuves avec amour et patience. Merci pour ta présence précieuse et ton inestimable dévouement.

À mes enfants, ma plus belle fierté, ma raison d'avancer et de toujours espérer un avenir meilleur. Que votre chemin soit illuminé de bonheur et de réussite.

À mes frères et sœurs, piliers de ma vie, complices de mon parcours, avec qui j'ai partagé tant de souvenirs inoubliables.

À tous ceux qui me sont chers, proches ou lointains, amis, famille, et compagnons de route, qui ont contribué, de près ou de loin, à mon épanouissement. Votre présence, votre soutien et vos encouragements ont été une force précieuse tout au long de mon chemin.

Que cette œuvre soit le reflet de ma gratitude et de mon attachement à chacun de vous.

Sommaire

Liste des Abréviations

Liste des Figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Résumé

Introduction.....01

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Anatomie des pré-estomacs chez les polygastriques et méthodes d'évaluation des valeurs nutritionnelles des aliments

I.1. Particularités du système digestif des ovins.....04

I.2. Anatomie et fonction des organes digestifs des ovins.....04

I.2.1. Bouche et œsophage.....04

I.2.2. L'estomac compartimenté.....04

I.2.3. Intestin grêle et gros intestin.....06

I.3. Spécificités digestives des ovins.....06

I.3.1. Adaptation aux fibres.....06

I.3.2. Rumination.....06

I.4. Particularités anatomiques et physiologiques.....06

I.4.1. Papilles ruminales.....06

I.4.2. Réticulum.....06

I.5. Comparaison avec d'autres ruminants.....07

I.6. Méthodes d'évaluation des valeurs nutritionnelles des aliments chez les ruminants.....07

I.6.1. Méthodes chimiques.....07

I.6.2. Méthodes de digestibilité.....08

I.6.2.1. Méthodes <i>in vivo</i>	08
I.6.2.2. Méthodes <i>in situ</i>	08
I.6.2.3. Méthode de Tilley et Terry.....	09
I.6.2.4. Méthode de gaz <i>in vitro</i> par lots.....	10
I.6.2.4.1. Test gaz de Hohenheim.....	11
1.6.2.5. Méthode de digestibilité enzymatique <i>in vitro</i>	19
I.6.3. Méthode d'évaluation multicritère des rations.....	20

Chapitre II : Dynamique du devenir des aliments dans le rumen

II. Dynamique du devenir des aliments dans le rumen.....	22
II.1. Dynamique des interactions alimentaires dans le rumen.....	22
II.1.1 L'écosystème ruminal : diversité et équilibre.....	22
II.2. Biotransformations des constituants alimentaires dans le rumen.....	29
II.2.1. Métabolisme des glucides : hydrolyse, fermentation et production d'AGV.....	29
II.2.2. Dégradation et synthèse des protéines dans le rumen.....	31
II.2.3. Métabolisme des lipides : Biohydrogénation et transformations enzymatiques.....	33

Chapitre III : Les additifs alimentaires dans l'alimentation animale

III. Les huiles essentielles en alimentation des petits ruminants.....	36
III.1. Catégories et rôles des additifs alimentaires en nutrition animale.....	36
III.2. Additifs alimentaires spécifiques aux ruminants.....	36
III.3. Définition et classification des huiles essentielles.....	37
III.4. Effets des huiles essentielles sur la fermentation ruminale.....	37

Chapitre IV : Situation actuelle d'*Opuntia ficus-indica* et de ses sous-produits en Algérie

IV. Situation actuelle de l' <i>Opuntia ficus indica</i> en Algérie.....	39
IV.1. Le figuier de Barbarie (<i>Opuntia ficus indica</i>).....	39

IV.2. Importance croissante du figuier de Barbarie en Algérie.....	39
IV.3. Périmètres de cultivation en Algérie.....	40
IV.4. Transformation et valorisation des produits de l' <i>Opuntia ficus indica</i>	40
IV.5. Impact économique de la filière <i>Opuntia ficus-indica</i> en Algérie.....	41
IV.5.1. Acteurs et dynamisme de la filière.....	41
IV.5.2. Valorisation multifilière de l' <i>Opuntia ficus-indica</i> : alimentation, transformation et sous-produits.....	42
IV.6. Stratégies pour le développement de la filière.....	43
IV.6.1. Expansion des superficies cultivées.....	43
IV.6.2. Certification et normalisation des produits.....	43
IV.6.3. Modernisation et mécanisation de la transformation.....	43
IV.6.4. Développement des marchés d'exportation.....	44

Deuxième partie : Etude expérimentale

Expérimentation I : Extraction, analyse et classification des composés bioactifs d'*Opuntia ficus-indica*

I. Matériel et méthodes.....	45
I.1. Matériel.....	45
I.1.1. Matériel biologique.....	45
I.2. Méthodes.....	45
I.2.1. Extraction de l'huile végétale par soxhlet.....	45
I.2.2. Estérification méthanolique de l'huile végétale sous irradiation ultrasonique.....	45
I.2.3. Méthode de Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS).....	46
I.2.4. Analyse Statistique.....	47
II. Résultats et discussion.....	49

II.1. Caractérisation des composés organiques volatils (COV).....	49
II.2. Variation des composés organiques volatils entre les échantillons.....	52
II.3. Similarité des composés organiques volatils (COV) entre les échantillons.....	53
II.4. Diversité des composés organiques volatils (COV) entre les échantillons.....	55
II.5. Réseau moléculaire des différentes classes chimiques.....	57
Conclusion.....	59

Expérimentation II : Évaluation des effets des huiles essentielles sur la digestion et la fermentation ruminale des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*

I. Matériel et méthodes.....	60
I.1. Matériel.....	60
I.1.1. Matériel végétale.....	60
I.1.2. Huiles essentielles.....	60
I.2. Méthodes.....	61
I.2.1. Méthode GC-MS.....	61
I.2.1.1. Analyse de l'huile essentielle de menthe odorante (<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh.).....	61
I.2.1.2. Analyse de l'huile essentielle de romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	62
I.2.2. Préparation des échantillons et analyse chimique.....	62
I.2.3. Collecte du liquide ruminal.....	63
I.2.3.1. Collecte du liquide ruminal destinée à l'étude avec l'huile essentielle de menthe odorante (<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh.).....	63
I.2.3.1.1. Technique de fistulisation du rumen.....	63
I.2.3.2. Collecte du liquide ruminal destinée à l'étude avec l'huile essentielle de romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	65
I.2.4. Procédure <i>in vitro</i>	65
I.2.4.1. Préparation du milieu d'incubation.....	65

I.2.4.2. Fermentation et mesure des gaz.....	67
I.2.5. Calcul et analyse statistique.....	68
I.2.5.1. Modélisation de la production de gaz.....	68
I.2.5.2. Estimation des paramètres nutritionnels et énergétiques.....	68
I.2.5.3. Production nette de gaz après 24 heures (GP24h).....	69
I.2.5.4. Analyse Statistique.....	70
II. Résultats et Discussion.....	72
II.1. Composition chimique des sous-produits d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	72
II.2. Analyse des composés organiques volatils (COV) de l'huile essentielle de <i>Mentha suaveolens</i> Ehrh.....	72
II.3. Analyse des composés organiques volatils (COV) de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	74
II.4. Effet des doses d'huile essentielle sur les valeurs nutritives des sous-produits d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	76
II.4.1. Pour l'huile essentielle de <i>Mentha suaveolens</i> Ehrh.....	76
II.4.2. Pour l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	78
II.5. Modélisation de la cinétique de production de gaz et analyse des effets des doses et des types d'échantillons sur la fermentation.....	82
II.5.1. Pour l'huile essentielle de <i>Mentha suaveolens</i> Ehrh.....	82
II.5.1.1. Test de Friedman.....	83
II.5.1.2. Comparaison post-hoc (Test de Dunn avec correction de Bonferroni).....	84
II.5.1.3. Analyse des paramètres de fermentation selon les types d'échantillons et les doses d'huile essentielle.....	86
II.5.2. Pour l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	88
II.5.2.1. Test de Friedman.....	88
II.5.2.2. Comparaison post-hoc (Test de Dunn avec correction de Bonferroni).....	89

II.5.2.3. Analyse des paramètres de fermentation selon les types d'échantillons et les doses d'huile essentielle.....	91
II.6. Comparaison globale entre les effets de <i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. et <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la fermentation des sous-produits d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	92
II.7. Analyse en Composantes Principales (ACP) des effets des huiles essentielles sur la fermentation des sous-produits d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	95
Conclusion.....	100
Conclusion générale	101
Références Bibliographiques.....	103
Annexes	

Liste des Abréviations

ACP : Analyse en Composantes Principales

ADF : Acid Detergent Fiber (lignocellulose)

ADL : Acid Detergent Lignin (lignine)

AGV : Acides Gras Volatils

ANOVA ART : Analyse de Variance Alignée sur les Rangs

CAM : Métabolisme Acide des Crassulacées

CLA : Conjugated Linoleic Acid

COV : Composés Organiques Volatils

CT : Cendres Totales

dMO : Digestibilité de la Matière Organique

df : Degrés de liberté

E1 : 2 ml de NaOH 1N dans 50 ml d'eau distillé

EM : Énergie Métabolisable

ENL : Énergie Nette Lait

FC : Facteur de Correction

GC-MS : Chromatographie en Phase Gazeuse - Spectrométrie de Masse

HCDS : Haut Commissariat au Développement de la Steppe

HGT : Hohenheim Gaz Test

ISO : Organisation Internationale de Normalisation

MG : Matières Grasses

MPD : Distance Moyenne par Paire

MS : Matière Sèche

NDF : Neutral Détergent Fibre (Fibre au détergent neutre)

NIRS : Spectroscopie Proche Infrarouge

NMDS : Positionnement Multidimensionnel Non Métrique

NPClassifier : Algorithme d'apprentissage profond pour la classification des produits naturels

PB : Protéines Brutes

p-value : Probabilité statistique d'erreur

VDLUFA : Association allemande des instituts de recherche et d'études agricoles

Liste des Figures

1. **Figure 1** : Viscères in situ de la brebis. Vue latérale gauche
2. **Figure 2** : Illustrations schématiques des vues gauche et droite de l'estomac d'une chèvre.
3. **Figure 3** : Proportions des différents AGV dans le rumen en fonction du pH.
4. **Figure 4** : Composition des aliments (Cuvelier et al., 2021).
5. **Figure 5** Schéma des processus de fermentation des glucides dans le rumen et des voies métaboliques d'utilisation de l'hydrogène.
6. **Figure 6** : Schéma de la digestion des glucides chez le ruminant.
7. **Figure 7** : Quantités de protéines microbiennes formées dans le rumen selon la quantité d'énergie et de matières azotées fermentescibles.
8. **Figure 8** : Schéma de la digestion des matières azotées chez le ruminant.
9. **Figure 9** : Schéma de la digestion des lipides chez le ruminant.
10. **Figure 10** : Localisation des différents opérateurs de la filière en Algérie.
11. **Figure 11** : Diagramme des différentes options de valorisation de l'*Opuntia ficus-indica* de l'unité pilote.
12. **Figure 12** : Classification quantitative comparative des composés organiques volatils dans les cladodes d'*Opuntia ficus-indica*.
13. **Figure 13** : Classification quantitative comparative des composés organiques volatils dans les écorces d'*Opuntia ficus-indica*.
14. **Figure 14** : Classification quantitative comparative des composés organiques volatils dans les Tourteaux d'*Opuntia ficus-indica*.
15. **Figure 15** : Carte thermique des indices de similarité de Bray-Curtis et Jaccard pour les composés organiques volatils d'*Opuntia ficus-indica* dans différentes parties de la plante.
16. **Figure 16** : Diversité des échantillons : indices de Shannon et Simpson pour les cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica*.
17. **Figure 17** : Analyse de la diversité fonctionnelle de Hill, mise à l'échelle multidimensionnelle non métrique (NMDS) et distance moyenne par paire (MPD) pour les cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica*.
18. **Figure 18** : Réseau moléculaire des classes basé sur les composés organiques volatils d'*Opuntia ficus-indica*.

19. **Figure 19** : Classification des métabolites volatils de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh. selon les niveaux Pathway, Superclass et Class à l'aide de NPClassifier.
20. **Figure 20** : Classification des métabolites volatils de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* selon les niveaux Pathway, Superclass et Class à l'aide de NPClassifier.
21. **Figure 21** : Effet des doses d'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh. sur quelques indicateurs de valeur nutritive des cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica*.
22. **Figure 22** : Effet des doses d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sur quelques indicateurs de valeur nutritive des cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica*.
23. **Figure 23** : Cinétique de production de gaz pour les cladodes sous différentes doses d'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.
24. **Figure 24** : Cinétique de production de gaz pour les écorces sous différentes doses d'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.
25. **Figure 25** : Cinétique de production de gaz pour les tourteaux sous différentes doses d'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.
26. **Figure 26** : Cercle des corrélations des variables étudiées.
27. **Figure 27** : Heatmap des contributions des variables aux axes principaux.
28. **Figure 28** : Projection des individus sur PC1 et PC2.

Liste des photos

Photo 1 : Brebis fistulée utilisée pour le prélèvement du liquide ruminal.

Photo 2 : Pré-réduction et maintien des conditions anaérobies par barbotage sous CO₂.

Photo 3 : Mesure de la production de gaz lors de la fermentation *in vitro* chez les petits ruminants.

Photo 4 : Dispositif expérimental de fermentation *in vitro* : série de seringues pour la mesure de la production de gaz.

Liste des tableaux

1. **Tableau 1** : Composition et préparation de la solution tampon (1L).
2. **Tableau 2** : Composition et préparation de la solution de macro-minéraux (1L).
3. **Tableau 3** : Composition et préparation de la solution de micro-minéraux (100 ml).
4. **Tableau 4** : Composition et préparation de la solution de résazurine (0,1%) (100 ml).
5. **Tableau 5** : Préparation de la solution réductrice (préparation fraîche).
6. **Tableau 6** : Caractéristiques des principales bactéries et archées ruminales.
7. **Tableau 7** : Répartition des plantations de figuier de barbarie réalisées par le HCDS.
8. **Tableau 8** : Pourcentages relatifs (%) et temps de rétention (RT) des composés organiques volatils (COV) identifiés et classés à l'aide du NPClassifier à partir des cladodes, des écorces et des tourteaux d'*Opuntia ficus indica*.
9. **Tableau 9** : Comparaison de la composition chimique des cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica* (test de Kruskal-Wallis).
10. **Tableau 10** : Composition chimique des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (cladodes, écorces et tourteaux), en g/kg de MS, sauf pour le phosphore (P) et le calcium (Ca), en mg/kg de MS.
11. **Tableau 11** : Résultats du test de Friedman pour les paramètres de fermentation sous l'effet de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.
12. **Tableau 12** : Résultats du test de Dunn pour la comparaison de la fraction potentiellement fermentescible (b) avec l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.
13. **Tableau 13** : Résultats du test de Dunn pour la comparaison du taux de production de gaz (c) avec l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.
14. **Tableau 14** : Comparaison des paramètres de fermentation pour différents types d'échantillons et doses d'huile essentielle (*Mentha suaveolens* Ehrh.).
15. **Tableau 15** : Effet de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh. sur les paramètres de fermentation des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*.
16. **Tableau 16** : Résultats du test de Friedman pour les paramètres de fermentation sous l'effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.
17. **Tableau 17** : Résultats du test de Dunn pour la comparaison de la fraction immédiatement soluble (a) avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.
18. **Tableau 18** : Résultats du test de Dunn pour la comparaison de la fraction potentiellement fermentescible (b) avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

19. **Tableau 19** : Résultats du test de Dunn pour la comparaison du taux de production de gaz (c) avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.
20. **Tableau 20** : Comparaison des paramètres de fermentation pour différents types d'échantillons et doses d'huile essentielle (*Rosmarinus officinalis*).
21. **Tableau 21** : Effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. sur les paramètres de fermentation des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*.
22. **Tableau 22** : Résultats du test de Mann-Whitney pour la comparaison entre *Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis*.
23. **Tableau 23** : Résultats de l'ANOVA ART pour l'évaluation des interactions entre Dose, Type d'échantillon et Huiles essentielles.

Résumé

Cette étude vise à valoriser les sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*, à savoir les cladodes, les écorces et les tourteaux, dans l'alimentation des petits ruminants. Une caractérisation chimique de ces biomasses a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), complétée par une classification métabolique à l'aide de l'outil d'intelligence artificielle NPClassifier. Les résultats révèlent une diversité marquée de composés bioactifs : les acides gras dominent dans les cladodes, tandis que les écorces se distinguent par leur richesse en terpénoïdes et stéroïdes. Des indices de diversité (Shannon, Simpson), ainsi que des indices de similarité (Bray-Curtis, Jaccard), confirment l'hétérogénéité métabolique, les écorces apparaissant comme la matrice la plus complexe.

Un réseau moléculaire a également été construit à partir des classes métaboliques identifiées, mettant en évidence les relations structurelles et fonctionnelles entre les composés issus des différents sous-produits.

Par ailleurs, l'effet des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* Ehrh. et de *Rosmarinus officinalis* a été évalué sur la fermentation *in vitro* des trois sous-produits à différentes doses. Les résultats indiquent une influence limitée sur les paramètres nutritionnels et cinétiques de fermentation, bien que des améliorations modérées aient été observées pour les cladodes.

Cette double approche, combinant la métabolomique et l'étude de la fermentation, met en lumière le potentiel des sous-produits du figuier de Barbarie comme ressource durable. L'étude ouvre la voie à leur intégration optimisée dans les rations animales et propose une base de données structurée des métabolites identifiés, contribuant ainsi à une alimentation animale plus efficiente, économique et respectueuse de l'environnement.

Mots clés : *Opuntia ficus-indica*, sous-produits, métabolomique, GC-MS, NPClassifier, réseau moléculaire, huiles essentielles, fermentation *in vitro*, alimentation des petits ruminants.

Introduction

Introduction

L'*Opuntia ficus-indica*, communément appelée figuier de Barbarie, a été introduite en Afrique du Nord entre les XVI^e et XVII^e siècles, facilitée par l'arrivée des Espagnols et le retour des Maures après leur expulsion d'Espagne. Adoptée pour la délimitation des fermes, la stabilisation des sols et comme fourrage en période de sécheresse, cette plante est aujourd'hui exploitée pour ses fruits, son huile précieuse et son rôle dans l'alimentation animale, notamment pour les petits ruminants et les camélidés (Inglese et al., 2018). En 2019, l'Algérie comptait douze opérateurs spécialisés dans l'extraction de son huile, avec une surface cultivée de 59 928 hectares, générant d'importants sous-produits tels que les écorces et les tourteaux (Amrouni Sais, 2019). Cependant, bien que les tourteaux issus de l'extraction de l'huile soient relativement bien documentés (55 000 kg en 2019), d'autres sous-produits comme les écorces restent encore peu étudiés et largement sous-exploités, représentant ainsi une opportunité pour leur valorisation (Amrouni Sais, 2019).

Face à la demande croissante en produits d'origine animale et aux pressions environnementales, l'adoption de pratiques agricoles durables est essentielle (Van Dijk et al., 2021). Dans ce contexte, *Opuntia ficus-indica* apparaît comme une culture clé dans les régions arides et semi-arides, en raison de sa résilience exceptionnelle, de ses faibles besoins en eau et de son potentiel nutritif (Jorge et al., 2023 ; Naorem et al., 2024). La valorisation de ses sous-produits constitue une solution durable pour améliorer la productivité animale tout en réduisant les coûts d'alimentation et le gaspillage agricole (Benteboula et al., 2023 ; Carpena et al., 2023 ; Cherif et al., 2022).

Outre son intérêt nutritionnel, *Opuntia ficus-indica* possède des propriétés bioactives et thérapeutiques largement étudiées, mettant en évidence des effets anticancéreux, antioxydants, antiviraux et anti-inflammatoires (Abdnim et al., 2023 ; Akacha et al., 2018 ; Andreu et al., 2018 ; Rasoulpour et al., 2017). Ces bienfaits sont attribués à sa richesse en métabolites secondaires, notamment les polyphénols, terpènes, alcaloïdes et acides gras, qui assurent une protection contre les herbivores et les pathogènes (Lalnunfela et al., 2024 ; Montejano-Ramírez et al., 2024 ; Verpoorte, 2000). Au-delà de leurs effets sur la santé humaine, ces composés présentent un intérêt potentiel pour l'alimentation animale en influençant la digestion et la santé des ruminants (Alghamdi et al., 2023 ; Belhadj Slimen et al., 2021). Cependant, la présence de ces métabolites secondaires peut également poser des défis, car ils peuvent avoir des effets bénéfiques ou délétères sur la digestion et les performances animales (Todaro et al., 2020). Une

caractérisation approfondie de ces composés est donc essentielle pour assurer leur utilisation efficace et sécurisée dans l'alimentation animale.

Les avancées technologiques, notamment la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), permettent aujourd'hui une identification précise des métabolites secondaires présents dans les sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (Alqurashi et al., 2022 ; Farag et al., 2017). L'intelligence artificielle, et en particulier le deep learning avec des outils comme NPClassifier (Kim et al., 2021), offre également une approche prometteuse pour la classification des composés chimiques et leurs applications potentielles dans les secteurs alimentaire, pharmaceutique et agricole. Toutefois, l'application de ces outils pour classifier les métabolites des plantes et en comprendre les implications biologiques chez les animaux reste encore peu explorée (Sheng et al., 2024).

Dans ce contexte, il est essentiel d'approfondir nos connaissances sur la composition chimique et métabolique des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* afin de mieux orienter leur incorporation dans l'alimentation animale. Cette étude vise donc, dans un premier temps, à analyser et classifier les métabolites secondaires présents dans les cladodes, les écorces et les tourteaux en utilisant des approches analytiques avancées. L'objectif est d'identifier les principaux composés bioactifs, dont les effets sur les processus digestifs, la fermentation ruminale et la biodisponibilité des nutriments chez les petits ruminants sont déjà documentés. Enfin, cette recherche ambitionne de développer une base de données regroupant les métabolites secondaires identifiés, constituant ainsi une ressource scientifique précieuse pour orienter les décisions relatives à l'incorporation des sous-produits du cactus dans l'alimentation des ruminants.

Par ailleurs, l'utilisation d'additifs naturels tels que les huiles essentielles pourraient constituer une alternative prometteuse aux antibiotiques et aux produits chimiques dans l'alimentation animale. Ces substances, connues pour leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires, pourraient améliorer la fermentation ruminale et optimiser la productivité animale (Giannenas et al., 2013 ; Nehme et al., 2021). Toutefois, leur efficacité dépend fortement de leur interaction avec les sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*, ce qui nécessite une évaluation plus approfondie. Cette seconde partie de l'étude examinera donc l'effet de l'incorporation d'huiles essentielles de *Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis* sur la fermentation ruminale et les paramètres nutritionnels des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*.

Enfin, les recherches de ce type s'appuient généralement sur des méthodes telles que les approches *in vivo*, *in sacco* (*in situ*) et *in vitro* (Kitessa et al., 1999 ; Krizsan et al., 2012 ; Vanzant et al., 1998). La fermentation *in vitro*, basée sur l'analyse des gaz (Rymer et al., 2005), a été retenue pour évaluer avec précision l'effet de ces associations sur la fermentation et les paramètres digestives des petits ruminants, dans un objectif de durabilité et d'optimisation des ressources disponibles.

Première partie :
Synthèse bibliographique

I.1. Particularités du système digestif des ovins

Les ovins, en tant que ruminants, possèdent un système digestif unique adapté à la digestion de fourrages riches en fibres. Ce système repose sur un processus complexe de fermentation microbienne qui permet l'extraction efficace des nutriments à partir de végétaux riches en cellulose (Hofmann, 1989). Leur appareil digestif, bien que similaire à celui des bovins, présente plusieurs différences notables en termes de proportions et de structures internes (Barone, 1996).

I.2. Anatomie et fonction des organes digestifs des ovins

I.2.1. Bouche et œsophage

Les ovins possèdent une bouche spécialisée pour la préhension des végétaux, avec une muqueuse buccale souvent pigmentée, notamment sur le palais et la langue (Barone, 1996). Contrairement aux bovins, leurs lèvres sont minces et mobiles, jouant un rôle essentiel dans la prise des aliments. La lèvre supérieure ne forme pas de mufle et est divisée par un philtrum étroit, profond et glabre, tandis que la lèvre inférieure est recouverte de poils et moins proéminente sur les côtés par rapport au bœuf (Barone, 1996).

L'œsophage, un conduit musculeux, permet le transport des aliments vers l'estomac et joue un rôle crucial dans la rumination (Stevens et Hume, 1998). Chez les ovins, la fente orale est légèrement plus large que chez les bovins, ce qui facilite la prise de nourriture (Barone, 1996).

I.2.2. L'estomac compartimenté

L'estomac des petits ruminants comprend quatre compartiments distincts (figure 1 et 2) :

- **Le rumen** : principal site de fermentation microbienne, où la cellulose est décomposée en acides gras volatils (AGV) grâce aux bactéries et protozoaires présents (Russell et Rychlik, 2001). Chez les ovins, le rumen peut contenir de 10 à 20 litres et est plus allongé que chez les bovins. Le sac ventral y est plus développé que le sac dorsal, contrairement aux bovins où ces deux compartiments sont de taille équivalente (Barone, 1996).
- **Le réticulum** : joue un rôle clé dans le tri des particules alimentaires et leur orientation vers l'omasum ou le rumen (Cheng et al., 1998). Il est proportionnellement plus volumineux que l'omasum, à l'inverse des bovins. Son volume varie entre 1 et 2 litres et ses cellules sont moins profondes, séparées par des crêtes de faible hauteur (Barone, 1996).
- **L'omasum** : plus réduit chez les ovins (environ 0,5 litre) que chez les bovins, il contient une quinzaine de cycles laminaires principalement tripliqués (Barone, 1996).

Son emplacement est plus profond sous l'hypocondre droit, étant séparé du foie plus nettement que chez les bovins.

➤ **L'abomasum (caillette)** : joue le rôle d'un estomac monogastrique, où la digestion enzymatique se produit sous l'effet de l'acide chlorhydrique et des enzymes digestives (Owens et al., 1998). Il est plus allongé que chez les bovins et contient entre 2 et 3 litres. Ses plis muqueux sont moins nombreux et plus bas, et sa paroi plus fine laisse transparaître ces plis de l'extérieur (Barone, 1996).

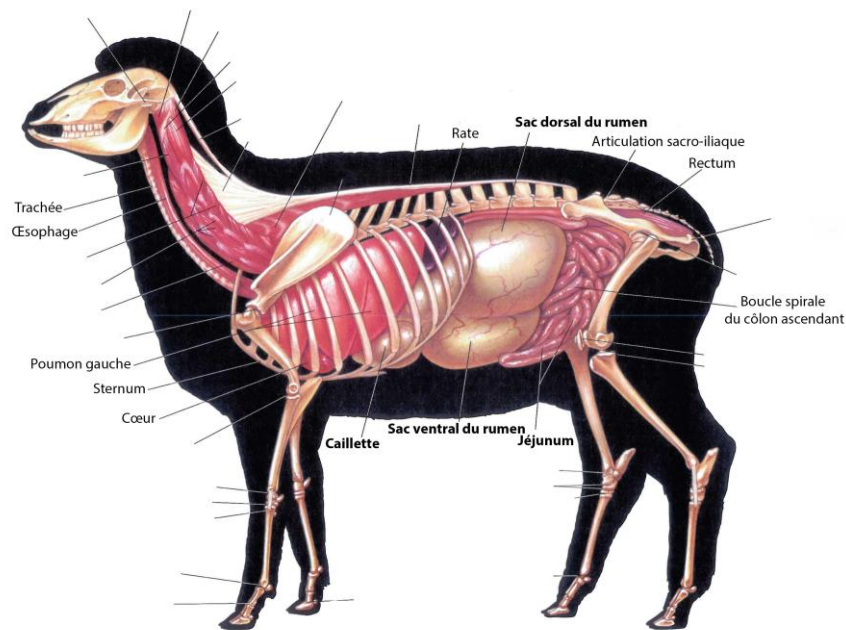


Figure 1. Viscères *in situ* de la brebis. Vue latérale gauche (McCracken et al., 2013).

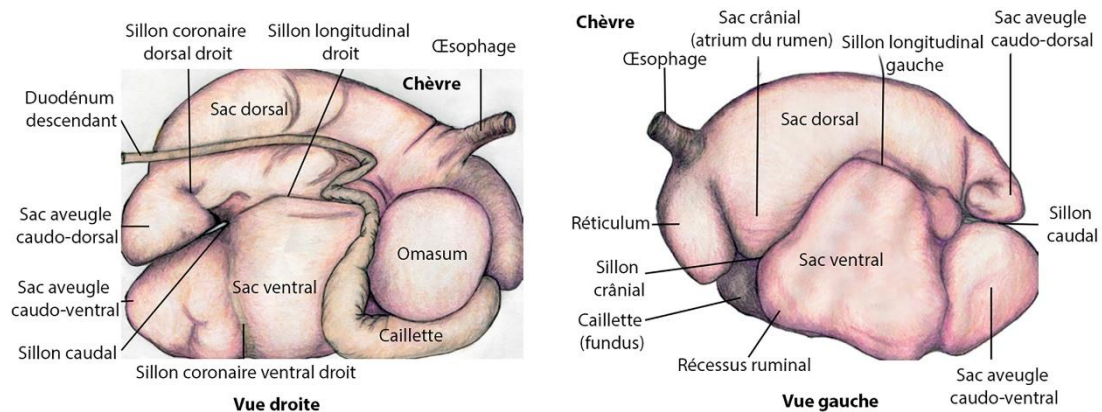


Figure 2. Illustrations schématiques des vues gauche et droite de l'estomac d'une chèvre (Ridler, 2016).

I.2.3. Intestin grêle et gros intestin

- **L'intestin grêle** des ovins est proportionnellement plus long que celui des bovins, mesurant entre 20 et 32 mètres, avec un duodénum de 0,8 à 1,1 mètre (Barone, 1996). Son calibre s'accroît nettement dans sa partie caudale. Contrairement aux bovins, seule la papille duodénale majeure est présente, où débouchent le conduit cholédoque et le conduit pancréatique unique, fusionnant sur une longueur de 5 à 6 cm (Barone, 1996).
- **Le gros intestin** mesure entre 4,5 et 8 mètres, soit proportionnellement plus long que chez les bovins. Le cæcum s'étend de la dernière côte jusqu'au bassin et le côlon spirale présente deux à trois tours dans chaque sens, formant une saillie plus marquée sur la face gauche du mésentère (Barone, 1996). Les matières fécales y subissent une déshydratation importante et sont moulées en petites masses arrondies distinctes. Chez la chèvre, le côlon descendant est nettement plus long que chez l'ovin, parfois du simple au double (Barone, 1996).

I.3. Spécificités digestives des ovins

I.3.1. Adaptation aux fibres

Les ovins sont des brouteurs (grazers), ce qui signifie que leur régime alimentaire est principalement constitué d'herbes et de fourrages. Leur rumen bien développé leur permet d'extraire l'énergie de la cellulose grâce à la fermentation microbienne symbiotique (Mathison et al., 1995).

I.3.2. Rumination

Le processus de rumination, caractéristique des ovins, implique la régurgitation et la remastication des aliments, optimisant ainsi la décomposition des fibres végétales et l'absorption des nutriments produits dans le rumen (Dyce et al., 2009).

I.4. Particularités anatomiques et physiologiques

I.4.1. Papilles ruminales

Les papilles ruminales, situées sur la paroi du rumen, augmentent la surface d'absorption des AGV et jouent un rôle dans la thermorégulation et la digestion mécanique des aliments (Clauss et al., 2009).

I.4.2. Réticulum

Le réticulum, avec sa structure en "nid d'abeille", est essentiel pour le tri des particules alimentaires. Il peut également retenir des corps étrangers ingérés accidentellement, pouvant

causer des pathologies comme la réticulite traumatique (Cheng et al., 1998).

I.5. Comparaison avec d'autres ruminants

- Par rapport aux bovins, les ovins ont un rumen plus petit mais plus efficace en termes d'absorption des nutriments (Van Soest, 1996).
- Contrairement aux chèvres, qui sont des "intermediate feeders" consommant plus de feuilles et de broussailles, les ovins privilégient les herbes et pâturages (Hofmann, 1989).

I.6. Méthodes d'évaluation des valeurs nutritionnelles des aliments chez les ruminants

L'évaluation des valeurs nutritionnelles des aliments destinés aux ruminants repose sur plusieurs approches méthodologiques permettant de quantifier la digestibilité, la dégradabilité et la valeur nutritionnelle des aliments. Ces méthodes peuvent être classées en méthodes chimiques, méthodes de digestibilité (*in vivo*, *in situ*, *in vitro*) et approche multicritère.

Les approches récentes tendent vers une évaluation plus globale des rations, prenant en compte la santé animale, la qualité des produits et les rejets dans l'environnement (Maxin et al., 2018).

I.6.1. Méthodes chimiques

L'évaluation des aliments repose sur leur composition chimique, qui inclut la mesure des fibres, des protéines, des lipides et des minéraux (Wood et Badve, 2001).

Depuis le XIX^e siècle, les systèmes analytiques les plus couramment utilisés sont :

- ❖ Le système Weende, qui divise les glucides en fibres brutes et extrait sans azote (Henneberg et Stohman, 1860).
- ❖ Le système Van Soest, qui affine cette classification en séparant les fibres en Neutral Detergent Fibre (NDF), Acid Detergent Fibre (ADF) et Acid Detergent Lignin (ADL) (Soest et Wine, 1967).

Les principales analyses chimiques comprennent :

- ❖ La matière sèche (MS), matière organique (MO), protéines brutes (PB), lipides et minéraux.
- ❖ La détermination de la teneur en fibres se fait à l'aide des méthodes NDF, ADF et ADL, qui permettent de quantifier les différentes fractions de la paroi cellulaire des végétaux.
- ❖ La mesure des protéines par la méthode de Kjeldahl et la méthode Dumas (France et al., 2000).

- ❖ La spectroscopie proche infrarouge (NIRS), qui est une technique récente et rapide permettant d'analyser la composition chimique des aliments avec précision (Landau et al., 2006).

Les méthodes chimiques sont rapides et reproductibles mais ne permettent pas d'évaluer la digestibilité réelle et l'ingestion effective par les ruminants.

I.6.2. Méthodes de digestibilité

I.6.2.1. Méthodes *in vivo*

Les méthodes *in vivo* permettent une évaluation directe de la biotransformation des constituants de la ration alimentaire dans le tube digestif des ruminants, notamment dans le rumen. Elles nécessitent l'utilisation d'animaux équipés de fistules ou de canules ruminales, facilitant ainsi les prélèvements de jus et de contenu ruminal (Olowu et Yaman, 2008). D'autres techniques comme l'intubation œsophagienne et la ruminocentèse (trocardage du rumen) sont parfois utilisées, bien qu'elles présentent des limites importantes en raison des risques de contamination des échantillons et des complications sanitaires potentielles (Duffield et al., 2004 ; Kleen et al., 2004).

Les animaux fistulés permettent d'effectuer des prélèvements répétés et d'étudier la dynamique de transformation des aliments autour des repas (Khorasani et al., 2001 ; Tice et al., 1993). La mesure des flux digestifs peut être réalisée grâce à l'utilisation de marqueurs comme le chrome EDTA pour la phase liquide et le chrome mordancé pour la phase solide (Faichney, 1975). Cette approche est essentielle pour quantifier les effluents digestifs en sortie du rumen et suivre la digestion des nutriments dans le tube digestif (Titgemeyer, 1997).

Les techniques *in vivo* permettent d'obtenir des données précises sur la fermentation et l'absorption des nutriments dans des conditions physiologiques réelles (Geron et al., 2015). Cependant, elles nécessitent des installations lourdes et sont limitées par le nombre d'animaux disponibles. De plus, elles ne permettent pas d'étudier précisément un aliment isolé, sauf s'il est marqué spécifiquement (Sauvant et al., 1987).

I.6.2.2. Méthodes *in situ*

L'approche *in sacco* ou *in situ* est utilisée depuis de nombreuses années pour avoir des estimations du taux et du degré de disparition des ingrédients des aliments pour ruminants. Elle consiste à introduire des échantillons d'aliments à analyser dans le rumen par une fistule et à les incubé pendant des intervalles de temps prédéterminés dans des conditions standardisées. Les

échantillons, dont la quantité à peser est connue, sont placés dans des sacs (sachets) en polyester ou en nylon non dégradables avec une taille de pore spécifique. La dégradabilité de la protéine peut être déterminée en utilisant l'équation de Ørskov et McDonald (1979) après avoir retiré les sacs du rumen et préparé les échantillons. L'avantage de cette technique est que les échantillons sont dégradés dans des conditions "naturelles", telles qu'elles sont prévalues dans le rumen, et que le risque d'enrichissement des produits de fermentation finaux est réduit. L'inconvénient de cette procédure est qu'elle est difficilement standardisable car la taille des pores et le pH de rumen ont une influence sur la dégradabilité, en plus le nombre limité d'échantillons de fourrage qui peut être analysé à la fois, aussi elle nécessite au moins trois animaux fistulés pour tenir compte des variations dues à l'animal. Ainsi, elle n'est pas pertinente pour les laboratoires qui effectuent régulièrement des analyses d'un grand nombre d'échantillons. Il est extrêmement difficile et nécessite des volumes d'échantillons importants. Si la modélisation cinétique ne tient pas compte de la phase de latence, les valeurs obtenues aux premiers stades de la digestion peuvent être très imprécises en raison d'une faible perte de poids ; pour les fourrages grossiers de mauvaise qualité, l'adhésion des micro-organismes aux premiers stades peut même contribuer à augmenter le poids, ce qui fausse les résultats. De même, la transposition des valeurs déterminées *in sacco* aux conditions *in vivo* reste discutable et nécessite des éclaircissements supplémentaires (Makkar, 2010 ; Michalet-Doreau et Nozière, 1999).

I.6.2.3. Méthode de Tilley et Terry

La méthode Tilley et Terry (1963) est largement utilisée en raison de sa commodité, en particulier lorsqu'il s'agit de tester des régimes alimentaires à grande échelle. Cette technique est utilisée dans de nombreux laboratoires d'évaluation des aliments pour animaux et comprend deux étapes. Premièrement les régimes sont fermentés pendant 48 heures dans une solution tampon contenant du liquide ruminale, puis digérés pendant 48 heures avec de la pepsine dans une solution acide. La méthode a été modifiée par Goering et Van Soest (1970) en traitant le résidu après 48 heures d'incubation avec une solution de détergent neutre pour estimer la digestibilité réelle de la matière sèche. La technique de Tilley et Terry (1963) a été largement validée par des valeurs *in vivo* (Van Soest, 1994). Toutefois, cette méthode semble présenter plusieurs inconvénients. La méthode est une mesure de point final (elle ne fournit qu'une seule observation) et ne fournit donc pas d'informations sur la cinétique de la digestion du régime alimentaire, à moins que des études de longue durée et à forte intensité de main-d'œuvre ne soient réalisées. La détermination des résidus détruit l'échantillon et un grand nombre de

répétitions est donc nécessaire. La méthode est donc difficile à appliquer à des matériaux tels que les échantillons de culture de tissus ou les fractions de parois cellulaires.

Les méthodes de Tilley et Terry et *in sacco* sont toutes deux basées sur la détermination des résidus et peuvent surestimer la digestibilité de la matière sèche pour les régimes riches en métabolites secondaires des plantes. Ces composants sont solubilisés dans ces deux systèmes mais peuvent ou non contribuer à l'apport de nutriments à l'animal (Makkar, 2003 ; Makkar, 2005).

I.6.2.4. Méthode de gaz *in vitro* par lots

Dans les méthodes de gaz *in vitro* (Getachew et al., 1998), un certain nombre d'appareils à gaz ont été utilisés pour mesurer le volume de gaz. Cette méthode de gaz *in vitro* développée par Menke et al. (1979), comme décrite par Makkar (2010) et aussi standardisé dans les méthodes du VDLUFA (2012), exactement la méthode 25.1 (Hohenheimer Futterwerttest, HFT) pour détermination de la formation de gaz selon le test de la valeur alimentaire de hohenheim (VDLUFA, 2012). La technique est basée sur l'incubation dans des seringues en verre calibrées. Cette méthode est plus facile à utiliser et un grand nombre de valeurs obtenues avec cette dernière ont été validées avec les travaux *in vivo*. Les fermentations sont réalisées dans des seringues en verre calibrées d'une capacité de 100 ml contenant de l'aliment et un liquide de rumen tamponné, selon la méthode de Menke et al. (1979). Le gaz produit lors de l'incubation de 200 mg de matière sèche d'aliment après 24 heures d'incubation, ainsi que les niveaux d'autres constituants chimiques, sont utilisés pour prédire la digestibilité *in vivo* de la matière organique et l'énergie métabolisable de différents régimes alimentaires. Aiple et al. (1996) ont comparés trois méthodes de laboratoire (enzymatique, mesure des nutriments bruts et mesure des gaz) en tant que prédicteurs de la teneur en énergie nette pour différents rations alimentaires (estimée par des équations basées sur la digestibilité *in vivo*). Ils ont constaté que la méthode des gaz était supérieure aux deux autres méthodes pour prédire la teneur en énergie nette des régimes individuels.

Plus récemment, l'intérêt accru pour l'utilisation efficace des régimes à base de fourrage grossier a conduit à une augmentation de l'utilisation de cette technique (Blümmel et Ørskov, 1993 ; Blümmel et Becker, 1997 ; Blümmel et al., 2005). Ceci est dû à son avantage dans l'étude de la cinétique de la fermentation. La mesure des gaz fournit des données utiles sur la cinétique de digestion des fractions solubles et insolubles de l'aliment. Plusieurs groupes utilisent différentes techniques de mesure des gaz et des méthodes *in vitro*. Les avantages et les inconvénients de

ces méthodes sont examinées par Getachew et al. (1998). La méthode de mesure des gaz *in vitro* à la seringue (Blümmel et al., 1997b ; Menke et al., 1979) semble être la plus adaptée aux pays en développement. D'autres méthodes *in vitro*, telles que la méthode de Tilley et Terry et la méthode *in sacco*, sont basées sur des mesures gravimétriques qui suivent la disparition du substrat (les composants qui peuvent ou non contribuer à la fermentation). La méthode des gaz se concentre sur l'apparition des produits de fermentation (les produits solubles mais non fermentescibles ne contribuent pas à la production de gaz). La méthode des gaz permet d'étudier la cinétique de la fermentation sur un seul échantillon et, par conséquent, une quantité relativement faible d'échantillon est suffisante en plus un grand nombre d'échantillons peuvent être évalués en même temps. Pour évaluer les effets des tanins ou d'autres facteurs antinutritionnels (d'autres métabolites secondaires), la méthode du gaz *in vitro* est plus efficace que la méthode *in sacco*. Dans la méthode *in sacco*, ces facteurs sont dilués dans le rumen après avoir été libérés du sac en nylon ou en polyester, ils n'ont donc pas d'effet significatif sur la fermentation dans le rumen. En outre, les méthodes de gaz *in vitro* permettent de mieux contrôler les interactions entre les nutriments et les nutriments et entre l'anti nutriments et l'anti nutriments (Makkar et al., 1995).

I.6.2.4.1. Test gaz de Hohenheim

Le Hohenheim Gaz Test (HGT) permettant d'estimer la digestibilité, la teneur en énergie métabolisable et d'autres paramètres des régimes alimentaires des ruminants, a été mis au point par Menke et al. (1979), alors que le fonctionnement du système HGT est décrit en détail par Menke et Steingass (1988). Quelques modifications qui sont décrites par Soliva et al. (2003) sont nécessaires pour permettre l'analyse de la composition des gaz de fermentation. Il s'agit du méthane, de l'hydrogène et du dioxyde de carbone.

➤ Historique d'utilisations de la culture *in vitro* par lots (batch)

En effet, les premières études *in vitro* sur la fermentation se concentraient sur la mesure terminale comme le degré de dégradation du substrat (régime alimentaire) à la fin de la période de culture (Tilley et Terry, 1963). Cependant, dans les années 1970, les chercheurs ont réalisé que la mesure des gaz produits pendant la fermentation, associée à la composition chimique du régime, pouvait être utilisée pour estimer à la fois la teneur en énergie métabolisable du régime et la dégradabilité de la matière organique dans le rumen. Czerkawski et Breckenridge (1975) ont mis au point un système utilisant une seringue en verre pour enregistrer le déplacement direct d'un piston par les gaz produits avec le liquide du rumen pendant la fermentation du régime. C'est la base du "test de gaz de Hohenheim" mis au point par Menke et al. (1979). 24

heures d'incubation est le temps pour laquelle la technique de la seringue a été développée à l'origine pour déterminer le point final de la fermentation des rations alimentaires. Cependant, Blümmel et Ørskov (1993) ont modifié la technique en incubant les seringues dans un bain-marie plutôt que dans un incubateur rotatif. La cinétique de la fermentation peut également être déterminée en enregistrant la production de gaz à des intervalles plus fréquents. Une autre modification de la méthode a été enregistrée par Makkar et al. (1995) et Blümmel et al. (1997a) en multipliant par fois deux la quantité de tampon du milieu (milieu d'incubation est de 40 ml au lieu de 30 ml) et en augmentant la quantité de l'échantillon à incubé de 200 mg à 500 mg.

La mesure des gaz de fermentation est un outil précieux pour estimer la teneur en énergie métabolisable des aliments et la dégradabilité de la matière organique dans le rumen. Ces informations peuvent être utilisées pour formuler des régimes alimentaires pour animaux qui sont efficaces et ont une valeur nutritionnelle élevée.

➤ Principe

Selon Menke et Steingass (1988), les incubations sont réalisées avec 30 ml de liquide de rumen tamponné. Environ 200 mg d'aliments sont pesés et disposés dans chaque seringue (en verre, 100 ml gradués 0,1/1ml). Les pistons sont lubrifiés avec de la vaseline et insérés dans les seringues. Une solution tampon et une solution minérale sont préparés et placés dans un bain-marie à 39°C avec un rinçage continu au CO₂. Le liquide ruminal est prélevé sur des vaches ou des ovins nourris avec un régime riche en fourrage et avec de concentré de valeur énergétique élevée (70:30 jusqu'à 50:50) dans une bouteille thermos préchauffée. Le liquide ruminal mélangé et rincé au CO₂ est ajouté à la solution minérale tamponnée (1:2 v/v) maintenue dans un bain-marie à 39°C. Chaque seringue contenant les échantillons d'aliments est remplie avec le liquide de rumen tamponné (30 ml), puis immédiatement placé dans le bain-marie à 39 °C (Blümmel et Ørskov, 1993). Trois seringues contenant uniquement le liquide de rumen tamponné sont incubées et sont considérées comme le blanc. Pour le standard (étalon) on utilise 2 à 4 seringues dont l'historique de production de gaz est connu (comme foin de luzerne). Les seringues sont légèrement agitées toutes les 2 heures, après l'enregistrement du volume de gaz à 72 heures l'incubation est terminée. Les valeurs totales de gaz sont corrigées pour tenir compte de l'incubation du blanc et standard. Les valeurs de gaz rapportées sont exprimées par g de MS.

Cette méthode des gaz a été normalisée et validée comme une approche fiable pour la génération d'équations de prédiction de la valeur énergétique des aliments. Elle repose sur l'analyse des données issues de plus de 400 études de digestibilité *in vivo*, corrélées à des études de

production de gaz *in vitro*, avec un coefficient de détermination supérieur à 92 % (Menke et Steingass, 1988). Les différentes solutions nécessaires à la mise en œuvre de cette méthode sont décrites en détail dans les tableaux 1 à 5. Celles-ci incluent la solution tampon, les solutions de macro- et micro-minéraux, la solution de résazurine, ainsi que la solution réductrice, préparées conformément au protocole original proposé par Menke et Steingass (1988).

❖ **Les solutions, selon Menke et steingass, 1988 :**

A- Tampon (1000 ml)

Tableau 1 : Composition et préparation de la solution tampon (1L) selon Menke et Steingass (1988).

Pour 1 Litre de Tampon (peux être conservé)			
Produit chimique	Formule	Quantité (g)	Préparation
Bicarbonate de sodium	NaHCO_3	35 g	Dissoudre dans environ 500 ml d'eau distillé et compléter a 1000 ml dans une fiole jaugée
Bicarbonate d'ammonium	$(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$	4 g	

B- Macro-minéraux (1000 ml)

Tableau 2 : Composition et préparation de la solution de macro-minéraux (1L) selon Menke et Steingass (1988).

Pour 1 Litre de Macro-minéraux (peux être conservé)			
Produit chimique	Formule	Quantité (g)	Préparation
Hydrogénophosphate de sodium	$\text{Na}_2 \text{HPO}_4$	5,7 g	Dissoudre dans environ 500 ml d'eau distillé et compléter a 1000 ml dans une fiole jaugée
Dihydrogénophosphate de potassium (KDP)	$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	6,2 g	
Sulfate de magnésium heptahydrate	$\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$	0,6 g	

C- Micro-minéraux (oligo-éléments, 100 ml)

Tableau 3 : Composition et préparation de la solution de micro-minéraux (100 ml) selon Menke et Steingass (1988).

Pour 100 ml de Micro-minéraux (peux être conservé)			
Produit chimique	Formule	Quantité (g)	Préparation
Chlorure de calcium dihydrate	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	13,2 g	Dissoudre dans environ 50 ml d'eau distillé et compléter à 100 ml dans un ballon de mesure
Chlorure de manganèse Tétrahydrate	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	10,0 g	
Chlorure de cobalt hexahydraté	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,0 g	
Trichlorure de fer hexahydraté	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	8,0 g	

D- Résazurine (0,1%, 100 ml)

Tableau 4 : Composition et préparation de la solution de résazurine (0,1%) (100 ml) selon Menke et Steingass (1988).

Pour 100 ml de Résazurine (0,1%) (peux être conservé)			
Produit chimique	Formule	Quantité (mg)	Préparation
Résazurine (0,1%)	$\text{C}_{12}\text{H}_6\text{NO}_4$	100 mg	Dissoudre dans environ 50 ml d'eau distillé et compléter a 100 ml dans une fiole jaugée

E- Solution réductrice

Tableau 5 : Préparation de la solution réductrice (préparation fraîche) selon Menke et Steingass (1988).

Pour la solution réductrice qui doit être préparé fraîche			
Produit chimique	Formule	Quantité (g)	Préparation
hydroxyde de sodium	NaOH 1N	4g	Dissoudre dans environ 50 ml d'eau distillé et compléter à 100 ml dans une fiole a jaugée
		E1 : 2 ml de NaOH 1N dans 50 ml d'eau distillé	
Sulfure de sodium	Na ₂ S.7H ₂ O	Ajouter 285 mg a 50 ml de solution E1 préparé au-dessus	
	Na ₂ S.9H ₂ O	Ajouter 335.3 mg a 50 ml de solution E1 préparé au-dessus	

➤ Espèces animales donatrices et nombre d'animaux

L'utilisation de fluides ruminants issus de différentes espèces animales peut influencer les résultats des incubations *in vitro* pour l'étude de la production de méthane. Des études ont démontré que les fluides ruminants d'ovins et de bovins peuvent être interchangeables sous certaines conditions alimentaires (Bueno et al., 2015 ; Cone et al., 2002), bien que des différences dans la production de CH₄ et les profils fermentaires existent selon les espèces (Kittelman et al., 2014 ; Muetzel et al., 2014). Pour assurer une représentativité optimale des échantillons, il est recommandé :

- ❖ D'utiliser des donneurs appartenant à la même espèce cible et nourris avec un régime identique.
- ❖ De prélever le fluide ruminal avant le premier repas de la journée pour minimiser les variations dues au régime.
- ❖ D'utiliser trois animaux donneurs (deux au minimum), et trois séries d'incubations indépendantes pour améliorer la robustesse des résultats.

➤ **Impact du Régime Alimentaire des Animaux Donneurs sur l'Inoculum Ruminal et la Production de Méthane**

L'alimentation des animaux donneurs influence considérablement la composition microbienne du rumen et, par conséquent, l'efficacité des essais *in vitro* pour mesurer la production de méthane. Les ruminants nourris avec des régimes riches en fourrages ont tendance à présenter une proportion plus élevée de bactéries fibrolytiques et d'archées méthanogènes comparativement à ceux recevant des concentrés (Demeyer et Fievez, 2000 ; Mould et al., 2005a,b). Cependant, cet effet dépend fortement de la source et de la proportion des ingrédients du régime, ainsi que de la qualité du fourrage (Dijkstra, 1994).

Les études ont montré que des régimes à faible ratio fourrage/concentré ou contenant des fourrages pauvres comme le foin de graminées augmentent la production de CH₄ *in vitro* (Martínez et al., 2010). De plus, ces régimes modifient le pH ruminal, les niveaux de NH₃ et l'activité des enzymes digestives (carboxyméthylcellulase, xylanase).

L'utilisation de fluides ruminants provenant d'animaux recevant des aliments de mauvaise qualité peut fausser les résultats des stratégies d'atténuation du méthane. Il est donc recommandé de prélever les échantillons avant le premier repas afin de minimiser l'impact des fluctuations métaboliques journalières (Huntington et Givens, 1998).

Des additifs comme l'huile d'ail et le cinnam aldéhyde modifient la fermentation ruminale de manière dépendante du pH (Cardozo et al., 2005 ; Kamel et al., 2008). Par exemple, l'huile d'ail a un impact plus marqué sur les acides gras volatils à pH faible.

Le niveau d'ingestion en matière sèche (MS) influence la durée de rétention ruminale, la digestibilité et la croissance microbienne de l'inoculum (Clauss et al., 2007). Une alimentation plus fréquente stabilise la fermentation et limite les variations de pH ruminal (Le Liboux et Peyraud, 1999).

Les populations microbiennes nécessitent un temps d'adaptation au régime alimentaire :

- ❖ Les archées méthanogènes ont besoin de 30 jours pour se stabiliser après un changement de régime (Williams et al., 2009).
- ❖ Les protozoaires atteignent leur équilibre après 25 jours (Monteils et al., 2012).

➤ **Source de liquide ruminale**

L'échantillonnage du contenu ruminal est une étape essentielle pour l'analyse de la fermentation microbienne et de la production de méthane *in vitro*. Le rumen contient deux phases distinctes

: solide et liquide, chacune hébergeant des populations microbiennes spécifiques (Zhao et al., 2023). Cependant, la composition en acides gras volatils (AGV) et le pH ruminal varient selon les zones du rumen, influençant ainsi les résultats obtenus (Bryant, 1964 ; De Visser et al., 1993 ; Storm et Kristensen, 2010).

A. Cannulation ruminale : la méthode de référence

La cannulation ruminale est la méthode de référence pour obtenir des échantillons représentatifs du contenu du rumen (Komarek, 1981 ; Kristensen et al., 2010). Toutefois, cette technique nécessite des animaux chirurgiquement modifiés, ce qui n'est pas toujours réalisable.

B. Intubation œsophagienne : une alternative à la cannulation

L'intubation œsophagienne est une méthode moins invasive, mais elle peut entraîner une dilution salivaire, affectant les profils fermentaires et microbiens (Duffield et al., 2004 ; Geishauser et Gitzel, 1996). Certaines études montrent que cette méthode produit des résultats comparables à ceux obtenus avec la cannulation (Lodge-Ivey et al., 2009 ; Shen et al., 2012 ; Terré et al., 2013), mais la profondeur d'insertion de la sonde est un facteur critique (Shen et al., 2012).

Ramos-Morales et al. (2014) ont comparé les deux méthodes chez les ovins et caprins et ont constaté que les variations de fermentation étaient bien détectées avec l'intubation. Cependant, les profils microbiens obtenus restaient différents de ceux de la cannulation.

C. Matières fécales comme source d'inoculum

L'inoculum fécal a été étudié comme alternative au fluide ruminal (El Shaera et al., 1987). Bien que des profils fermentaires similaires aient été observés (El-Meadaway et al., 1998), certaines limitations subsistent :

- ❖ Une moins grande diversité microbienne, entraînant une capacité de dégradation plus faible et une production de gaz réduite (Cone et al., 2002 ; Vàradyová et al., 2005).
- ❖ Une phase de latence prolongée et une dégradation plus lente des fibres (Mauricio et al., 2001).
- ❖ Une faible corrélation entre la production de gaz et l'inoculum fécal pour les fourrages de faible qualité (El-Meadaway et al., 1998 ; Vàradyová et al., 2005).

Dhanao et al. (2004) ont proposé un modèle de correction mathématique pour aligner les résultats obtenus avec un inoculum fécal sur ceux du fluide ruminal, mais cela nécessite l'application d'équations adaptées à chaque type d'aliment testé.

D. Fluide ruminal post-mortem

L'utilisation de fluide ruminal collecté après abattage est une alternative explorée dans plusieurs études (Mould et al., 2005a,b). Des essais *in vitro* ont été menés avec des échantillons prélevés sur bovins, ovins, buffles et dromadaires (Haddi et al., 2003 ; Salem, 2005). Cependant, certaines limites persistent :

- ❖ Absence de comparaison directe avec des échantillons prélevés par intubation ou cannulation sur un même animal.
 - ❖ L'échantillonnage doit être effectué immédiatement après l'abattage pour éviter des modifications de la microflore.
 - ❖ Aucune information sur le régime alimentaire des animaux abattus, ce qui peut affecter la composition microbienne du rumen.
- **Procédure de la technique de fermentation *in vitro* par méthode de gaz selon Menke et steingass, 1988:**

A. Préparation du milieu d'incubation

Dans une bouteille de 2 L (1 500 ml pour 50 seringues), ajouter successivement :

- 474 ml d'eau distillée
- 0,12 ml de solution d'oligo-éléments (C)
- 237 ml de solution tampon (A)
- 237 ml de solution macrominérale (B)
- 1,22 ml de solution de résazurine (D)

Le milieu tampon est ensuite réchauffé à 39°C dans une cuvette en PVC équipée d'un thermoplongeur immergé, d'une sonde et d'un régulateur de température calibré à 39°C. Avant utilisation, vérifier l'étalonnage avec un thermomètre de précision.

B. Création d'un environnement anaérobie

- ❖ Mélanger le milieu à l'aide d'un agitateur magnétique placé sous la cuvette et la bouteille de solution minérale tampon.
- ❖ Vérifier la température du milieu.
- ❖ Introduire un tuyau de CO₂ dans la bouteille contenant le milieu minéral tampon, en veillant à ce que l'extrémité soit immergée dans le liquide.
- ❖ Recouvrir la bouteille d'un papier d'aluminium pour limiter l'exposition à l'oxygène.
- ❖ Réguler l'infusion de CO₂ à un faible débit pour favoriser un environnement anaérobie et abaisser le pH de 8,2 à environ 6,9.

C. Activation du milieu de culture

- ❖ Ajouter 500 ml d'inoculum ruminal une fois que le milieu devient incolore.
- ❖ Poursuivre le gazage pendant 15 minutes après l'ajout du liquide ruminal afin d'assurer une parfaite homogénéisation.
- ❖ Retirer le tuyau de gaz avant de procéder au remplissage des seringues avec le milieu d'incubation.

1.6.2.5. Méthode de digestibilité enzymatique *in vitro*

La technique de digestibilité enzymatique *in vitro* est utilisée pour estimer la digestibilité des protéines et des glucides en recourant à des enzymes digestives telles que la cellulase et les protéases (Aufrère et Michalet-Doreau, 1988). Cette méthode est fortement corrélée aux mesures obtenues *in situ* et *in vivo* (Yu et al., 2000).

➤ Digestibilité des protéines

Aufrère et Cartailier (1988) ont mesuré la dégradabilité *in vitro* des protéines alimentaires en incubant les échantillons pendant 1 h et 24 h dans un tampon phosphoborique contenant une enzyme protéolytique extraite de *Streptomyces griseus*. Susmel et al. (1989) ont appliqué cette technique à 16 aliments pour ruminants, mettant en évidence des différences significatives entre les valeurs de dégradabilité enzymatique et les mesures *in situ*. En particulier :

- ❖ Les valeurs à 1 h étaient fortement corrélées aux mesures *in situ*.
- ❖ Les valeurs à 24 h montraient une corrélation plus faible (Yu et al., 2000).

L'augmentation du temps d'incubation enzymatique tend à réduire la corrélation avec les mesures *in situ*, probablement en raison d'une inhibition enzymatique induite par l'accumulation de produits de dégradation (Poos-Floyd et al., 1985 ; Krishnamoorthy et al., 1983 ; Crawford et al., 1978).

➤ Digestibilité des glucides et de l'énergie

La digestibilité énergétique des aliments peut également être estimée par des méthodes enzymatiques en deux étapes :

- A)** Prétraitement ou post-traitement avec des produits chimiques (HCl, détergents) et/ou des enzymes (amylase, pepsine, pronase).
- B)** Action enzymatique avec la cellulase seule ou en combinaison avec d'autres enzymes (amylase, hémicellulase) (Aufrère et Michalet-Doreau, 1988).

Bien que cette approche présente des variations, elle demeure une méthode simple et reproductible (De Boever et al., 1986). Toutefois, des études menées par la Communauté Économique Européenne ont mis en évidence des écarts entre laboratoires, malgré une bonne répétabilité intra-laboratoire (Van Der Meer, 1984).

Les techniques enzymatiques offrent une plus grande précision dans la mesure de la digestibilité des protéines et des glucides par rapport aux méthodes chimiques ou biologiques (Nocek, 1988). Parmi 18 méthodes enzymatiques comparées sur 31 concentrés alimentaires, la combinaison pepsine-cellulase s'est révélée la plus performante pour prédire la dégradabilité enzymatique (De Boever et al., 1986).

I.6.3. Méthode d'évaluation multicritère des rations

L'évaluation multicritère des rations vise à analyser simultanément plusieurs dimensions de la performance alimentaire chez les ruminants. Contrairement aux approches classiques basées uniquement sur les besoins nutritionnels, cette méthode intègre la santé animale, la qualité des produits, les rejets environnementaux et les performances de production (Maxin et al., 2018). L'objectif est d'offrir une vision plus holistique des impacts des rations sur l'animal et son environnement, permettant une formulation optimisée en fonction des priorités de l'éleveur et des contraintes du système d'alimentation.

L'évaluation multicritère repose sur des indicateurs spécifiques permettant de quantifier chaque critère étudié. Selon Roy (2013), les critères doivent être discriminants et servir de base à un jugement global, facilitant ainsi l'optimisation des rations en tenant compte des multiples interactions entre les aliments et les réponses physiologiques des animaux (Maxin et al., 2018).

L'approche multicritère repose sur quatre catégories principales de réponses :

- ❖ **Production animale** : comprend l'ingestion, la digestibilité et les performances de croissance ou de production laitière.
- ❖ **Santé animale** : inclut les risques d'acidose, les troubles digestifs et l'état général des animaux.
- ❖ **Impact environnemental** : prend en compte les émissions de méthane et les rejets azotés dans l'environnement.
- ❖ **Qualité des produits** : évalue les effets de la ration sur la composition du lait ou de la viande en termes de nutriments et de goût.

L'évaluation repose sur une combinaison de modélisation mathématique et d'expérimentation animale. Par exemple, des modèles de prédiction sont utilisés pour estimer la dégradabilité des

nutriments et leur impact sur la santé digestive et la production laitière (Sauvant et Nozière, 2013). De plus, des bases de données environnementales comme ECOALIM permettent d'intégrer l'empreinte écologique des ingrédients alimentaires et de proposer des alternatives réduisant les impacts environnementaux (Wilfart et al., 2016).

L'approche multicritère présente plusieurs avantages :

- ❖ Elle offre une vision globale des effets de la ration sur l'animal et son environnement.
- ❖ Elle permet une optimisation personnalisée en fonction des priorités de l'éleveur, qu'il s'agisse de rentabilité économique, de performance zootechnique ou de durabilité environnementale.
- ❖ Elle contribue à réduire les impacts environnementaux, notamment en limitant les rejets azotés et les émissions de méthane.

Cependant, cette approche présente également certaines limites :

- ❖ Sa mise en œuvre est complexe, car elle requiert une quantité importante de données et l'utilisation de modèles précis.
- ❖ L'agrégation des critères peut être délicate, car elle nécessite une pondération adaptée aux objectifs spécifiques de chaque exploitation (Lairez et al., 2017).
- ❖ Elle implique l'usage d'outils informatiques performants, indispensables pour intégrer les multiples paramètres et ajuster les simulations aux conditions d'élevage.

Enfin, une meilleure prise en compte des critères de bien-être animal et de santé digestive dans les modèles pourrait renforcer la pertinence de cette approche pour la formulation des rations futures (Maxin et al., 2018).

II. Dynamique du devenir des aliments dans le rumen

II.1. Dynamique des interactions alimentaires dans le rumen

Le rumen est un écosystème complexe et dynamique où se déroulent des interactions multiples entre les aliments ingérés et les microorganismes présents. Ces interactions déterminent la dégradation des constituants alimentaires, la fermentation et la production de nutriments essentiels à l'hôte (Söllinger et al., 2018). L'équilibre de cet écosystème repose sur des paramètres biotiques et abiotiques, qui influencent directement la fonction et la stabilité du microbiote ruminal (Zened et al., 2020).

II.1.1 L'écosystème ruminal : diversité et équilibre

L'écosystème ruminal se caractérise par une interaction dynamique entre les microorganismes et les conditions physico-chimiques du milieu. Il est constitué principalement de bactéries, de protozoaires et de champignons anaérobies, chacun jouant un rôle spécifique dans la digestion et la fermentation des aliments (Choudhury et al., 2015).

➤ Paramètres biotiques : microorganismes (bactéries, Archées, protozoaires et champignons)

a) Bactéries

Les ruminants et les microorganismes du rumen entretiennent une relation symbiotique essentielle au métabolisme des nutriments (Krause et al., 2003 ; McSweeney et al., 2005). La communauté bactérienne du rumen comprend plus de 200 espèces et se divise en quatre sous-populations principales :

- ❖ **Population associée au liquide** : elle est composée de bactéries planctoniques présentes dans le fluide ruminal et impliquées dans la consommation des composants solubles des aliments (McAllister et al., 1994).
- ❖ **Population associée aux solides** : elle regroupe les bactéries adhérant aux particules alimentaires et joue un rôle clé dans la digestion des fibres, représentant jusqu'à 75 % de la population bactérienne totale (Koike et al., 2003).
- ❖ **Population associée à l'épithélium** : fixée sur la paroi du rumen, elle représente seulement 1 % des bactéries totales mais possède une diversité plus importante que les autres sous-populations (Cheng et al., 1979 ; Malmuthuge et al., 2014).
- ❖ **Population associée aux eucaryotes** : constituée de bactéries fixées sur la surface des protozoaires ou des champignons anaérobies (Miron et al., 2001).

Les bactéries du rumen sont impliquées dans la fermentation des glucides complexes, des protéines et des lipides. Parmi les principales espèces, on trouve les *Fibrobacteres* et *Ruminococcus* (tableau 6), spécialisées dans la dégradation de la cellulose et de l'hémicellulose (Rueda, 2025 ; Yu et al., 2023). D'autres groupes, comme les *Succinivibrionaceae*, participent activement à la fermentation des glucides et à la régulation de la production d'acides gras volatils (AGV), qui constituent une source d'énergie essentielle pour l'hôte (Millen et al., 2016).

La majorité des bactéries du rumen sont strictement anaérobies et se répartissent en différents groupes fonctionnels selon leur activité enzymatique : cellulolytiques, amylolytiques, protéolytiques et méthanogènes (Dehority, 2003). De nouvelles techniques de biologie moléculaire, comme le séquençage de l'ARNr 16S, permettent aujourd'hui de mieux caractériser cette diversité microbienne et d'identifier des espèces jusqu'alors non cultivables (Singh et al., 2012 ; Sirohi et al., 2012).

b) Archées

Les archées méthanogènes du rumen sont des microorganismes anaérobies stricts qui jouent un rôle clé dans la production de méthane (Janssen et Kirs, 2008). Elles complètent les fermentations bactériennes en utilisant l'hydrogène et le dioxyde de carbone pour produire du méthane (Wolin et al., 1997). La majorité des archées méthanogènes identifiées dans le rumen appartiennent aux genres *Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium* et *Methanosarcina* (Janssen et Kirs, 2008 ; Wright et al., 2007).

Les méthanogènes sont retrouvés sous différentes formes dans le rumen : libres dans la phase liquide, attachées aux particules alimentaires, ou encore en association avec les protozoaires (Ohene-Adjei et al., 2007). Leur abondance varie en fonction des conditions du rumen et du régime alimentaire, influençant directement la production de méthane et l'efficacité de la digestion (Pei et al., 2010). Certaines études montrent que *Methanobrevibacter ruminantium* est le méthanogène prédominant dans le rumen (Henderson et al., 2015).

Des recherches récentes suggèrent que certaines lignées de méthanogènes, comme *Methanosphaera* et *Methanomassiliicoccales*, pourraient être plus influentes dans la production totale de méthane qu'on ne le pensait auparavant (Pitta et al., 2022). Leur diversité est plus restreinte que celle des bactéries, ce qui pourrait expliquer leur spécialisation dans l'utilisation des substrats fermentescibles (Shi et al., 2014).

Tableau 6 : Caractéristiques des principales bactéries et archées ruminales (Russell, 2002).

Espèces	Produits	Niches principales
Fibrobacter succinogenes	S, F, A	CU
Ruminococcus albus	A, F, E	CU
Ruminococcus flavefaciens	S, F, A	CU
Butyrivibrio fibrisolvens	B, F, L, A	CU, HCU, ST, PC, SU
Ruminobacter amylophilus	S, F, A	ST
Selenomonas ruminantium	L, A, P, B, H ₂	SU, ST, L
Prevotella sp.	S, A, F, P	ST, HCU, PC, B GL, PT
Succinomonas amylolytica	S, A, P	ST
Succinivibrio dextrinosolvens	S, A, F, L	MD
Streptococcus bovis	L, A, F, E	ST, SU
Eubacterium ruminantium	A, F, B, L	MD, SU
Megasphaera elsdenii	P, A, B, Br	L, MD, AA
Lachnospira multiparus	L, A, F	PC, SU
Anaerovibrio lipolytica	A, S, P	GY, L
Peptostreptococcus anaerobius	B	PEP, AA
Clostridium aminophilum	A, B	AA, PEP
Clostridium sticklandii	A, B, Br, P	PEP, AA
Wolinella succinogenes	S	MAL, FUM
Methanobrevibacter	CH ₄	H ₂ , CO ₂ , F

(A, acétate ; B, butyrate ; P, propionate ; F, formate ; L, lactate ; E, éthanol ; S, succinate ; Br, chaînes ramifiées VFA ; CU, cellulose ; HCU, hémicellulose ; ST, amidon ; SU, sucres ; MD, maltodextrines ; AA, acides aminés ; GY, glycérol ; MAL, malate ; FUM, fumarate.)

c) Protozoaires

Les protozoaires du rumen appartiennent majoritairement à l'embranchement des ciliés et se répartissent en deux grands groupes : les holotriches et les entodiniomorphes. Ils constituent environ 40 % de la biomasse microbienne et leur concentration varie entre 10⁶ cellules vivantes par ml de contenu ruminal (Fonty et al., 1988). Leur taille oscille entre 20 et 150 µm, selon les espèces (Dehority, 2003).

Les protozoaires jouent un rôle essentiel dans la digestion des constituants de la ration. Certains protozoaires peuvent dégrader les parois végétales, ingérer des grains d'amidon, des glucides solubles et des bactéries, influençant ainsi la dynamique du microbiote ruminal (Jouany et Thivend, 1972 ; Williams et al., 2020). Leur capacité à stocker des polysaccharides entraîne un délai dans la dégradation des nutriments, estimé à 7 heures pour un régime riche en orge (Sauvant et Van Milgen, 1995).

La population des ciliés entodiniomorphes suit une dynamique de variation en trois phases après un repas :

- ❖ **Phase de diminution** (jusqu'à 4 h après l'ingestion) : due à l'effet de dilution et à une vidange accrue du rumen.
- ❖ **Phase de croissance** (4 à 8 h après le repas) : correspond à une phase de division cellulaire et à la stabilisation du milieu.
- ❖ **Phase de réduction** (après 8 h) : associée à un appauvrissement du milieu en nutriments (Fonty et al., 1988).

Les protozoaires exercent un rôle central dans le métabolisme glucidique du rumen en ingérant des particules alimentaires et en les digérant au sein de leurs vacuoles. Les entodiniomorphes dégradent efficacement les hémicelluloses, tandis que les holotriches fermentent principalement les sucres solubles, à l'exception du mannose et de la glucosamine (Jouany et Ushida, 1999). Certaines espèces, comme *Isotricha*, possèdent une forte activité amylolytique, contribuant ainsi à la transformation de l'amidon en acides gras volatils et en gaz (Chaucheyras et al., 1996 ; Mendoza et al., 1993).

Enfin, bien que les protozoaires puissent être bénéfiques en limitant la prolifération bactérienne et en modulant la fermentation des glucides, leur présence peut également réduire la disponibilité des protéines microbiennes pour l'hôte, limitant ainsi l'efficacité globale du métabolisme azoté du ruminant (Williams et Coleman, 1997).

d) Champignons

Les champignons anaérobies du rumen jouent un rôle crucial dans la dégradation des fibres végétales. Ils appartiennent principalement à l'embranchement Neocallimastigomycota et regroupent plusieurs genres tels que *Neocallimastix*, *Piromyces* et *Orpinomyces* (Fliegerova et al., 2015). Leur concentration est relativement faible par rapport aux bactéries et protozoaires, représentant environ 8 % de la biomasse microbienne (Orpin et Joblin, 1997).

Ces champignons produisent une large gamme d'enzymes hydrolytiques permettant la dégradation de la cellulose, des hémicelluloses et des polysaccharides complexes (Gruninger et al., 2014). Ils pénètrent les tissus végétaux grâce à un système de rhizoïdes qui facilite leur action enzymatique et améliore l'accessibilité des substrats aux autres microorganismes du rumen (Paul et al., 2010). Leur activité est particulièrement importante lorsque la ration est riche en fourrages, favorisant ainsi la digestion des fibres (Dagar et al., 2011).

➤ **Paramètres abiotiques : pH, température, anaérobiose, humidité**

L'écosystème ruminal est influencé par des facteurs abiotiques qui conditionnent l'activité des microorganismes (bactéries, archées, protozoaires et champignons). Ces paramètres incluent principalement le pH, la température, les conditions anaérobies et l'humidité, qui déterminent l'équilibre des fermentations et la disponibilité des nutriments pour l'hôte.

a) pH et pouvoir tampon

Le pH ruminal est un élément central du fonctionnement du rumen, influençant directement la composition microbienne et l'efficacité des fermentations. Il doit être maintenu dans une fourchette optimale entre 6 et 7 pour assurer une prolifération adéquate des microorganismes. Cet équilibre résulte d'un ensemble de processus :

- ❖ **Production et absorption des acides** : La fermentation des glucides entraîne la formation d'acides gras volatils (AGV) et d'acide lactique, abaissant le pH.
- ❖ **Élimination des acides** : par absorption à travers la paroi ruminale et par la sortie des digesta vers l'intestin.
- ❖ **Effet tampon de la salive** : La sécrétion salivaire riche en bicarbonates et phosphates aide à neutraliser l'acidité. Une vache sécrète 100 à 190 L de salive/jour, tandis qu'un ovin produit 6 à 15 L/jour (Sautet, 1995).
- ❖ **Effets du pH sur les fermentations et les AGV**

Comme illustré en figure 3, le pH ruminal module la dynamique des fermentations :

- **À pH ≥ 6** : La flore cellulolytique est dominante, favorisant la production d'acide acétique, essentiel pour la synthèse de matière grasse dans le lait.
- **À pH < 6** : La flore amylolytique devient prépondérante, augmentant la production d'acide propionique, un précurseur du glucose.
- **À pH $< 5,5$** : L'acide lactique s'accumule, entraînant un risque d'acidose ruminale aiguë ou subclinique, néfaste pour la santé et la production (Martin et al., 2006).

Une acidose prolongée perturbe l'activité des bactéries cellulolytiques et réduit la digestibilité des fibres. Inversement, une alcalose peut survenir lorsque le pH dépasse 7,5, souvent en cas d'excès d'ammoniac (NH_3) dans le rumen (Rémond et al., 1995).

La vitesse d'absorption des AGV, la nature de la ration et la fréquence d'alimentation influencent également la stabilité du pH. Un apport soudain de concentrés riches en amidon accélère la fermentation, produisant des AGV en grande quantité et abaissant brutalement le pH, ce qui peut compromettre la digestion des fibres.

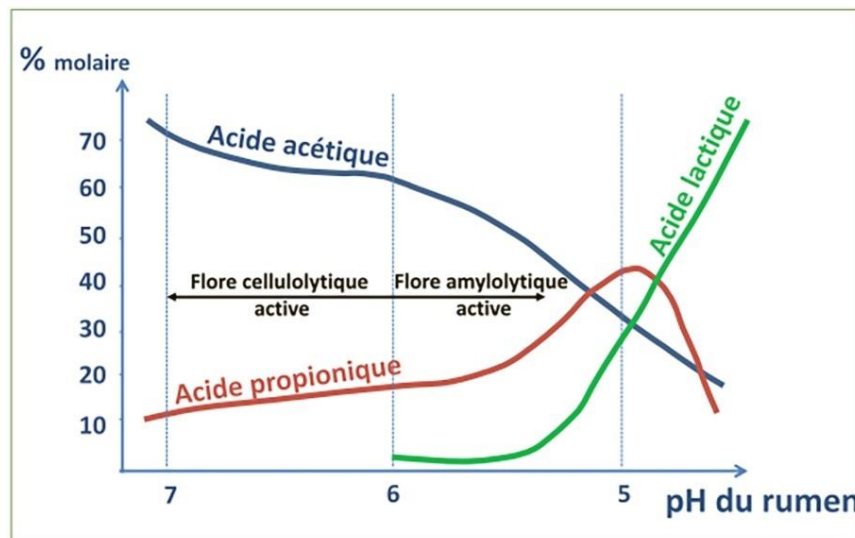


Figure 3. Proportions des différents AGV dans le rumen en fonction du pH
(Hurdebise et al., 2023).

b) Température du rumen

La température du contenu ruminal est relativement stable, comprise entre 38 et 40°C (Clarke, 1977). Elle est maintenue par :

- ❖ **L'activité microbienne** : la fermentation libère de la chaleur, contribuant à la régulation thermique.
- ❖ **Les échanges thermiques avec le sang** via la paroi du rumen.
- ❖ **L'eau et les aliments ingérés** : L'ingestion de fourrage gelé ou d'eau froide peut provoquer une chute temporaire de la température ruminale de 5 à 10°C (Church, 1976), nécessitant 1 à 2 heures pour revenir à la normale.

Des variations thermiques importantes peuvent affecter la flore microbienne. Par exemple, les protozoaires sont sensibles aux températures supérieures à 40°C et peuvent être éliminés si cette température est maintenue trop longtemps (Hungate, 1966).

c) Anaérobiose et potentiel d'oxydo-réduction

Le rumen est un milieu anaérobie strict, où l'absence d'oxygène favorise le développement des bactéries spécialisées dans la fermentation des glucides. Toutefois, de faibles quantités d'oxygène peuvent être introduites par :

- **L'alimentation et l'eau** ingérées.
- **La diffusion depuis le sang** à travers la paroi ruminale (Marounek et al., 1982).

Dans des conditions normales, le potentiel d'oxydo-réduction (Eh) du rumen est négatif, variant entre -150 et -250 mV (Barry et al., 1977 ; Broberg, 1958 ; Marden et al., 2005). Après un repas, l'Eh augmente brièvement, puis redescend à mesure que l'activité microbienne consomme l'oxygène résiduel.

Certaines bactéries anaérobies facultatives, comme *Selenomonas ruminantium*, jouent un rôle clé dans l'élimination de l'oxygène et contribuent à maintenir un environnement strictement réducteur (Dehority, 2003 ; Rémond et al., 1995). Le potentiel redox est souvent corrélé négativement au pH, bien que cette relation ne soit pas toujours significative (Julien et al., 2010).

d) Humidité et pression osmotique

Le rumen contient une proportion élevée d'eau ($\approx 85\%$), mais cette teneur varie en fonction de plusieurs facteurs :

- **L'apport en eau** par l'abreuvement et la salivation.
- **La nature des aliments** (les fourrages frais augmentent l'humidité, alors que les concentrés secs la réduisent).

La pression osmotique du liquide ruminal est généralement proche ou légèrement supérieure à celle du sang, favorisant les échanges d'eau et de nutriments à travers la paroi ruminale. Selon Rémond et al. (1995), elle est en moyenne de 250 mOsm/L avant ingestion et peut atteindre 350 à 400 mOsm/L dans les 30 à 90 minutes après un repas.

Cette augmentation est principalement due à :

- La dissolution des minéraux des aliments.
- **La production d'AGV** par fermentation microbienne (Bennink et al., 1978 ; Focant, 1986).

Une pression osmotique trop élevée peut altérer l'absorption des AGV et provoquer des perturbations digestives.

II.2. Biotransformations des constituants alimentaires dans le rumen

II.2.1. Métabolisme des glucides : hydrolyse, fermentation et production d'AGV

Les glucides alimentaires des ruminants sont classés en glucides pariétaux (cellulose, hémicellulose, pectines) et glucides non pariétaux (amidon et sucres solubles), comme l'illustre la figure 4. Leur dégradation repose sur l'action de populations microbiennes spécialisées dans le rumen, comme représenté à la figure 5. Les bactéries cellulolytiques hydrolysent la cellulose et l'hémicellulose, alors que les bactéries amylolytiques dégradent l'amidon (Saha et Pathak, 2021).

La vitesse et l'intensité de la fermentation varient selon la source de glucides. L'amidon des céréales comme le blé et l'orge est fermenté rapidement, tandis que celui du maïs est plus résistant à la digestion en raison de sa structure cristalline plus complexe (McDonald et al., 2022). De plus, la lignine, composant majeur des parois végétales, limite significativement la digestibilité des glucides pariétaux en réduisant l'accessibilité aux enzymes microbiennes (Yu et al., 2023).

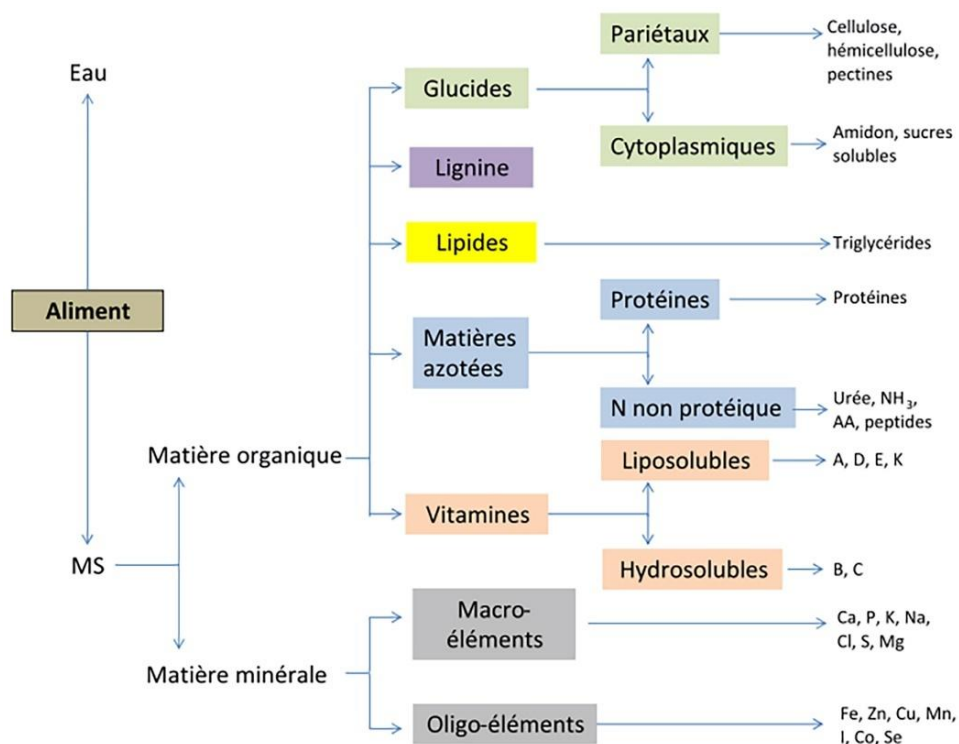


Figure 4. Composition des aliments (Cuvelier et al., 2021).

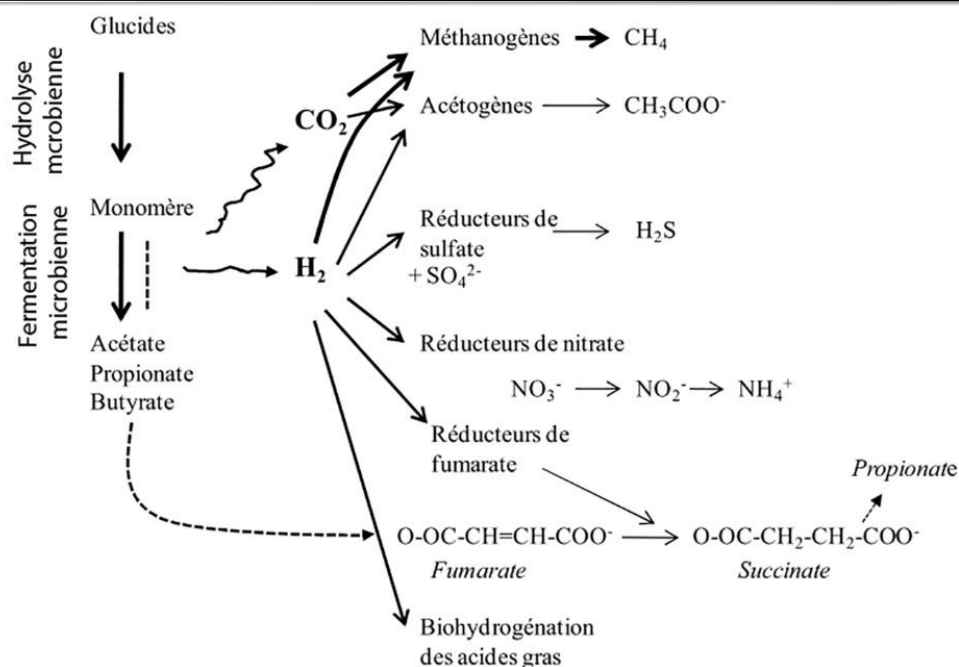


Figure 5. Schéma des processus de fermentation des glucides dans le rumen et des voies métaboliques d'utilisation de l'hydrogène (Morgavi et al., 2010).

➤ Synthèse et conversion des acides gras volatils

La fermentation microbienne des glucides conduit principalement à la production d'acides gras volatils (AGV), comme le montre la figure 6. Les principaux AGV produits sont l'acide acétique (C2:0), l'acide propionique (C3:0) et l'acide butyrique (C4:0). Ces métabolites constituent une source d'énergie essentielle pour le ruminant, couvrant une large part de ses besoins énergétiques (McDonald et al., 2022).

Le profil des AGV produits dépend de la ration alimentaire :

- Un régime riche en fibres favorise une production majoritaire d'acide acétique (~70 %), avec une moindre proportion d'acide propionique (~20 %) et d'acide butyrique (~10 %) (Cuvelier et al., 2021).
- À l'inverse, une alimentation riche en amidon augmente la production d'acide propionique (40 %) et réduit celle de l'acide acétique (40 %) (Hurdebise et al., 2023).

L'acide propionique est un précurseur essentiel de la néoglucogenèse hépatique, permettant la synthèse de glucose indispensable aux besoins énergétiques du ruminant. De son côté, l'acide acétique est utilisé directement comme substrat énergétique et contribue à la lipogenèse, jouant ainsi un rôle clé dans la synthèse des acides gras du lait chez la vache laitière (Saha et Pathak, 2021).

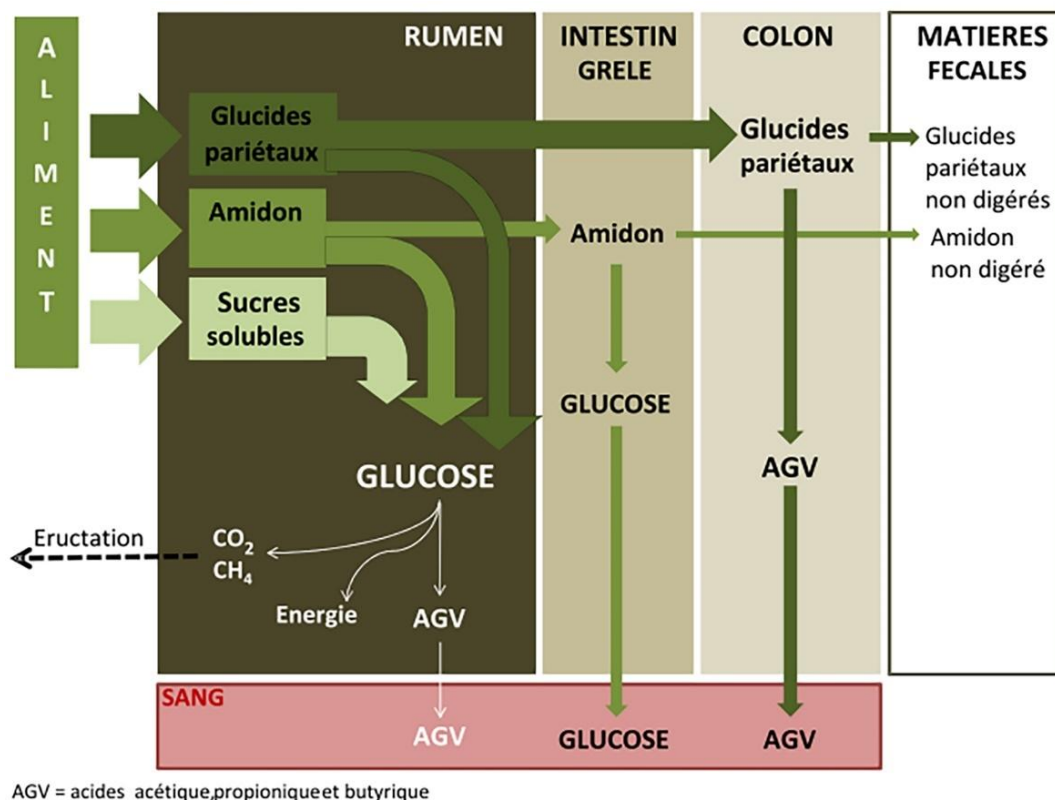


Figure 6. Schéma de la digestion des glucides chez le ruminant (Cuvelier et al., 2021).

II.2.2. Dégénération et synthèse des protéines dans le rumen

Les protéines alimentaires subissent une transformation complexe dans le rumen, impliquant une hydrolyse enzymatique suivie d'une réutilisation des produits issus de cette dégradation par les microorganismes. Ce processus permet la production de protéines microbiennes, qui constituent une source essentielle d'acides aminés pour l'animal (McDonald et al., 2021). Les protéines microbiennes assurent environ 60 à 70 % des besoins protéiques des ruminants (Demeyer et Fievez, 2000).

➤ Hydrolyse des protéines alimentaires

La digestion des protéines débute par une hydrolyse enzymatique réalisée par la flore microbienne ruminale. Les bactéries protéolytiques dégradent les protéines en peptides et en acides aminés libres, qui sont ensuite utilisés par d'autres bactéries fermentaires ou absorbés sous forme d'ammoniac (NH_3) (Broderick et al., 1988). La vitesse d'hydrolyse des protéines alimentaires dépend de leurs caractéristiques physico-chimiques, telles que leur solubilité et leur structure primaire, secondaire et tertiaire (Jouany et al., 1995). De plus, les traitements technologiques, comme le tannage (Zelter et al., 1970) ou les traitements thermiques (Colonna et al., 1995), peuvent modifier leur vitesse d'hydrolyse.

L'activité protéolytique dans le rumen varie également en fonction de la densité de la population microbienne et de la nature des protéines consommées. Une partie des protéines alimentaires résiste à la dégradation ruminale et passe directement dans la caillette, où elles subissent une digestion enzymatique, formant les protéines dites "by-pass" (figure 7).

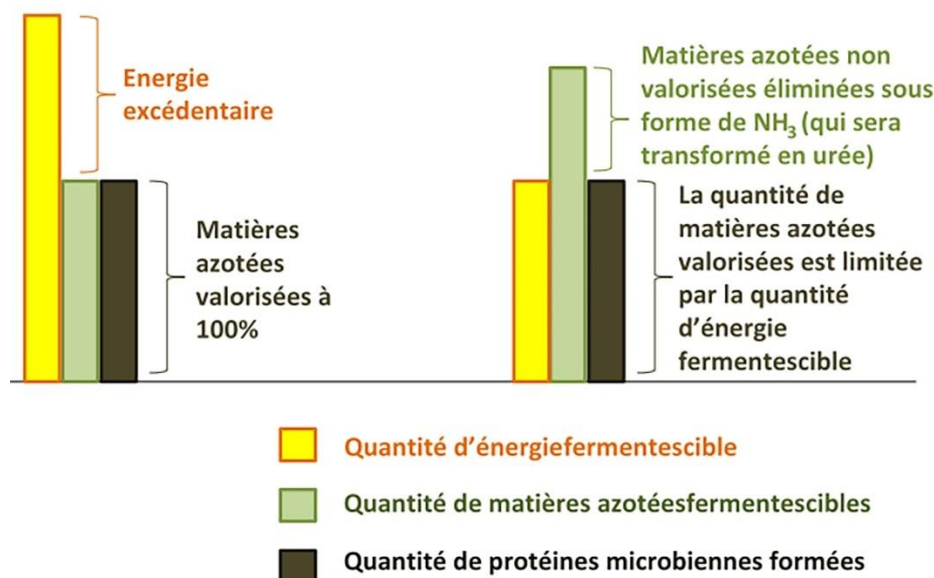


Figure 7. Quantités de protéines microbiennes formées dans le rumen selon la quantité d'énergie et de matières azotées fermentescibles (Cuvelier et al., 2021).

➤ Synthèse microbienne et implications métaboliques

La synthèse des protéines microbiennes est un processus clé dans le métabolisme azoté des ruminants. Elle repose sur l'incorporation de NH₃ et de chaînes carbonées, ainsi que sur l'utilisation d'acides aminés issus de la protéolyse, bien que cette voie soit minoritaire (Sauvant et Van Milgen, 1995). L'existence des compartiments "peptides" et "acides aminés" peut engendrer un délai de 8 à 9 heures entre la dégradation ruminale d'une protéine et la synthèse microbienne qui en résulte.

La quantité de protéines microbiennes formées dépend principalement de l'équilibre entre l'azote disponible et l'énergie fermentescible. Lorsque l'énergie est excédentaire, une partie des matières azotées est éliminée sous forme d'ammoniac, qui sera transformé en urée au niveau du foie avant d'être excrété par les reins ou recyclé via la salive (Newbold et Rust, 1992).

➤ Conséquences métaboliques

L'urée produite dans le foie à partir du NH₃ ruminal peut être recyclée par la salive ou à travers la paroi du rumen (figure 8), permettant une meilleure utilisation de l'azote dans les régimes pauvres en protéines dégradables. Cependant, en cas d'apports excessifs d'azote dégradable,

l'urée est éliminée par les urines ou le lait, ce qui peut affecter la fertilité et la qualité du lait (Sauvant et Milgen, 1995). Une relation linéaire a été établie entre le NH_3 ruminal et l'urée du lait ou du sang, offrant ainsi un indicateur de l'équilibre énergie/azote de la ration (Owens et Bergen, 1983).

Ainsi, une gestion équilibrée des apports en azote et en énergie est essentielle pour maximiser la synthèse des protéines microbiennes et minimiser les pertes azotées. Cela permet d'améliorer l'efficacité alimentaire et de limiter l'impact environnemental des rejets azotés.

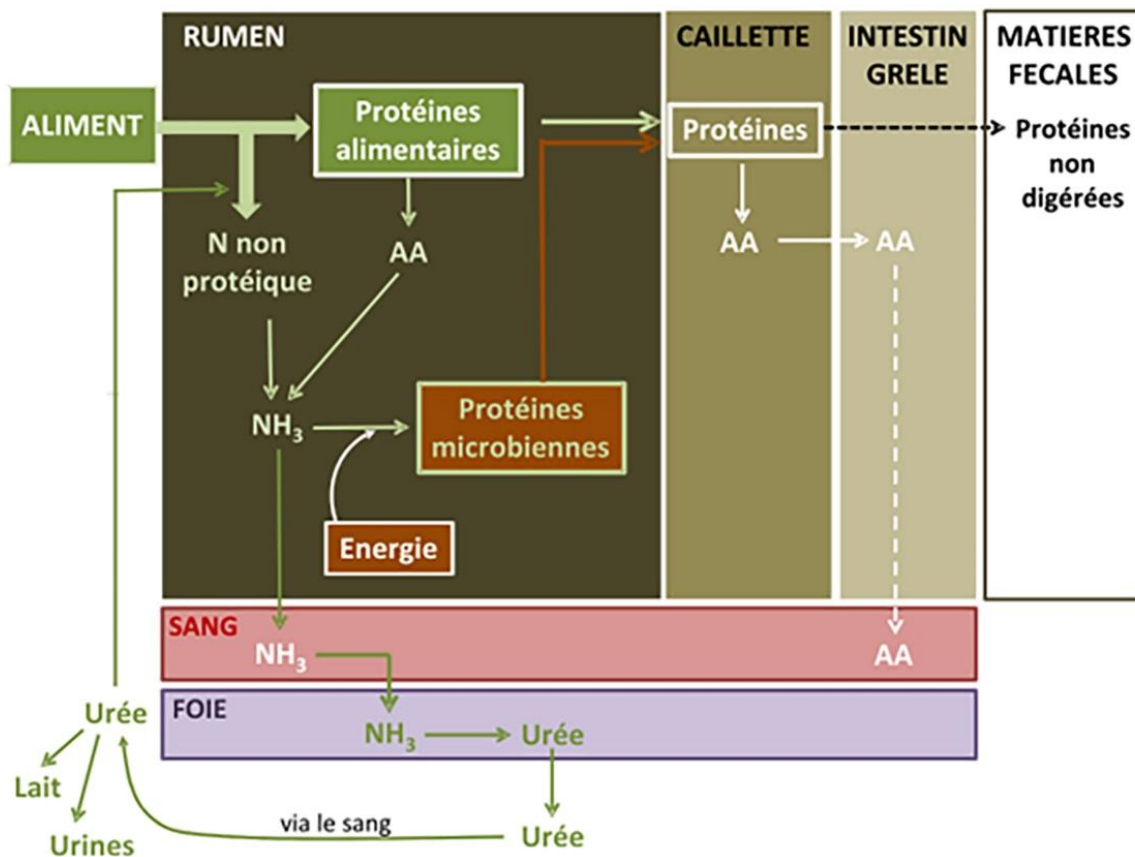


Figure 8. Schéma de la digestion des matières azotées chez le ruminant (Cuvelier et al., 2021).

II.2.3. Métabolisme des lipides : Biohydrogénation et transformations enzymatiques

Les lipides alimentaires subissent une série de transformations dans le rumen avant d'être absorbés sous forme d'acides gras. Deux processus majeurs caractérisent le métabolisme des lipides chez les ruminants : La biohydrogénation des acides gras insaturés et les transformations enzymatiques microbiennes.

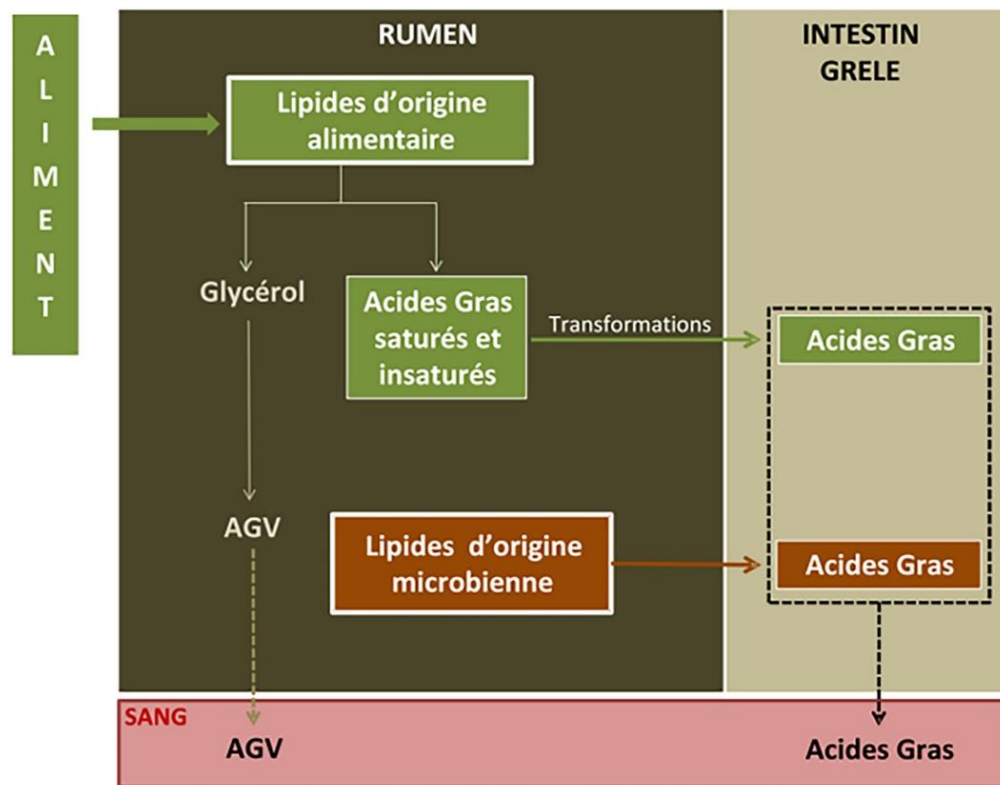


Figure 9. Schéma de la digestion des lipides chez le ruminant (Cuvelier et al., 2021).

➤ Dégradation des lipides et formation d'acides gras saturés

Les lipides de la ration des ruminants sont principalement constitués de galactolipides, phospholipides et triglycérides, selon la source alimentaire (fourrages ou concentrés) (Millen et al., 2016). Dès leur arrivée dans le rumen, ces lipides sont rapidement hydrolysés par les bactéries ruminales en acides gras libres et glycérol (Jenkins, 1993).

La lipolyse est majoritairement réalisée par des bactéries spécialisées telles que *Anaerovibrio lipolytica*, qui libèrent les acides gras libres de leur structure complexe (Lourenço et al., 2010). Cependant, ces acides gras libres, en particulier les acides gras insaturés, subissent ensuite un processus de biohydrogénation sous l'action de bactéries comme *Butyrivibrio fibrisolvens* (Harfoot et Hazlewood, 1997).

❖ Biohydrogénation des acides gras insaturés :

- Isomérisation des doubles liaisons cis en trans (Bauman et al., 1999).
- Saturation progressive des doubles liaisons pour former des acides gras saturés (ex. acide stéarique C18 :0) (Baumgard et al., 2000). L'hydrogénation réduit fortement la présence des acides gras polyinsaturés (AGPI), ce qui impacte la qualité lipidique des produits animaux (Shingfield et Griinari, 2007).

La figure 9 illustre bien ce processus en montrant la transformation des acides gras alimentaires en acides gras saturés et insaturés dans le rumen avant leur absorption intestinale.

➤ **Impact sur la composition des produits animaux**

L'intensité de la biohydrogénation ruminale a un impact direct sur la composition lipidique des produits animaux, notamment :

- Lait : forte présence d'acides gras saturés, avec une proportion réduite d'acides gras insaturés (Palmquist et Jenkins, 1980).
- Viande : composition en lipides plus saturée que chez les monogastriques en raison de la biohydrogénation (Demeyer et Doreau, 1999).
- Présence de CLA (Conjugated Linoleic Acid) : certains isomères intermédiaires de la biohydrogénation, comme le trans-11 C18 :1, peuvent être convertis en acide linoléique conjugué (CLA), ayant des propriétés bénéfiques pour la santé (Pariza et al., 2001).

L'intensité de la biohydrogénation dépend de plusieurs facteurs :

- **Nature de la ration** : les régimes riches en amidon favorisent la production de trans-10 C18 :1, modifiant la composition lipidique des produits animaux (Bauman et Griinari, 2001).
- **Microflore ruminale** : certaines bactéries influencent la voie de biohydrogénation, conduisant à des différences entre animaux nourris à l'herbe et ceux en élevage intensif (Glasser et al., 2008).

La biohydrogénation est un mécanisme clé du métabolisme lipidique des ruminants. Il limite l'accumulation d'acides gras insaturés toxiques pour la microflore ruminale tout en influençant la qualité des lipides présents dans la viande et le lait (Jenkins et al., 2008). La figure 9 illustre bien la transformation des lipides alimentaires en acides gras absorbables, mettant en évidence le rôle central du rumen dans ces modifications.

III. Les huiles essentielles en alimentation des petits ruminants

L'alimentation des ruminants repose sur des ressources végétales riches en fibres, mais leur digestion nécessite une fermentation microbienne dans le rumen (Giannenas et al., 2013). Pour améliorer la performance et la santé des ruminants, divers additifs alimentaires sont utilisés, y compris les huiles essentielles, qui ont récemment suscité un grand intérêt en raison de leurs propriétés antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Calsamiglia et al., 2007).

Les huiles essentielles ont démontré leur capacité à moduler la fermentation ruminale en réduisant la production de méthane et en optimisant l'utilisation des nutriments. Elles sont donc perçues comme une alternative naturelle aux antibiotiques, dont l'usage est de plus en plus limité en raison de leurs impacts sur la santé publique (Benchaar et al., 2008).

III.1. Catégories et rôles des additifs alimentaires en nutrition animale

Selon la réglementation européenne (EC 1831/2003), les additifs alimentaires se classent en plusieurs catégories (European Commission, 2003) :

- ❖ **Technologiques** : Utilisés pour améliorer la conservation et la stabilité des aliments, comme les antioxydants et les conservateurs (Fuller, 2004).
- ❖ **Sensoriels** : Influencent l'appétence et les propriétés organoleptiques des aliments, comme les arômes et colorants (Giannenas et al., 2013).
- ❖ **Zootechniques** : Optimisent la performance et l'efficacité alimentaire par l'ajout de probiotiques et d'enzymes (Steiner, 2010).
- ❖ **Nutritionnels** : Apportent des nutriments essentiels, tels que les vitamines et oligo éléments (Kyriazakis, 2023).
- ❖ **Coccidiostatiques et histomonostatiques** : Réduisent l'impact des parasites intestinaux (Giannenas et al., 2013).

III.2. Additifs alimentaires spécifiques aux ruminants

➤ Modulateurs de la fermentation ruminale

- ❖ **Ionophores (Monensine, Lasalocide)** : augmentent l'efficacité énergétique et réduisent la production de méthane (Fuller, 2004).
- ❖ **Tannins condensés et hydrolysables** : limitent la dégradation des protéines dans le rumen (Giannenas et al., 2013).
- ❖ **Huiles essentielles (Origanum vulgare, Thymus vulgaris)** : influencent la population microbienne et réduisent les pathogènes (Giannenas et al., 2013).

➤ **Additifs améliorant la digestion**

- ❖ **Levures vivantes et probiotiques (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus*)** : favorisent la digestion des fibres et stabilisent le microbiote (Rey, 2012).
- ❖ **Enzymes spécifiques (amylases, cellulases)** : optimisent l'utilisation des glucides et fibres complexes (Fuller, 2004).

➤ **Réduction des Émissions de Méthane**

- ❖ **Saponines** : réduisent le nombre de protozoaires responsables de la production de méthane (Giannenas et al., 2013).
- ❖ **Extraits de plantes (ail, cannelle, clou de girofle)** : inhibent les bactéries méthanogènes (Steiner, 2010).

III.3. Définition et classification des huiles essentielles

➤ **Définition des huiles essentielles**

Les huiles essentielles (HE) sont des extraits concentrés de plantes aromatiques obtenus par distillation à la vapeur, extraction mécanique ou distillation sèche (European pharmacopoeia, 2008). Elles sont composées d'un mélange complexe de molécules bioactives, principalement des terpènes et des phénylpropanoïdes, qui leur confèrent des propriétés biologiques variées (Bakkali et al., 2008).

➤ **Classification Chimique**

Les principaux groupes chimiques des huiles essentielles sont :

- ❖ **Les terpènes** : monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), triterpènes (C30).
- ❖ **Les phénylpropanoïdes** : dérivés de la phénylalanine via la voie des shikimates (Sangwan et al., 2001).
- ❖ **Les composés oxygénés** : alcools, aldéhydes, cétones, esters, éthers.

Les huiles riches en phénols (exemple : thymol, carvacrol, eugénol) sont particulièrement efficaces contre les bactéries et les protozoaires du rumen (Benchaar et al., 2008).

III.4. Effets des huiles essentielles sur la fermentation ruminale

➤ **Effet sur les bactéries productrices de méthane**

- ❖ **Thymol et carvacrol** : Réduction de 25 % du méthane produit *in vitro* (Evans et Martin, 2000).

- ❖ **Eugénol et cinnamaldéhyde** : Inhibition de la production de CH₄ à 300 mg/L *in vitro* (Busquet et al., 2006).
- ❖ **Huiles essentielles d'ail et de cannelle** : réduction de 69 à 74 % de la méthanogenèse *in vitro* (Busquet et al., 2005).
- **Effet sur la production d'acides gras volatils (AGV)**
 - ❖ Augmentation des AGV totaux avec un mélange de thymol, eugénol et cinnamaldéhyde (200 à 800 mg/L) (Benchaar et al., 2007)
 - ❖ Diminution des AGV à forte dose (>300 mg/L) (Busquet et al., 2006).
- **Effet sur la dégradation des protéines**
 - ❖ Réduction de 28 % de la désamination des acides aminés avec un mélange de thymol et eugénol (Newbold et al., 2004).
 - ❖ Diminution de la concentration en NH₃-N avec l'huile d'ail (Ferme et al., 2004)

IV. Situation actuelle de l'*Opuntia ficus indica* en Algérie

IV.1. Le figuier de Barbarie

Le figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*), connu sous différentes appellations en Algérie (*El Hindi*, *Karmous Enssara*, *Tchimbo*, *El Karmouss*), est une plante succulente et xérophyte, capable de survivre dans des conditions climatiques et édaphiques extrêmes. Cette résistance exceptionnelle s'explique par sa capacité à stocker de grandes quantités d'eau et à limiter ses pertes hydriques grâce à un métabolisme acide des crassulacées (CAM) (Inglese et al., 2018). Cette plante est donc particulièrement bien adaptée aux environnements arides et semi-arides de l'Algérie, où les précipitations sont faibles et les températures élevées (Nefzaoui, 2021).

IV.2. Importance croissante du figuier de Barbarie en Algérie

En Algérie, contrairement au Maroc et à la Tunisie où il est largement cultivé, le figuier de Barbarie est longtemps resté marginalisé. Historiquement utilisé pour délimiter les parcelles agricoles et former des haies naturelles, il a surtout été exploité pour ses fruits frais. Cependant, depuis les années 1980, la recherche scientifique et les initiatives économiques se sont multipliées pour valoriser cette plante sous divers aspects agronomiques, économiques, pharmaceutiques, nutritionnels et environnementaux (Amrouni Sais, 2019).

L'importance de cette culture a été reconnue à partir de 1994 avec l'adoption d'un programme de réhabilitation des parcours steppiques par le Haut Commissariat au Développement de la Steppe (HCDS). Ce programme a favorisé l'implantation de l'*Opuntia* dans plusieurs wilayas algériennes, avec des objectifs bien définis (Nefzaoui, 2021) :

- Réhabilitation des terres steppiques dégradées ;
- Production fourragère, notamment en constituant des réserves alimentaires pour les années de sécheresse ;
- Lutte contre l'érosion des sols grâce aux racines stabilisatrices de la plante ;
- Amélioration des revenus agricoles par l'exploitation des fruits et des sous-produits ;
- Préservation de la biodiversité en fournissant un habitat à certaines espèces animales et en favorisant la pollinisation par les abeilles (Inglese et al., 2018).

Grâce à ces efforts, la superficie plantée en figuiers de Barbarie a atteint environ 60 000 hectares en 2015, répartis sur 10 wilayas et 106 communes impliquées dans la restauration des zones steppiques (Amrouni Sais, 2019).

IV.3. Périmètres de cultivation en Algérie

L'Algérie possède d'importantes superficies favorables à la culture de l'*Opuntia*, notamment dans les zones arides et semi-arides. La répartition des plantations réalisées par le HCDS montre que les wilayas présentées dans le tableau 7 sont particulièrement adaptées à cette culture (Amrouni Sais, 2019) :

Tableau 7 : Répartition des plantations de figuier de barbarie réalisées par le HCDS (Amrouni Sais, 2019).

Wilaya	Nombre de communes	Nombre de périmètres	Superficie (Ha)
M'sila	20	31	16139
B.B.A	6	21	9336
BOUIRA	5	12	3067
SETIF	3	4	1085
BISKRA	5	7	1672
Tébessa	24	6425	15882
Khenchela	18	1277	4306
O.E. Bouaghi	10	609	766
Souk Ahras	8	1994	6534
Batna	7	8	400
TOTAL	106	10388	59187

En 2019, la superficie totale cultivée en *Opuntia* était de 34 925 hectares, avec un potentiel d'expansion atteignant 100 000 hectares grâce aux nouveaux projets agricoles et aux programmes de développement (Nefzaoui, 2021).

IV.4. Transformation et valorisation des produits de l'*Opuntia ficus indica*

L'*Opuntia* n'est pas seulement cultivé pour ses fruits, mais également pour ses nombreuses applications agro-industrielles. Sa valorisation permet de diversifier les revenus des agriculteurs et de créer une chaîne de valeur autour de la plante (Inglese et al., 2018).

➤ Produits dérivés de l'*Opuntia ficus indica* :

L'*Opuntia ficus indica*, plus connue sous le nom de figuier de Barbarie, offre une large gamme de produits dérivés valorisés dans les secteurs alimentaire, cosmétique et agricole. Ces transformations permettent d'exploiter pleinement les différentes parties du fruit et de la plante :

- Fruits frais, consommés localement ou exportés.

- Huile de graines de figue de Barbarie, très prisée pour ses propriétés cosmétiques et anti-âge.
- Vinaigre et jus, fabriqués à partir de la pulpe du fruit.
- Confiture et marmelade, en valorisant la teneur en sucre du fruit.
- Farine de cladodes (raquettes), utilisée dans l'alimentation animale.
- Extrait de colorant naturel, obtenu à partir de la peau des fruits (Amrouni Sais, 2019).

IV.5. Impact économique de la filière *Opuntia ficus-indica* en Algérie

L'exploitation du figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*) en Algérie représente un secteur économique stratégique en raison de son rôle dans la lutte contre la désertification, la sécurité alimentaire et la valorisation des zones arides. Cette filière implique divers acteurs, dont les agriculteurs, les transformateurs et les exportateurs, qui contribuent à la création d'emplois et au développement rural.

IV.5.1. Acteurs et dynamisme de la filière

Actuellement, douze opérateurs sont recensés en Algérie dans le domaine de la transformation et de la valorisation des produits dérivés de l'*Opuntia ficus-indica*, comme le montre la carte présentée à la figure 10.

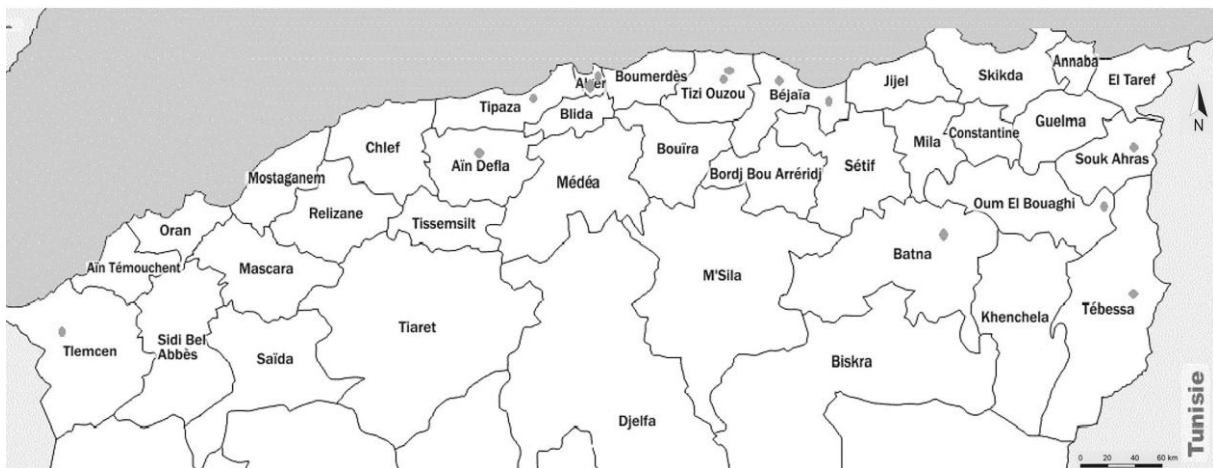


Figure 10. Localisation des différents opérateurs de la filière en Algérie
(Amrouni Sais, 2019).

Ces acteurs jouent un rôle fondamental dans la structuration de la filière, notamment à travers :

- La production et la transformation des fruits et cladodes, visant l'alimentation humaine et animale.
- La fabrication d'huile de pépins, un produit à haute valeur ajoutée recherché sur le marché international.

- La production de sous-produits agroalimentaires comme le vinaigre, les confitures, les jus, et les farines de raquettes.
- L'exploitation des sous-produits pour l'alimentation animale, notamment à travers les cladodes séchés et les tourteaux issus du pressage des graines.

Les chiffres issus des enquêtes de terrain montrent une dynamique en pleine expansion, bien que certaines productions restent encore faibles (Amrouni Sais, 2019) :

- Production annuelle d'huile de pépins de figue de Barbarie : ≈ 2500 litres.
- Quantité de fruits transformés : ≈ 2500 tonnes.
- Graine triturée pour l'extraction d'huile : $\approx 75\,000$ kg.
- Tourteaux engendrés par la transformation : $\approx 55\,000$ kg.
- Production de vinaigre de figue de Barbarie : $\approx 315\,000$ litres.
- Quantités de confiture, farine de raquettes et jus de figue de Barbarie : encore insignifiantes.

La valorisation des sous-produits issus de la transformation des fruits constitue une piste stratégique pour l'amélioration de la rentabilité de la filière.

IV.5.2. Valorisation multifilière de l'*Opuntia ficus-indica* : alimentation, transformation et sous-produits

La figure 11 met en évidence la polyvalence de l'*Opuntia ficus-indica* à travers ses multiples voies de valorisation. Les cladodes, les fruits, les pépins et les fleurs sont transformés en divers produits alimentaires, fourragers et industriels, soulignant ainsi le potentiel économique et écologique de cette plante (Inglese et al., 2018 ; Kadda et al., 2023 ; Nefzaoui, 2021).

➤ Potentiel nutritionnel des sous-produits de l'*Opuntia ficus-indica*

Les cladodes sont une source d'énergie et d'hydratation. Une plantation bien gérée peut produire entre 2000 et 9000 kg de matière sèche (MS) par hectare et par an, soit l'équivalent de 1400 à 6000 unités fourragères (UF) par hectare (Amrouni Sais, 2019).

Les tourteaux issus du pressage des graines constituent une source de protéines pour les ruminants et les volailles (Amrouni Sais, 2019 ; Borchani et al., 2021 ; Kadda et al., 2023 ; Nefzaoui, 2021).

Selon le HCDS, un ovin adulte peut consommer jusqu'à 5 kg/jour de cladodes sans effet négatif, tandis que les bovins laitiers peuvent ingérer jusqu'à 35 kg/jour de cactus haché (Amrouni Sais, 2019).

L'intégration des sous-produits de l'*Opuntia* dans l'alimentation animale permet donc de réduire les coûts alimentaires et d'assurer une meilleure résilience face aux périodes de sécheresse.

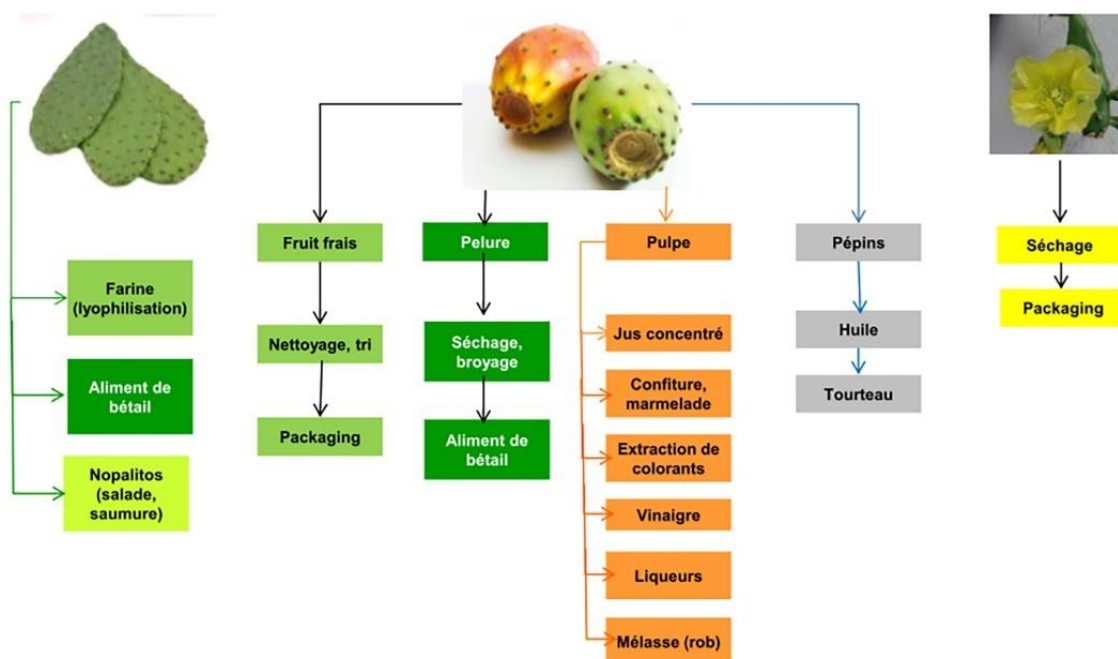


Figure 11. Diagramme des différentes options de valorisation de l'*Opuntia ficus-indica* de l'unité pilote (Nefzaoui, 2021).

IV.6. Stratégies pour le développement de la filière

IV.6.1. Expansion des superficies cultivées

Le développement de la filière repose sur l'expansion des plantations. L'objectif fixé est d'atteindre 52 000 hectares supplémentaires en cinq ans, afin d'accroître la production et de sécuriser l'approvisionnement en matière première (Nefzaoui, 2021).

IV.6.2. Certification et normalisation des produits

L'amélioration de la qualité et la certification des produits transformés (huile de pépins, farine de cladodes, vinaigre, jus) permettra d'accéder aux marchés internationaux. La traçabilité des produits et l'obtention de labels comme l'agriculture biologique ou le commerce équitable représentent des opportunités pour les exportateurs (Djabou, 2020 ; Nefzaoui, 2021).

IV.6.3. Modernisation et mécanisation de la transformation

L'optimisation des unités de transformation est essentielle pour améliorer la productivité et réduire les pertes. Actuellement, une large part des fruits et sous-produits est sous-exploitée en

raison de méthodes de transformation artisanales. Les recommandations incluent (Djabou, 2020 ; Nefzaoui, 2021) :

- La modernisation des unités de pressage d'huile de pépins.
- L'installation de chaînes de séchage pour la production de tourteaux et de farine de cladodes.
- L'optimisation de l'extraction des colorants et autres composés bioactifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire et cosmétique.

IV.6.4. Développement des marchés d'exportation

L'huile de figue de Barbarie est un produit à haute valeur ajoutée sur le marché international. Son prix varie entre 400 et 1000 euros le litre, faisant de l'Algérie un acteur potentiel dans ce secteur. À cela s'ajoute l'intérêt croissant pour les cosmétiques naturels et biologiques, qui ouvre des débouchés prometteurs pour les exportateurs algériens (Amrouni Sais, 2019 ; Nefzaoui, 2021).

Deuxième partie :

Etude expérimentale

Expérimentation I

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel biologique

Les cladodes de deuxième génération d'*Opuntia ficus-indica* inermes ont été récoltés en octobre 2023 dans la région de Sidi Fredj, située dans la wilaya de Souk Ahras, en Algérie (35°59'16"N, 8°15'25"E). Cette zone, appartenant à l'Atlas Tellien, est caractérisée par un climat méditerranéen semi-aride, marqué par des températures contrastées et des précipitations irrégulières.

Les échantillons de tourteaux et d'écorces utilisés dans cette étude ont été fournis par la coopérative agricole NOPALTEC, implantée à Sidi Fredj (35°59'42"N, 8°13'55"E). Fondée en 2013, cette coopérative est spécialisée dans la transformation et la valorisation des produits et sous-produits du figuier de Barbarie, issus principalement des plantations locales de la région de Souk Ahras.

La collecte des matières premières, réalisée en octobre 2023, a permis d'assurer la qualité et la traçabilité des échantillons avant leur transformation en tourteaux de graines et en écorces, en vue des analyses ultérieures.

I.2. Méthodes

I.2.1. Extraction de l'huile végétale par soxhlet

Chaque échantillon, préalablement séché au four et broyé finement, a été pesé à raison de 10 g, puis placé dans une cartouche d'extraction insérée dans le dispositif Soxhlet. Les ballons inférieurs ont été remplis de 100 ml de *n*-hexane afin de procéder à l'extraction.

L'extraction a été effectuée à 70 °C pendant 8 heures. Par la suite, le solvant a été éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif Rotavapor R-210 (BOCHI), maintenu à 40 °C et couplé à une pompe à vide GreenVac (Kouame *et al.*, 2015 ; Kozłowska *et al.*, 2016 ; Saad *et al.*, 2023).

Les matières grasses extraites ont été recueillies après trois répétitions pour chaque échantillon, puis stockées dans des flacons hermétiques et conservées à -20 °C en vue d'analyses ultérieures.

I.2.2. Estérification méthanolique de l'huile végétale sous irradiation ultrasonique

Le développement de cette méthode s'appuie sur les directives du Règlement (CE) n° 796/2002 du 6 mai 2002 (European Commission, 2002), qui définit la préparation des esters méthyliques d'acides gras par transestérification à froid, en utilisant du méthanol et de l'hydroxyde de

potassium (KOH) comme catalyseur. L'approche expérimentale suit principalement le point 5 de la norme ISO 5509 : 2000 (ISO, 2000) et le point 5 de la méthode IUPAC 2.301 (IUPAC, 1992), avec des adaptations spécifiques aux échantillons analysés.

L'expérimentation a été structurée en deux étapes principales : (1) la préparation des solutions et (2) la procédure analytique. La première solution (S1) a été préparée en dissolvant 11,2 g de KOH dans 100 ml de méthanol, afin d'obtenir une solution méthanolique 2 N. La deuxième solution (S2) a été élaborée en dissolvant 1 g d'huile végétale extraite par Soxhlet avec du *n*-hexane dans 10 ml d'hexane de qualité HPLC, en remplacement de l'heptane généralement utilisé en chromatographie.

Dans un premier temps, 0,5 ml de la solution méthanolique 2 N (S1) a été ajouté à la solution d'huile (S2). Le mélange a été agité manuellement pendant 20 secondes afin d'assurer un contact homogène entre les réactifs. Ensuite, il a été soumis à une irradiation ultrasonique pendant 30 minutes à l'aide d'un bain ultrasonique Bandelin Sonorex Digiplus, une technique permettant de réduire significativement le temps de réaction et d'améliorer le rendement en esters méthyliques (Kumar *et al.*, 2010).

Après l'estérification, le mélange réactionnel a été filtré à l'aide d'un filtre seringue de 0,45 µm, puis le filtrat obtenu a été transféré dans des fioles compatibles avec l'injecteur GC-MS en vue de l'analyse chromatographique. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) a été réalisée immédiatement après la préparation du mélange, afin d'éviter toute dégradation des esters méthyliques obtenus.

I.2.3. Méthode de Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS)

L'analyse des esters méthyliques d'acides gras a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), à l'aide d'un Shimadzu GCMS-QP2020 équipé d'un échantillonneur automatique AOC-20i pour l'injection des échantillons.

La séparation des composés a été effectuée sur une colonne capillaire en silice fondue de type Rxi-5Sil MS GC, caractérisée par une longueur de 30 m, un diamètre interne de 0,25 mm et une taille de particules de 0,25 µm. La phase stationnaire utilisée était un Crossbond 1,4-bis(diméthylsiloxyl)phénylène diméthylpolysiloxane, une phase faiblement polaire, hautement inerte vis-à-vis des composés actifs et résistante à des températures comprises entre -60 °C et 350 °C, similaire chimiquement au (5 %-phényl)-méthylpolysiloxane. Le gaz porteur utilisé était l'hélium pur N6.0, avec un débit constant de 1,63 ml/min. L'échantillon de 1 µL a été

injecté directement dans l'instrument, avec une température de l'injecteur maintenue à 280 °C tout au long de l'analyse chromatographique.

Le programme de température du four a été défini comme suit : une température initiale de 60 °C maintenue pendant 5 minutes, suivie d'une montée en température de 30 °C/min jusqu'à 300 °C, avec un maintien à 300 °C pendant 8 minutes.

Les paramètres du détecteur de masse ont été configurés avec une température de la source d'ions de 200 °C et une température de l'interface de 300 °C. Le temps de coupure du solvant a été fixé à 2 minutes, avec une durée de balayage (scan time) de 0,3 seconde. La plage de balayage en m/z s'étendait de 35.00 à 500.00, avec un début du scan à 3 min et une fin à 19 min.

Les composés identifiés par GC-MS ont été classés selon leurs voies métaboliques, superclasses chimiques et classes spécifiques à l'aide de NPClassifier, un outil basé sur l'apprentissage profond permettant une classification précise des métabolites en fonction de leur origine biosynthétique et de leur structure chimique.

I.2.4. Analyse Statistique

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R. L'évaluation combinée des tests de normalité (Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov) et des visualisations graphiques (Q-Q plots et histogrammes) a révélé que les données ne suivaient pas une distribution normale, justifiant ainsi l'utilisation de tests non paramétriques pour les analyses ultérieures (Ghasemi et Zahediasl, 2012 ; Razali et Wah, 2011).

Un diagramme de Sankey a été utilisé pour représenter la structure hiérarchique des composés identifiés par GC-MS dans les cladodes, écorces et tourteaux de graines, selon leur voie de biosynthèse (pathway), leur superclass et leur classe. Cette approche a permis de visualiser la distribution des composés organiques volatils (COV) à l'aide de NPClassifier (Kim et al., 2021).

Pour comparer la composition chimique des trois parties de la plante, nous avons appliqué un test de Kruskal-Wallis, une méthode non paramétrique adaptée aux données à distribution non normale (Kusano et al., 2013 ; MacFarland et Yates, 2016).

La similarité entre les cladodes, écorces et tourteaux a été évaluée selon les trois niveaux de classification métabolique définis par NPClassifier (voie de biosynthèse, superclass et classe) en utilisant les indices de Jaccard et de Bray-Curtis. L'indice de Bray-Curtis a permis de

mesurer la similarité en fonction de l'abondance relative des composés, tandis que l'indice de Jaccard s'est basé sur leur présence ou absence. Les résultats ont été représentés sous forme de cartes thermiques combinées (Petrén et al., 2023 ; Zouaoui et al., 2020).

L'évaluation de la diversité chimique des COV a été réalisée à l'aide des indices de diversité de Shannon et Simpson, qui mesurent respectivement la richesse spécifique et l'uniformité des composés au sein des échantillons. En complément, l'indice de diversité de Hill a été appliqué avec différentes valeurs du paramètre q afin d'analyser plus finement la diversité fonctionnelle observée. Cette diversité fonctionnelle a été explorée aux niveaux de la voie de biosynthèse, de la superclass et de la classe. De plus, la Mean Pairwise Distance (MPD) a été utilisée pour quantifier la dissimilarité fonctionnelle entre les COV, et une analyse NMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling) a été menée pour représenter graphiquement les relations entre les échantillons dans un espace bidimensionnel (Petrén et al., 2023).

Enfin, un réseau moléculaire a été construit à l'aide du package *igraph* afin d'analyser les relations entre les différentes classes chimiques, sur la base des coefficients de corrélation de Spearman (seuil $> 0,7$). L'algorithme Fruchterman-Reingold a été appliqué pour organiser les nœuds, en rapprochant les composés fortement corrélés. La visualisation a été réalisée avec le package *ggraph*, mettant en évidence les composés clés en fonction de leur centralité (Csardi et Nepusz, 2006 ; Cuadros-Inostroza et al., 2016).

II. Résultats et discussion

II.1. Caractérisation des composés organiques volatils (COV)

Selon NPClassifier l'analyse a mis en évidence une diversité importante de composés organiques volatils (COV) dans les différentes parties d'*Opuntia ficus-indica*, notamment les cladodes, les écorces et les tourteaux (tableau 8, annexe 3).

Les résultats obtenus sont cohérents avec ceux de Nounah et al. (2020) et Oumatou et al. (2016), qui ont mis en évidence une grande variabilité des profils volatils selon les parties de la plante. En outre, plusieurs études menées sur les fruits frais et déshydratés d'*Opuntia ficus-indica* ont révélé des compositions volatiles distinctes, soulignant la sensibilité de ces profils aux traitements post-récolte ainsi qu'à la partie végétale analysée (Arvaniti et al., 2019 ; García et al., 2020 ; Iftikhar et al., 2023).

L'importance des acides gras dans les cladodes et tourteaux confirme les travaux de Kozłowska et al. (2016), qui ont démontré que l'hexane reste indispensable pour extraire efficacement les lipides résiduels des sous-produits végétaux. Par ailleurs, la richesse des écorces en terpénoïdes et stéroïdes est en accord avec leur rôle protecteur documenté dans la littérature (Fernandes et al., 2024).

Sur le plan applicatif, la richesse des cladodes et des tourteaux en acides gras leur confère un potentiel intéressant pour la production d'huiles végétales et de composés bioactifs, exploitables notamment dans les industries cosmétique et pharmaceutique. De leur côté, les terpénoïdes et stéroïdes des écorces présentent un fort potentiel pour la formulation de produits pharmaceutiques et nutraceutiques, notamment en raison de leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (El Hassania et al., 2024 ; Scarano et al., 2022).

Les cladodes sont principalement composés d'acides gras (91,06 %), suivis de terpénoïdes (3,89 %) et d'alkaloïdes (4,1 %), comme le montre la figure 12. Parmi ces composés, la forte présence d'esters d'acides gras (80,66 %) et de monoesters de cire (74,44 %) indique une composition essentiellement lipidique.

Les écorces (figure 13) présentent une composition plus équilibrée, combinant 50,65 % d'acides gras et 48,91 % de terpènes, ainsi que 29,91 % de stéroïdes et 10,19 % de triterpénoïdes, révélant une forte concentration en métabolites secondaires bioactifs.

Les tourteaux (figure 14) sont également dominés par les acides gras (85,71 %) et se distinguent par une proportion plus marquée d'hydrocarbures (10,34 %) et d'esters d'acides gras (52,2 %).

Cette répartition chimique suggère des fonctions métaboliques distinctes pour chaque partie du cactus, influençant ainsi leur potentiel de valorisation industrielle.

Les écorces contiennent une proportion élevée de terpénoïdes et de stéroïdes. Selon Belhadj Slimen et al. (2021), ces composés jouent un rôle essentiel dans la régulation du stress oxydatif et de l'activité enzymatique digestive chez les ruminants.

Les résultats obtenus confirment une forte variabilité des composés organiques volatils (COV) entre les différentes parties du cactus, influençant ainsi leur potentiel en alimentation animale. Katoch (2023) souligne l'importance d'évaluer les profils métaboliques des sous-produits végétaux afin d'optimiser leur intégration dans les régimes des petits ruminants.

Les cladodes contiennent également des alcaloïdes, considérés comme des antinutriments en raison de leur capacité à perturber la transmission électrochimique de l'influx nerveux, entraînant ainsi divers dysfonctionnements neurologiques chez les animaux. L'un des effets démontrés des alcaloïdes est leur implication dans l'apparition du limberleg, un trouble caractérisé par une ataxie locomotrice de l'arrière-train chez les ovins et les chèvres (Katoch, 2023 ; Tiwari et Sinha, 2010).

L'analyse par GC-MS et la classification avec NPClassifier confirment que les acides gras sont les composés majoritaires des cladodes et des tourteaux, suggérant ainsi une valeur énergétique élevée (Golbotteh et al., 2024 ; Krusinski et al., 2024).

Cobellis et al. (2016) ont démontré que les lipides issus des aliments végétaux ont un impact direct sur l'efficacité énergétique et la digestibilité chez les petits ruminants.

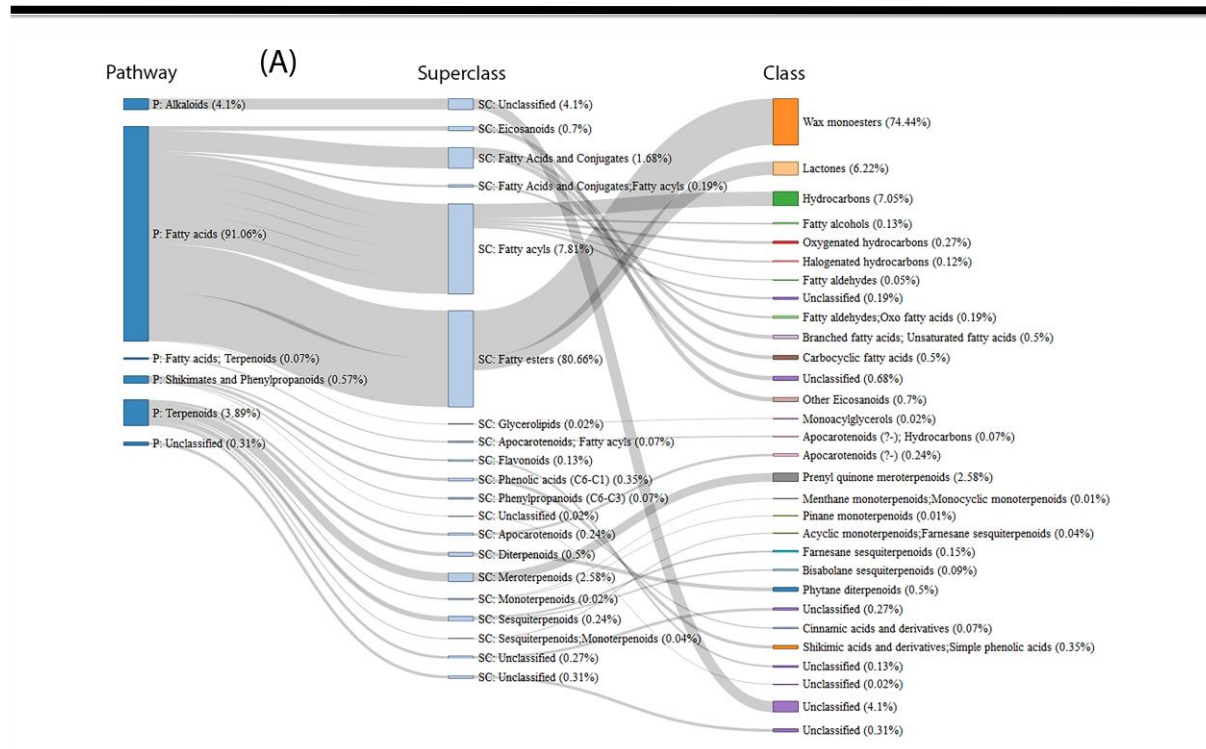


Figure 12. Classification quantitative comparative des composés organiques volatils dans les cladodes d'*Opuntia ficus-indica*. Un diagramme de Sankey illustre la classification hiérarchique des composés organiques volatils (COV) selon leur voie métabolique (P), leur superclasse (SC) et leur classe.

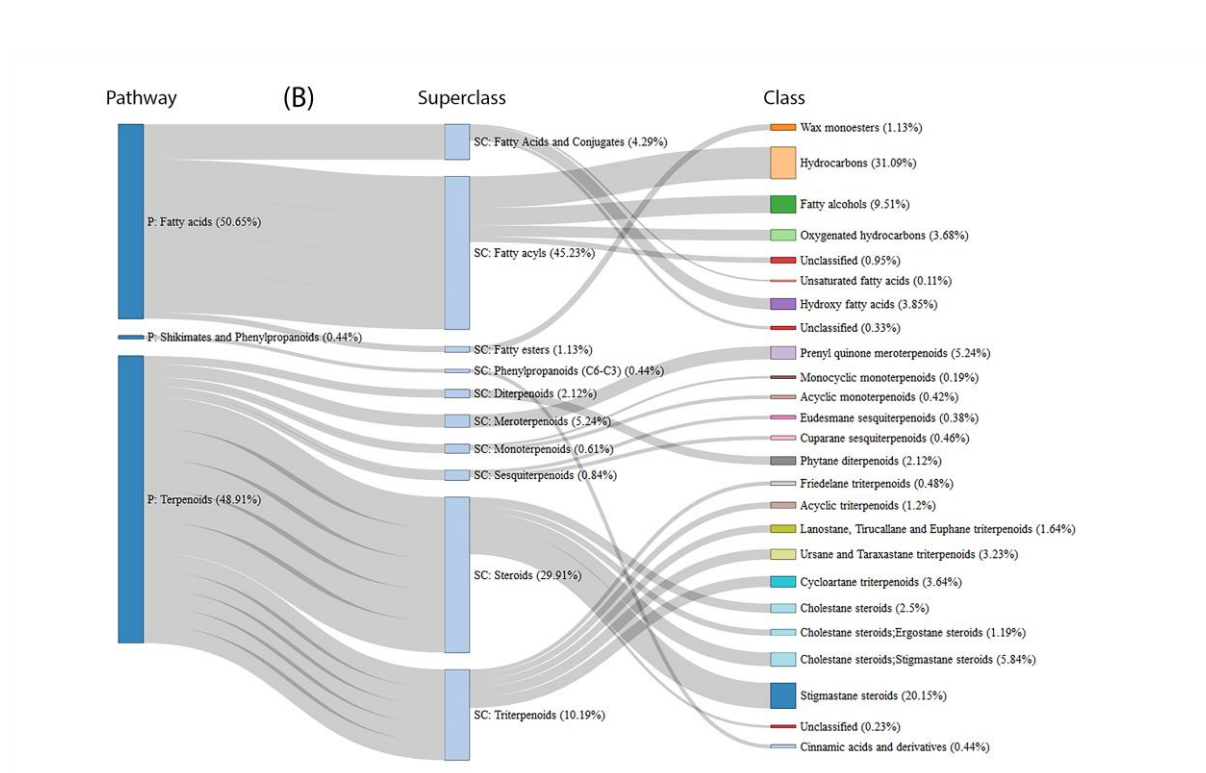


Figure 13. Classification quantitative comparative des composés organiques volatils dans les écorces d'*Opuntia ficus-indica*.

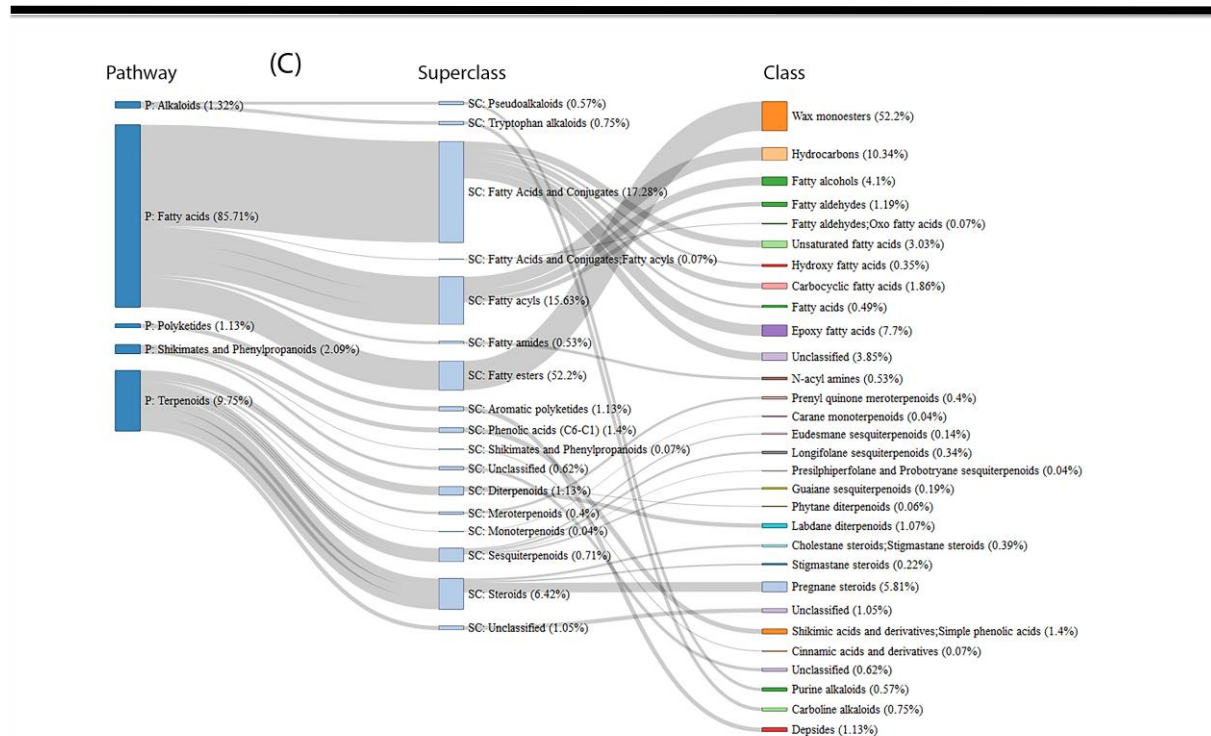


Figure 14. Classification quantitative comparative des composés organiques volatils dans les Tourteaux d'*Opuntia ficus-indica*.

II.2. Variation des composés organiques volatils entre les échantillons

Le tableau 9 présente des résultats significatifs ($p < 0,05$) du test de Kruskal-Wallis, qui compare la composition chimique des différentes parties d'*Opuntia ficus-indica* (cladodes, écorces et tourteaux).

Tableau 9 : Comparaison de la composition chimique des cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica* (test de Kruskal-Wallis).

Niveau	Groupe	Khi-deux (χ^2)	Degrés de	p-valeur
Voie métabolique	Fatty acids	30,34	2	$2,58 \times 10^{-7}$
	Terpenoids	9,1	2	0,011
	Unclassified	7,62	2	0,022
Superclasse	Fatty esters	27,49	2	$1,07 \times 10^{-6}$
	Fatty Acids and	11,61	2	0,003
	Fatty acyls	6,11	2	0,047
	Fatty esters	38,41	2	$4,56 \times 10^{-9}$
	Steroids	13,49	2	0,001
	Triterpenoids	13,29	2	0,001
	Unclassified	14,7	2	0,001
Classe	Wax monoesters	36,95	2	$9,48 \times 10^{-9}$
	Fatty alcohols	8,86	2	0,012
	Unsaturated fatty	6,72	2	0,035
	Oxygenated	6,72	2	0,035
	Unclassified	7,05	2	0,030

Les résultats sont structurés selon trois niveaux de classification : Voie métabolique (Pathway), Superclasse et Classe. Pour chaque groupe, le tableau 9 indique la valeur du Khi-deux (χ^2), les degrés de liberté et la p-valeur correspondante.

L'analyse statistique des différences de composition entre les différentes parties étudiées d'*Opuntia ficus-indica* a révélé des variations significatives dans plusieurs classes chimiques (tableau 9).

Les terpénoïdes présentent une différence significative entre les parties ($\chi^2 = 9,10$, $p = 0,011$). Les acides gras et leurs dérivés montrent un écart hautement significatif ($\chi^2 = 30,34$, $p < 0,001$). Des variations marquées ont également été observées pour les monoesters de cire ($\chi^2 = 36,95$, $p < 0,001$), les alcools gras ($\chi^2 = 8,86$, $p = 0,012$) et les hydrocarbures oxygénés ($\chi^2 = 6,72$, $p = 0,035$).

Ces résultats confirment les travaux de Belhadj Slimen et al. (2021), qui ont mis en évidence des variations significatives dans la composition des COV entre différentes parties d'*Opuntia ficus-indica*. L'abondance des acides gras dans les cladodes et les tourteaux reflète leur rôle essentiel dans le métabolisme lipidique de la plante (Kozłowska et al., 2016), tandis que la diversité chimique des écorces confirme leur richesse en métabolites secondaires (Fernandes et al., 2024).

Les différences métaboliques entre les parties étudiées de la plante renforcent l'idée que ces composés volatils jouent des rôles biologiques distincts, notamment en matière de défense contre les pathogènes et d'interactions écologiques (Montejano-Ramírez et al., 2024).

En termes de valorisation, les composés azotés des tourteaux pourraient être exploités dans l'alimentation animale afin d'améliorer leur profil nutritionnel, tandis que la forte teneur en terpénoïdes des écorces les rend particulièrement intéressantes pour des applications pharmacologiques (Lalnunfela et al., 2024).

Les analyses statistiques révèlent des différences significatives dans la composition des COV, en particulier pour les esters d'acides gras et les hydrocarbures oxygénés. Ces résultats sont en accord avec les observations de Katoch (2023), qui a démontré que les facteurs environnementaux influencent fortement la composition chimique des aliments et leur digestibilité chez les ruminants.

II.3. Similarité des composés organiques volatils (COV) entre les échantillons

L'analyse des profils métaboliques à l'aide des indices de Bray-Curtis et de Jaccard a révélé des niveaux de similarité variables entre les différentes parties d'*Opuntia ficus-indica*.

Les cladodes et les tourteaux (figure 15) présentent la plus grande similarité métabolique, avec des valeurs de Bray-Curtis de 0,17 et de Jaccard de 0,86, suggérant des voies métaboliques partagées. En revanche, les écorces se distinguent par une composition chimique plus diversifiée, comme l'indiquent leurs valeurs de Jaccard (1,59) et de Bray-Curtis (1,74).

Ces observations suggèrent une spécialisation métabolique entre les différentes parties de la plante. La forte ressemblance entre les cladodes et les tourteaux est en accord avec les travaux de Scarano et al. (2022), qui ont mis en évidence des similarités dans la biosynthèse lipidique des sous-produits végétaux. À l'inverse, la divergence des écorces souligne leur rôle protecteur, conforme aux résultats de Sheng et al. (2024).

La forte similarité entre les cladodes et les tourteaux en termes de composition en acides gras souligne leur potentiel comme sources énergétiques pour les ruminants. Wanapat et al. (2013) ont démontré que l'ajout de lipides végétaux dans l'alimentation des ruminants améliore la conversion alimentaire et réduit le stress métabolique.

En revanche, la singularité des écorces, caractérisée par une diversité plus élevée de terpènes et de stéroïdes, nécessite une évaluation approfondie avant leur inclusion massive dans les rations. Golbotteh et al. (2024) ont montré que ces composés pouvaient altérer la palatabilité et réduire la consommation volontaire chez les ruminants.

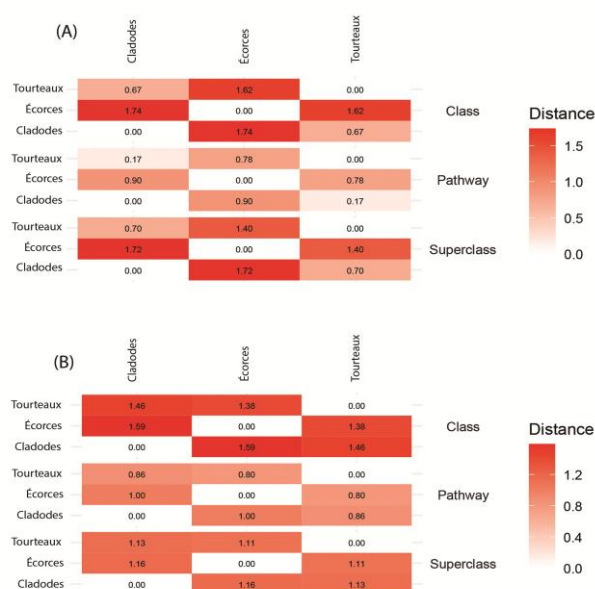


Figure 15. Carte thermique des indices de similarité de Bray-Curtis et Jaccard pour les composés organiques volatils d'*Opuntia ficus-indica* dans différentes parties de la plante. (A) Affiche les indices de similarité de Bray-Curtis, (B) Représente les indices de similarité de Jaccard.

II.4. Diversité des composés organiques volatils (COV) entre les échantillons

L'analyse de la diversité des COV dans les cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica* a révélé des différences significatives en terme de richesse et d'équilibre chimique.

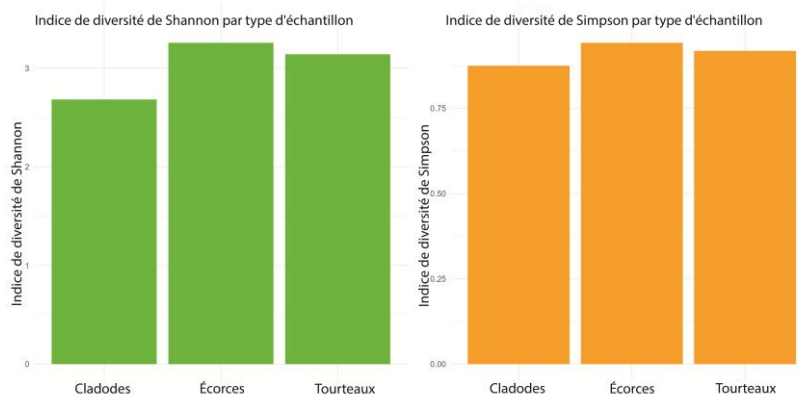


Figure 16. Diversité des échantillons : indices de Shannon et Simpson pour les cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica*.

Les écorces présentent la plus grande diversité chimique, avec un indice de Shannon ($H' = 3,26$) et un indice de Simpson (0,94), comme l'illustre la figure 16.

En comparaison, les cladodes et les tourteaux affichent une diversité plus faible, bien que les cladodes soient légèrement plus riches que les tourteaux (Shannon = 2,68 ; Simpson = 0,87).

L'analyse de la diversité fonctionnelle de Hill (figure 17 (A)) confirme ces résultats en montrant que les écorces possèdent une diversité plus élevée pour toutes les valeurs de q .

L'analyse de positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS), comme l'illustre la figure 17 (B) a révélé une séparation nette des trois groupes d'échantillons, mettant en évidence leurs profils distincts en termes de COV. De plus, l'analyse de la distance moyenne par paire (MPD) (figure 17 (C)) confirme que les écorces possèdent la plus grande diversité fonctionnelle. Par ailleurs, le graphique élargi de diversité de Hill (figure 17 (D)) illustre comment la diversité varie à différentes échelles, montrant que pour $q = 1, 2$ et 3 , les écorces présentent la diversité la plus élevée.

Ces résultats sont en accord avec ceux de El Hassania et al. (2024), qui ont mis en évidence la richesse en métabolites secondaires des écorces d'*Opuntia ficus-indica*, notamment en stéroïdes et terpénoïdes.

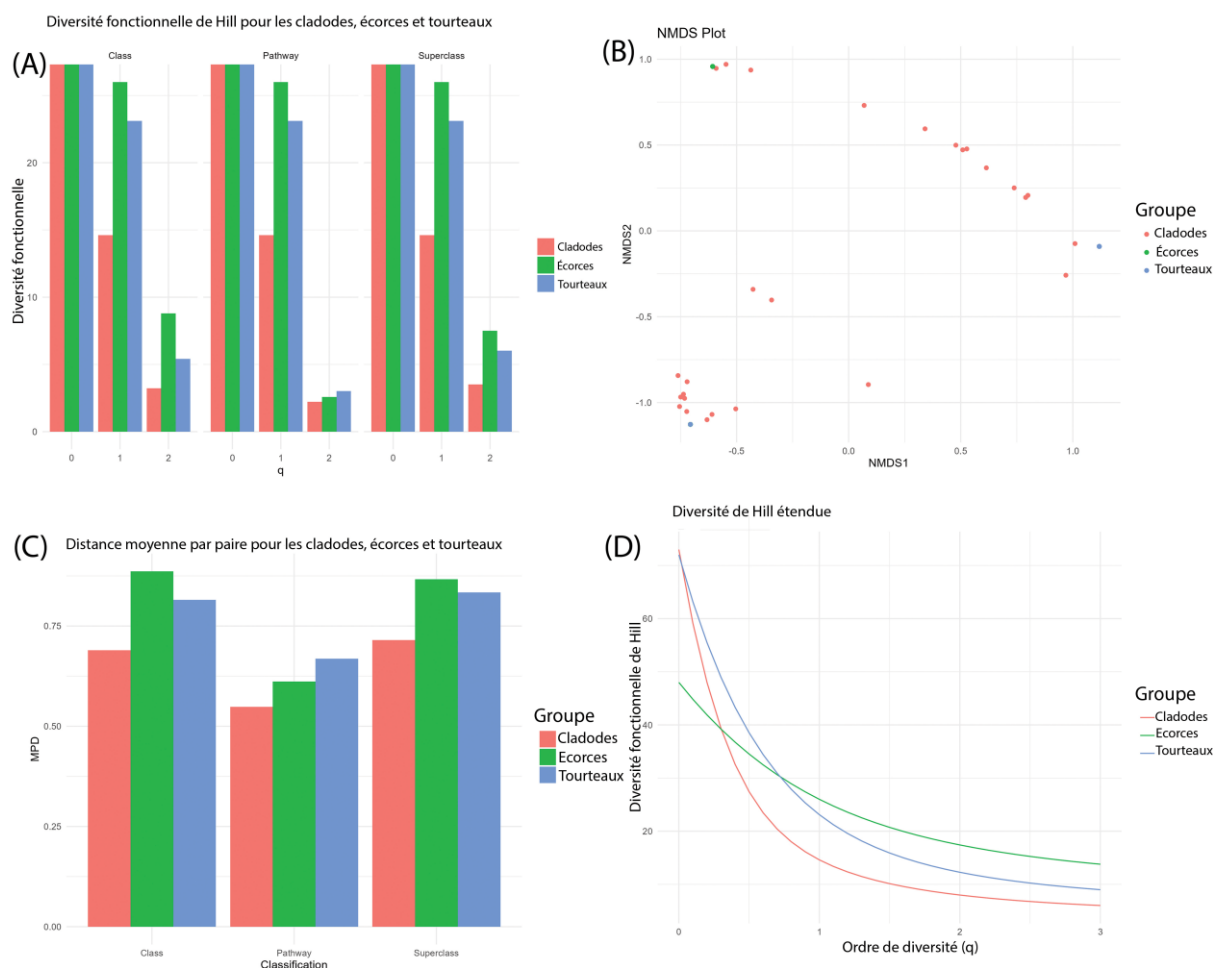
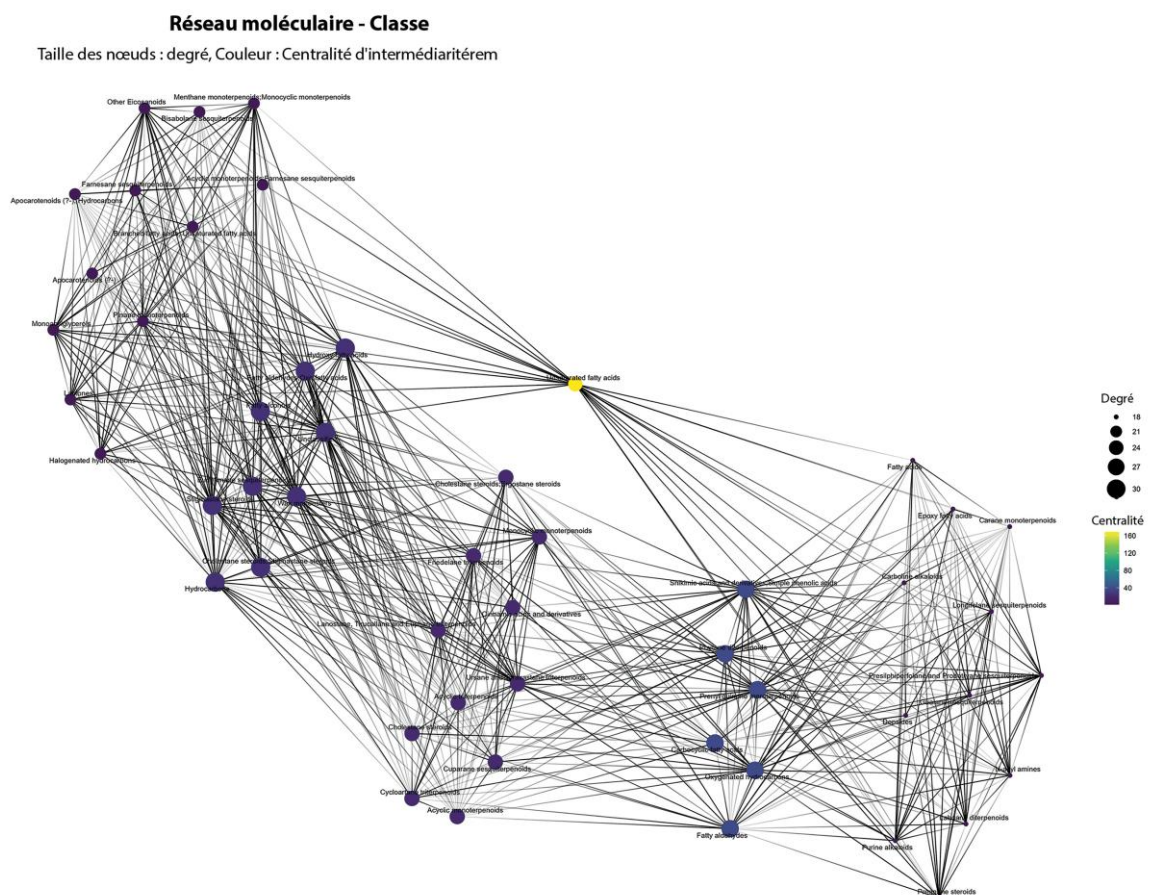


Figure 17. Analyse de la diversité fonctionnelle de Hill, mise à l'échelle multidimensionnelle non métrique (NMDS) et distance moyenne par paire (MPD) pour les cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica*. (A) Analyse de la diversité fonctionnelle de Hill aux différents niveaux de classification. (B) Graphique NMDS illustrant les différences de profils de COV entre les différentes parties de la plante. (C) Distance moyenne par paire (MPD) des COV, indiquant la dissimilarité fonctionnelle. (D) Courbe étendue de diversité de Hill comparant la diversité fonctionnelle selon différents ordres.

Les indices de diversité de Shannon et Simpson montrent que les écorces contiennent une distribution équilibrée des COV, contrairement aux cladodes et tourteaux, qui sont majoritairement constitués de composés lipidiques. Ces résultats concordent avec les travaux de Fernandes et al. (2024), qui ont souligné l'importance des terpénoïdes et stéroïdes dans les fonctions de défense des écorces végétales.

D'un point de vue industriel, cette diversité chimique élevée suggère que les écorces d'*Opuntia ficus-indica* pourraient être une source prometteuse de métabolites bioactifs, avec des applications potentielles dans les secteurs pharmaceutique, cosmétique et agrochimique.



la possibilité de synergies entre ces composés, suggérant une potentielle augmentation de l'activité biologique.

L'utilisation d'une approche innovante, basée sur l'apprentissage profond et l'outil NPClassifier, a permis d'obtenir une classification plus précise des composés volatils. Contrairement aux méthodes classiques, cette approche offre une analyse plus détaillée des interactions métaboliques, mettant en évidence des connexions fonctionnelles insoupçonnées.

Nos résultats confirment les observations de Sheng et al. (2024), qui ont démontré l'utilité du réseau moléculaire pour identifier les relations chimiques clés et comprendre les interactions métaboliques complexes.

L'approche utilisée ici s'appuie sur les avancées récentes en métabolomique des réseaux, notamment celles de Matsuta et al. (2022) et Wen et al. (2022), qui ont montré que les interactions chimiques robustes peuvent amplifier l'activité biologique des composés bioactifs.

Cette étude met en évidence l'importance des synergies entre les acides gras insaturés et les terpénoïdes, confirmant qu'ils pourraient jouer un rôle clé dans la régulation métabolique et les interactions chimiques de la plante.

D'un point de vue applicatif, la structure du réseau moléculaire révèle que certains composés, en particulier les stéroïdes et triterpénoïdes, pourraient être exploités pour optimiser les formulations pharmacologiques et cosmétiques, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles stratégies de valorisation des sous-produits végétaux.

L'analyse des réseaux moléculaires confirme l'existence de synergies biochimiques entre les acides gras insaturés et les terpènes. Selon Kholif et Olafadehan (2021), les additifs phytogéniques, notamment les huiles essentielles et les métabolites secondaires des plantes, peuvent influencer positivement la digestion et la fermentation microbienne en modulant l'activité du microbiote ruminal.

Conclusion

L'analyse des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* a révélé une diversité chimique significative, variant selon les différentes parties de la plante. Les résultats montrent que les cladodes et les tourteaux, principalement riches en acides gras, présentent un potentiel intéressant en alimentation animale. En revanche, les écorces, riches en terpénoïdes et stéroïdes, pourraient être valorisées dans les industries pharmaceutique et cosmétique.

D'un point de vue applicatif, ces résultats suggèrent que l'intégration progressive des sous-produits du figuier de Barbarie dans l'alimentation des petits ruminants constitue une stratégie prometteuse. Cependant, la présence de certains métabolites secondaires, notamment les alcaloïdes et les stéroïdes, requiert une évaluation approfondie afin d'éviter d'éventuels effets indésirables sur la digestibilité et la santé animale.

Cette étude s'est principalement basée sur une analyse chimique et métabolomique des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*. Toutefois, l'impact réel de ces métabolites sur la physiologie digestive et la productivité des ruminants reste à approfondir. L'absence de tests biologiques sur les animaux constitue une limite majeure, qu'il serait essentiel d'explorer dans des études futures.

Dans cette perspective, les recherches futures pourraient s'orienter vers des essais *in vitro* sur les petits ruminants, afin d'évaluer l'impact des métabolites identifiés sur la digestibilité et la santé du microbiote ruminal. Une autre piste d'exploration serait l'optimisation des méthodes de transformation, visant à réduire les effets négatifs des métabolites secondaires tout en améliorant la biodisponibilité des nutriments.

En conclusion, cette étude constitue une première étape dans la caractérisation chimique et fonctionnelle des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*. Elle met en lumière leur potentiel de valorisation dans un cadre durable, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles perspectives d'utilisation en alimentation animale et en industrie.

Expérimentation II

I. Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée afin d'évaluer les effets de différentes doses d'huiles essentielles de menthe odorante (*Mentha suaveolens* Ehrh) et de romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur la cinétique de fermentation et certains paramètres nutritionnels de trois sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (cladodes, écorces et tourteaux). L'évaluation a été menée à l'aide de la méthode modifiée du test de gaz de Hohenheim (HGT), conformément à la norme VDLUFA 25.1 (2012). Cinq doses d'huile essentielle (0, 50, 100, 150 et 300 $\mu\text{L/L}$) ont été testées, sélectionnées sur la base d'études antérieures, notamment celle de Macheboeuf et al. (2008), qui a démontré que des concentrations allant jusqu'à 300 $\mu\text{L/L}$ influencent significativement la fermentation ruminale et améliorent l'efficacité énergétique. Toutefois, des doses supérieures à 300 $\mu\text{L/L}$ peuvent inhiber les activités microbiennes bénéfiques et avoir un impact négatif sur la fermentation, réduisant ainsi l'efficacité du processus. Les doses choisies couvrent un large éventail afin d'examiner à la fois les effets inhibiteurs et optimisateurs des huiles essentielles sur la fermentation.

La méthode appliquée a permis d'évaluer l'impact de ces doses sur le processus de fermentation et de déterminer plusieurs paramètres, notamment l'énergie métabolisable (EM), la digestibilité de la matière organique (dMO), l'énergie nette lait (ENL) et la production d'acides gras à chaîne courte, également appelés acides gras volatils (AGV). La cinétique de fermentation a été suivie à des intervalles de temps précis (0 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h et 96 h), l'expérience a été répétée trois fois pour chaque dose afin d'assurer la précision et la reproductibilité des résultats.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétale

Le même matériel végétal que celui utilisé dans la partie expérimentale I a été utilisé, à savoir les cladodes, les écorces et les tourteaux.

I.1.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation des feuilles de *Mentha suaveolens* Ehrh. et de *Rosmarinus officinalis*, à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Ce procédé consiste à chauffer le matériau végétal afin de libérer les composés volatils, qui sont ensuite condensés et collectés pour une analyse ultérieure.

I.2. Méthodes

I.2.1. Méthode GC-MS

I.2.1.1. Analyse de l'huile essentielle de menthe odorante (*Mentha suaveolens* Ehrh.)

L'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh. a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) à l'aide d'un système Shimadzu GCMS-QP2020 NX, équipé d'un échantillonneur automatique AOC-20i+s. La séparation des composés volatils a été réalisée sur une colonne capillaire Restek Rxi-5ms (30 mètres de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur de film). La phase stationnaire était constituée de Crossbond 5 % diphényle / 95 % diméthylpolysiloxane, une phase à faible saignement optimisée pour les hautes températures. La température programmable maximale de la colonne était de 350°C, avec un saignement minimal à 330°C.

L'hélium (N6.0) a été utilisé comme gaz vecteur à un débit constant de 0,50 ml/min. Les échantillons ont été injectés en mode fractionné (rapport 80 :1) afin de réduire la concentration de l'échantillon et d'optimiser la séparation des composés volatils. Le volume d'injection était de 0,5 µL. Le programme de température du four a débuté à 60°C, maintenu pendant 8 minutes, puis augmenté à 250°C à un taux de 2°C/min, avec un palier final de 10 minutes, portant la durée totale d'analyse à 68 minutes. La température de la source d'ions a été fixée à 230°C et celle de l'interface à 280°C. Un temps de coupure des solvants de 3 minutes a été appliqué pour garantir la précision des données collectées.

L'acquisition des données a été réalisée en mode balayage (*scan*) sur une plage de masses de 30 à 550 m/z, avec une vitesse de balayage de 2000 et une durée de balayage de 0,30 seconde par scan. L'identification des composés volatils a été effectuée en comparant les spectres de masse aux bibliothèques NIST17 et W11N17MAIN1.lib. De plus, les indices de rétention ont été utilisés pour confirmer l'identité des composés, améliorant ainsi la précision de l'analyse.

Les composés volatils identifiés ont ensuite été classés à l'aide de l'algorithme NPClassifier, un outil basé sur l'apprentissage profond permettant de catégoriser les produits naturels selon leur structure chimique (Kim et al., 2021). Ce système de classification hiérarchique organise les composés en différentes catégories, telles que « Voie métabolique », « Super-classe » et « Classe ».

I.2.1.2. Analyse de l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis*)

L'analyse de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), à l'aide d'un appareil Shimadzu GCMS-QP2020 équipé d'un échantillonneur automatique (AOC-20i). La séparation des composés a été effectuée à l'aide d'une colonne capillaire en silice fondue de type Rxi-5Sil MS GC, présentant les caractéristiques suivantes : 30 mètres de longueur, 0,25 millimètre de diamètre interne et 0,25 micromètre d'épaisseur de film. La phase stationnaire utilisée était composée de Crossbond 1,4-bis(diméthylsiloxo) phénylène diméthylpolysiloxane, une phase de faible polarité hautement inerte aux composés actifs, capable de résister à des températures allant de -60°C à 350°C, similaire au (5 %-phényl)-méthylpolysiloxane.

La séparation des composants a été réalisée en utilisant de l'hélium pur N6.0 comme gaz vecteur, avec un débit constant de 1,61 millilitres par minute. La température de l'injecteur a été maintenue à 280°C tout au long du processus chromatographique. Un échantillon de 0,20 µL de l'extrait a été injecté dans l'instrument. Le programme de température du four a débuté à 60°C pendant 5 minutes, suivi d'une augmentation à un taux de 30°C par minute jusqu'à atteindre 300°C, avec un palier de 5 minutes.

Les paramètres du détecteur de masse ont été définis avec une température fixe de 200°C pour la source d'ions et de 300°C pour l'interface. Le temps de coupure des solvants a été fixé à 2 minutes, et la durée de balayage à 0,3 seconde. La plage de rapport masse/charge (m/z) couvrait de 35,00 à 500,00, avec un début d'acquisition à 3 minutes et une fin à 10 minutes.

Les composés identifiés ont été classés selon leurs voies de biosynthèse, leurs super-classes chimiques et leurs classes à l'aide de l'algorithme d'apprentissage profond NPClassifier.

I.2.2. Préparation des échantillons et analyse chimique

Les sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (cladodes, écorces et tourteaux) ont été séchés à l'étuve à 60°C jusqu'à obtention d'un poids constant, puis broyés afin de passer à travers un tamis de 1 mm pour les analyses chimiques. La teneur en matière sèche (MS) a été déterminée gravimétriquement après séchage des échantillons à 105°C. La teneur en cendres (CT) a été mesurée selon la méthode AFNOR NF V18-101 et est exprimée en g/kg de MS.

La fibre au détergent neutre (NDF) a été analysée selon la norme ISO 16472, tandis que la fibre au détergent acide (ADF) et la lignine au détergent acide (ADL) ont été déterminées conformément au protocole ISO 13906. La teneur en hémicellulose a été calculée comme la différence entre NDF et ADF, et la cellulose a été déterminée en soustrayant l'ADL de l'ADF.

La teneur en protéines brutes (PB) a été mesurée selon la méthode AFNOR NF V18-100 (1977), et les matières grasses brutes (MG) ont été extraites selon les procédures standards de laboratoire.

La teneur en phosphore (P) a été déterminée par méthode colorimétrique, tandis que la teneur en calcium (Ca) a été analysée par titration complexométrique.

I.2.3. Collecte du liquide ruminal

I.2.3.1. Collecte du liquide ruminal destinée à l'étude avec l'huile essentielle de menthe odorante (*Mentha suaveolens* Ehrh.)

Le liquide ruminal a été prélevé sur trois ovins adultes de race Ouled Djellal, une race locale reconnue pour son adaptabilité aux régions arides. Les animaux ont reçu un régime alimentaire équilibré composé de 40 % de concentré et de 60 % de fourrage pendant deux semaines avant l'expérience. Le concentré était constitué d'orge, de son de blé et de tourteau de soja, tandis que le fourrage comprenait du foin de luzerne et de la paille. Les animaux avaient un accès libre à l'eau tout au long de la période pré-expérimentale.

Pour la collecte du liquide ruminal, les ovins ont été soumis à un jeûne de 12 heures, tout en ayant un accès libre à l'eau. Le prélèvement a été réalisé le matin à l'aide d'une pompe manuelle d'aspiration sur des ovins fistulés, conformément aux directives éthiques du **projet N23FC-2023**, garantissant ainsi la fraîcheur et la représentativité du liquide ruminal par rapport au régime alimentaire des animaux. Le liquide ruminal a été immédiatement filtré à travers quatre couches de gaze pour éliminer les grosses particules, puis conservé dans le flacon thermique préchauffé afin de maintenir des conditions anaérobies jusqu'à son utilisation dans les expériences de fermentation.

I.2.3.1.1. Technique de fistulisation du rumen

La fistulisation du rumen a été réalisée sur trois brebis de race Ouled Djellal afin de permettre un accès direct et répété au contenu ruminal pour les prélèvements ultérieurs. L'intervention chirurgicale s'est déroulée sous anesthésie locale par infiltration de lidocaïne en "L" inversé, assurant ainsi le confort des animaux et réduisant la douleur. La zone chirurgicale a été soigneusement préparée avec une solution antiseptique à base de gluconate de chlorhexidine et de povidone iodée. Une incision cutanée de 4 à 5 cm a été réalisée à environ 6 à 7 cm de la dernière côte et 5 à 6 cm de la colonne vertébrale. La dissection précise des couches musculaires abdominales (oblique externe, oblique interne, transverse et fascia transverse) a permis

d'extérioriser un pli de la paroi du rumen, lequel a été suturé directement à la peau à l'aide d'un fil chirurgical monofilament en nylon (taille 2).

Une fois la fistule formée, une canule en PVC de 64 mm de longueur et 40 mm de diamètre interne a été insérée et solidement maintenue grâce à deux rondelles d'étanchéité : l'une de 140 mm de diamètre externe, positionnée contre la peau, et l'autre de 42 mm de diamètre interne, placée stratégiquement pour protéger la paroi interne du rumen. Une diapositive d'un diamètre interne de 60,55 mm, d'un diamètre externe de 80,92 mm et dotée d'un filetage interne de 50 mm a été conçue pour être insérée dans la première canule via un système de filetage. Ce dispositif garantit un maintien sécurisé de la canule reliant le rumen à la peau et des deux rondelles, empêchant tout déplacement ou chute dans la cavité ruminale pour la rondelle interne et la canule.

Grâce à ce mécanisme de fixation efficace, la canule reste solidement en place, permettant un accès fiable et durable au contenu ruminal pour les divers prélèvements et analyses (photo 1). Cette technique modifiée a contribué à limiter les risques d'infection et à favoriser une cicatrisation optimale. Un suivi rigoureux des brebis a été effectué durant la période postopératoire, accompagné de l'administration d'antibiotiques, d'anti-inflammatoires et antiseptiques afin de prévenir d'éventuelles complications. Cette approche a permis d'assurer la fonctionnalité et la durabilité de la fistule, tout en respectant les recommandations éthiques en vigueur, garantissant ainsi le bien-être des animaux.



Photo 1. Brebis fistulée utilisée pour le prélèvement du liquide ruminal
(cliché personnel, 2023).

I.2.3.2. Collecte du liquide ruminal destinée à l'étude avec l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis*)

Dans cette étude, le liquide ruminal a été collecté à partir de cinq ovins abattus dans un abattoir, en suivant un processus rigoureux et rapide afin de préserver au mieux l'intégrité du contenu ruminal. Immédiatement après l'abattage, le liquide ruminal a été filtré à travers quatre couches de gaze pour éliminer les particules grossières, puis transféré dans une bouteille isothermique saturée en CO₂ afin de minimiser la présence d'oxygène et de maintenir des conditions anaérobies optimales. La bouteille a été remplie jusqu'à son ouverture pour éviter toute entrée d'air, assurant ainsi la préservation des caractéristiques fermentaires du liquide. Le délai entre la collecte et le transfert au laboratoire, où la fermentation *in vitro* a été effectuée, a été limité à environ 20 minutes afin de réduire les altérations du microbiote ruminal.

L'utilisation du liquide ruminal issu d'animaux abattus est une alternative viable à la fistulisation, comme le suggèrent plusieurs études ayant démontré que les contenus ruminiaux prélevés en abattoir peuvent être utilisés avec succès pour des tests de fermentation *in vitro* (Haddi et al., 2003 ; Mould et al., 2005 a,b ; Salem, 2005).

I.2.4. Procédure *in vitro*

La fermentation *in vitro* a été réalisée conformément à la méthode VDLUFA 25.1 (2012), adaptée pour évaluer l'effet des huiles essentielles sur la fermentation des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (cladodes, écorces et tourteaux). Chaque unité de fermentation contenait 200 mg de matière sèche broyée, placée dans des seringues de fermentation en verre de 100 ml, conformément à la méthode de Menke et Steingass (1988).

Les échantillons ont été incubés avec un mélange composé de 1/3 d'inoculum ruminal (liquide ruminal filtré et préchauffé) et 2/3 d'un tampon minéralisé, préparé selon les protocoles standard d'incubation *in vitro*. Ce tampon, riche en bicarbonates et en minéraux essentiels, permet de maintenir un pH stable et de reproduire les conditions du rumen.

L'incubation a été réalisée sous des conditions strictement anaérobies afin d'assurer l'intégrité du processus fermentaire et garantir la fiabilité des résultats en matière de production de gaz et de digestibilité des substrats.

I.2.4.1. Préparation du milieu d'incubation

La salive artificielle utilisée pour les fermentations *in vitro* est préparée selon la méthode de Menke et Steingass (1988), en mélangeant plusieurs solutions spécifiques. Elle permet de

simuler les conditions du rumen, assurant ainsi un pH stable et une activité microbienne optimale.

➤ **Solution d'oligo-éléments (microminérale)**

- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 13,2 g
- $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 10,0 g
- $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 1,0 g
- $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0,8 g
- Eau distillée : jusqu'à 100 ml

➤ **Solution tampon (bicarbonatée)**

- NaHCO_3 : 35,0 g
- NH_4HCO_3 : 4,0 g
- Eau distillée : jusqu'à 1000 ml

➤ **Solution de macrominéraux**

- Na_2HPO_4 : 5,7 g
- KH_2PO_4 : 6,2 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,6 g
- Eau distillée : jusqu'à 1000 ml

➤ **Indicateur d'oxydo-réduction (Résazurine)**

- $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_4$ (Résazurine) : 100 mg
- Eau distillée : jusqu'à 100 ml

➤ **Solution réductrice**

- $\text{Na}_2\text{S} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 285 mg
- NaOH (1N) : 2 ml
- Eau distillée : 47,5 ml

➤ **Mélange final pour la préparation de la salive artificielle**

- Eau distillée : 474 mL
- Solution microminérale : 0,12 ml
- Solution tampon (bicarbonatée) : 237 ml
- Solution macrominérale : 237 ml
- Solution de résazurine : 1,22 ml
- Solution réductrice : 50 ml

La solution obtenue est chauffée jusqu'à ce que sa couleur passe du bleu au rose (photo 2), indiquant une pré-réduction partielle. Ensuite, un barbotage sous CO₂ est maintenu jusqu'à ce que la couleur devienne transparente, garantissant une réduction complète et des conditions anaérobies optimales.

Une fois cette étape terminée, le jus de rumen filtré (inoculum) est ajouté en proportion de 1/2 (v/v) pour compléter la salive artificielle.

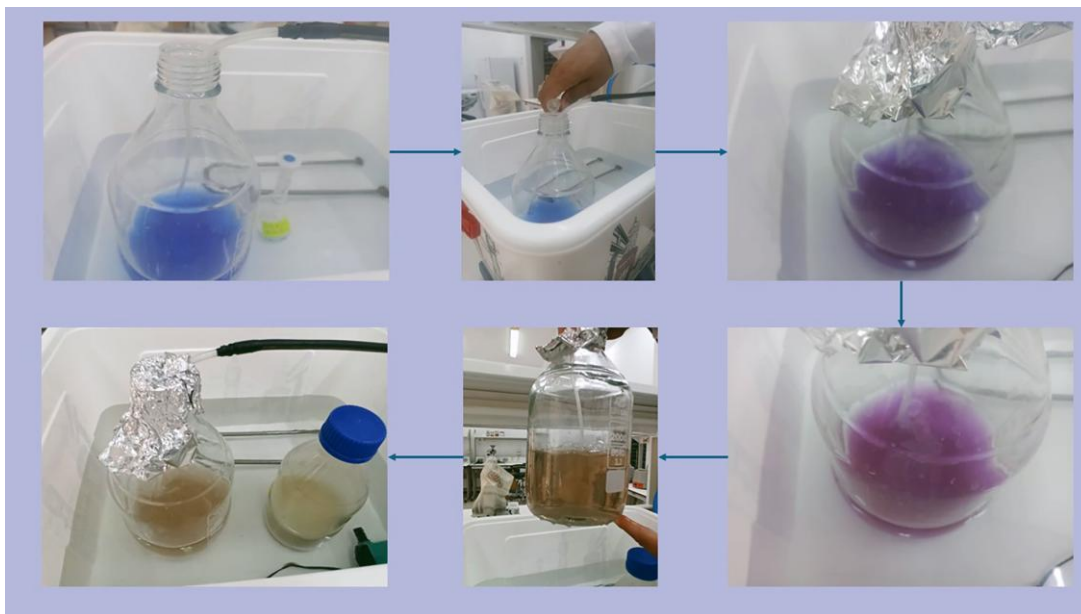


Photo 2. Pré-réduction et maintien des conditions anaérobies par barbotage sous CO₂
(cliché personnel, 2024).

I.2.4.2. Fermentation et mesure des gaz

Cinq doses d'huiles essentielles (0 µL/L, 50 µL/L, 100 µL/L, 150 µL/L et 300 µL/L) ont été testées en ajoutant directement les quantités correspondantes dans le milieu de fermentation avant l'incubation.

Les seringues de fermentation ont été hermétiquement scellées et placées dans un bain-marie thermostatique maintenu à 39°C, afin de simuler les conditions physiologiques du rumen des ruminants.

La production cumulée de gaz a été mesurée à des intervalles de temps spécifiques : 0 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h et 96 h, en utilisant la méthode de Menke et Steingass (1988)

.

L'expérience a été répétée trois fois pour chaque huile essentielle, chaque dose étant testée en triplicat au sein de chaque série expérimentale, afin d'assurer la robustesse et la reproductibilité des résultats.

I.2.5. Calcul et analyse statistique

I.2.5.1. Modélisation de la production de gaz

La cinétique de production de gaz durant la fermentation *in vitro* a été décrite à l'aide du modèle de Ørskov et McDonald (1979), défini par l'équation suivante :

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

Où :

a : Volume de gaz produit immédiatement après l'incubation (ml), correspondant à la fraction soluble facilement fermentescible.

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

c : Vitesse de production de gaz (h^{-1}), indiquant la rapidité de dégradation de la fraction **b**.

t : Temps d'incubation en heures.

y : Production totale de gaz (ml) en fonction du temps **t** et du taux de fermentation **c**.

I.2.5.2. Estimation des paramètres nutritionnels et énergétiques

Les équations de Menke et Steingass (1988) ont été utilisées pour estimer :

- L'énergie métabolisable (EM)
- La digestibilité de la matière organique (dMO)
- L'énergie nette lait (ENL)

L'évolution de l'énergie métabolisable (EM), de la digestibilité de la matière organique (dMO), de l'énergie nette lait (ENL) et des acides gras volatils (AGV) a été étudiée pour les différentes doses d'huile essentielle (0, 50, 100, 150 et 300 $\mu\text{L/L}$).

- Les variations ont été analysées séparément pour chaque sous-produit (cladodes, écorces et tourteaux).
- Les résultats ont été illustrés à l'aide de graphiques linéaires, permettant de visualiser l'impact direct de chaque dose sur les indicateurs nutritionnels.

A) Cladodes

$$EM (MJ/Kg MS) = 2,20 + 0,1357 \times GP_{24h} + 0,0057 \times PB + 0,0002859 \times MG^2$$

$$dMO(\%) = 16,49 + 0,9042 \times GP_{24h} + 0,0492 \times PB + 0,0387 \times CT$$

$$ENL (MJ/Kg MS) = 0,54 + 0,0959 \times GP_{24h} + 0,0038 \times PB + 0,0001733 \times MG^2$$

B) Tourteaux et écorces

$$EM (MJ / Kg MS) = 1,06 + 0,1570 \times GP_{24h} + 0,0084 \times PB + 0,022 \times MG - 0,0081 \times CT$$

$$dMO(\%) = 9 + 0,9991 \times GP_{24h} + 0,0595 \times PB - 0,0181 \times CT$$

$$ENL (MJ / Kg MS): 0,115 \times GP_{24h} + 0,0054 \times PB + 0,014 \times MG - 0,0054 \times CT - 0,36$$

C) Cladodes, tourteaux et écorces

L'équation de Getachew et al. (2002) et Makkar (2005) a été utilisée pour estimer les acides gras volatils (AGV) :

$$AGV (mmol/Seringue) = -0,00425 + 0,0222 \times GP_{24h}$$

Où :

GP_{24h} : Production nette de gaz après 24 h (ml/200 mg MS) (voir la section I.2.5.3)

PB est la protéine brute (g/kg MS),

MG est la matière grasse brute (g/kg MS),

CT est la cendre totale (g/kg MS).

I.2.5.3. Production nette de gaz après 24 heures (GP_{24h})

La production nette de gaz (ml/200 mg MS) a été calculée selon Zaklouta et al. (2011) :

$$GP_{24h} = \frac{(V_{24} - V_0 - Gb_0) \times F_c \times 200}{W_s}$$

Où :

V_{24} : Volume total de gaz mesuré après 24 heures (ml).

V_0 : Volume mesuré au début de l'incubation (ml).

Gb_0 : Production de gaz des seringues blancs (ml).

W_s : Poids de l'échantillon en mg de MS (200 mg dans cette étude).

FC : Le facteur de correction (FC) est un coefficient appliqué aux données afin de corriger les écarts induits par des fluctuations dans les conditions expérimentales.

Il est défini par $F_C = \frac{G_{ST}}{G_{ST \text{ mesuré}}}$ Où :

G_{ST} : Volume standard de gaz (ml) produit en 24 heures.

$G_{ST \text{ mesure'}}$: Volume de gaz réellement mesuré dans les mêmes conditions.

Les valeurs de production de gaz standard pour le fourrage et le concentré sont respectivement de 45,9 ml/200 mg MS et 61,1 ml/200 mg MS après 24 heures. Si l'un des deux facteurs s'écarte de plus de 10 % de la valeur de référence (= 1), les essais concernés ne sont pas pris en compte dans l'analyse (Berger, 2013).

I.2.5.4. Analyse Statistique

Un diagramme de Sankey a été créé pour illustrer la classification des composés organiques volatils (COV) présents dans les huiles essentielles, selon l'analyse de l'algorithme d'apprentissage profond NPClassifier. Ce diagramme met en avant la hiérarchie des niveaux, de la voie de biosynthèse (Pathway) au Superclass, puis au Class, en accentuant les composés les plus abondants.

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide de tests non paramétriques, adaptés aux caractéristiques des distributions des données. Toutes les analyses ont été réalisées avec RStudio version 4.4.1.

A) Analyses intra-groupes : Effet des doses d'huile essentielle sur les paramètres de fermentation.

L'effet des doses d'huile essentielle (0, 50, 100, 150 et 300 µL/L) sur les paramètres de fermentation (a, b et c) a été évalué séparément pour chaque huile essentielle (*Mentha suaveolens* et *Rosmarinus officinalis*) et pour chaque type d'échantillon (cladodes, écorces et tourteaux).

- ✓ **Test de Shapiro-Wilk** : Vérification de la normalité des données.
- ✓ En raison de la non-normalité des distributions, des tests non paramétriques ont été appliqués.
- ✓ **Test de Friedman** : Évaluation des différences significatives entre les groupes (huile essentielle × type d'échantillon).

- ✓ Lorsqu'une différence significative était détectée ($p < 0,05$), un test post-hoc de Dunn, corrigé par la méthode de Bonferroni, a été utilisé pour identifier les différences entre les doses.

B) Analyses inter-groupes : Comparaison entre les huiles essentielles.

Pour comparer globalement les effets des huiles essentielles (*Mentha suaveolens* vs. *Rosmarinus officinalis*) sur les paramètres de fermentation (a, b et c), un test de Mann-Whitney a été appliqué à l'ensemble des données, incluant tous les types d'échantillons (cladodes, écorces et tourteaux) et toutes les doses.

Pour confirmer ces résultats et examiner les interactions potentielles entre les facteurs (Dose, Type d'échantillon, Huile essentielle), une ANOVA non paramétrique ART (Alignement et Transformation des Rangs) a été appliquée.

Seuil de significativité statistique : $p < 0,05$ pour toutes les analyses.

C) Analyse en Composantes Principales (ACP) :

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a été réalisée pour explorer les relations entre les doses d'huiles essentielles, les paramètres de fermentation (a, b, c) et les caractéristiques nutritionnelles des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (EM, dMO, ENL, AGV). L'ACP a été appliquée sur la matrice des corrélations, en normalisant les variables et en sélectionnant les composantes principales selon le critère de Kaiser (valeur propre > 1).

Le cercle des corrélations a été utilisé pour visualiser les relations entre les variables, tandis qu'une heatmap des contributions a permis d'évaluer leur importance dans la formation des axes principaux. Enfin, la projection des individus sur les axes factoriels a mis en évidence la répartition des échantillons selon les huiles essentielles et les types d'échantillons, facilitant l'interprétation des tendances globales.

II. Résultats et Discussion

II.1. Composition chimique des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*

Les résultats des analyses chimiques des cladodes, écorces et tourteaux sont présentés dans le tableau 10, avec toutes les valeurs exprimées en g/kg de MS, sauf pour le phosphore (P) et le calcium (Ca), qui sont exprimés en mg/kg de MS.

Tableau 10 : Composition chimique des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (cladodes, écorces et tourteaux).

Paramètre	Cladodes	Écorces	Tourteaux
Matière sèche (MS)	179,47	165,12	962,36
Cendres totales (CT)	253,75	189,7	33,8
Fibre insoluble dans détergents neutres (NDF)	237,4	315,2	791
Fibre insoluble dans détergents acides (ADF)	169	246,7	705,6
Acide détergent lignine (ADL)	65,7	57,4	111,7
Hémicellulose	68,4	68,5	85,4
Cellulose	103,3	189,3	593,9
Lignine	65,7	57,4	111,7
Protéines brutes (PB)	43,77	61,28	87,54
Matières grasses brutes (MG)	15,45	17,25	11,36
Phosphore (P) (mg/kg MS)	442,57	2648,75	8525,92
Calcium (Ca) (mg/kg MS)	41,19	41,89	16,72

II.2. Analyse des composés organiques volatils (COV) de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.

L'analyse des composés organiques volatils (COV) de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh. a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), suivie d'une classification assistée par l'algorithme d'apprentissage profond NPClassifier (Kim et al., 2021). Cette approche a permis d'organiser les composés en niveaux hiérarchiques : *Pathway* (voie métabolique), *Superclass* (super-classe) et *Class* (classe), facilitant ainsi l'identification des principales classes de composés et l'évaluation de leur abondance relative.

L'utilisation de NPClassifier a permis d'obtenir une classification hiérarchique précise des COV, enrichissant ainsi notre compréhension de la composition chimique de cette huile essentielle. Une telle analyse est cruciale pour explorer ses applications potentielles dans divers systèmes biologiques, notamment en agroalimentaire, pharmacologie et cosmétique. Les récents progrès dans la classification des métabolites volatils à l'aide d'outils d'apprentissage profond ont considérablement amélioré l'identification et la caractérisation des composés bioactifs, facilitant leur intégration dans des formulations thérapeutiques et industrielles (Delgadillo-Ruiz et al., 2021 ; Temmar et al., 2021).

Le diagramme de Sankey (figure 19) illustre la répartition des métabolites selon différentes voies métaboliques. L'analyse révèle que la voie des terpénoïdes constitue le groupe majoritaire, représentant 95,17 % du total des composés identifiés, avec la super-classe des monoterpénoïdes comme catégorie dominante (78,3 %). Parmi ces monoterpénoïdes, la classe des monoterpénoïdes menthane est la plus abondante (50,72 %), suivie par les monoterpénoïdes acycliques (7,77 %) et les monoterpénoïdes pinanes (3,27 %).

D'autres voies métaboliques sont représentées en proportions plus faibles, notamment les acides gras (4,42 %), ainsi que les shikimates et phénylpropanoïdes (0,31 %).

Ces résultats confirment que l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh. est majoritairement composée de monoterpénoïdes, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (Bergman et al., 2023 ; Gulluce et al., 2007).

La forte présence de monoterpénoïdes suggère un potentiel bioactif significatif, notamment pour la modulation de la fermentation ruminale et l'inhibition de certaines populations microbiennes spécifiques. Plusieurs études ont montré que certains monoterpénoïdes, tels que le carvacrol et le thymol, peuvent inhiber la croissance de bactéries spécifiques du rumen, réduisant ainsi la production de méthane et modulant la fermentation microbienne (Busquet et al., 2006 ; Kholif et Olafadehan, 2021). L'action antimicrobienne des monoterpénoïdes repose sur leur capacité à perturber les membranes cellulaires des bactéries et à influencer l'activité enzymatique des micro-organismes (Oh et al., 1968). Ces propriétés ouvrent des perspectives prometteuses pour leur utilisation comme additifs naturels en nutrition animale, afin d'améliorer l'efficacité alimentaire et de réduire l'impact environnemental des élevages de ruminants (Fandiño et al., 2020).

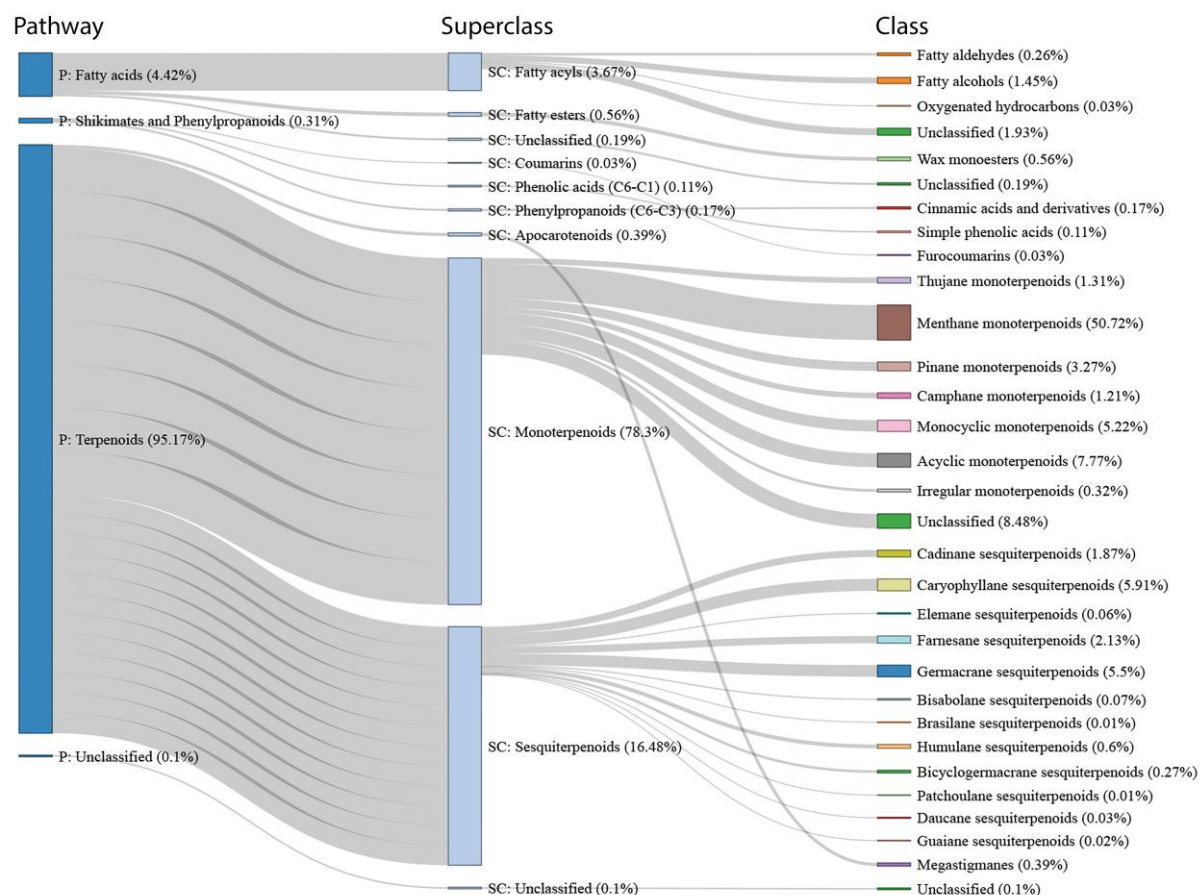


Figure 19. Classification des métabolites volatils de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh. selon les niveaux Pathway, Superclass et Class à l'aide de NPClassifier.

II.3. Analyse des composés organiques volatils (COV) de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

L'analyse des composés organiques volatils (COV) de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), suivie d'une classification assistée par l'algorithme d'apprentissage profond NPClassifier. Le diagramme de Sankey (figure 20) illustre la répartition des métabolites entre différentes voies métaboliques.

L'analyse révèle que la voie des terpénoïdes constitue le groupe majoritaire, représentant 99,20 % du total des composés identifiés, avec la super-classe des monoterpénoïdes comme catégorie dominante (98,92 %). Parmi ces monoterpénoïdes, la classe des menthane monoterpénoïdes est la plus abondante (37,71 %), suivie par les camphane monoterpénoïdes (29,65 %), les monoterpénoïdes monocycliques (8,82 %), les pinane monoterpénoïdes (12,94 %) et les monoterpénoïdes acycliques (7,43 %). D'autres voies métaboliques sont représentées en

proportions plus faibles, notamment les acides gras (0,57 %) ainsi que les shikimates et phénylpropanoïdes (0,21 %). La forte présence de monoterpénoïdes dans l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* suggère un potentiel bioactif significatif, notamment en raison de ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes.

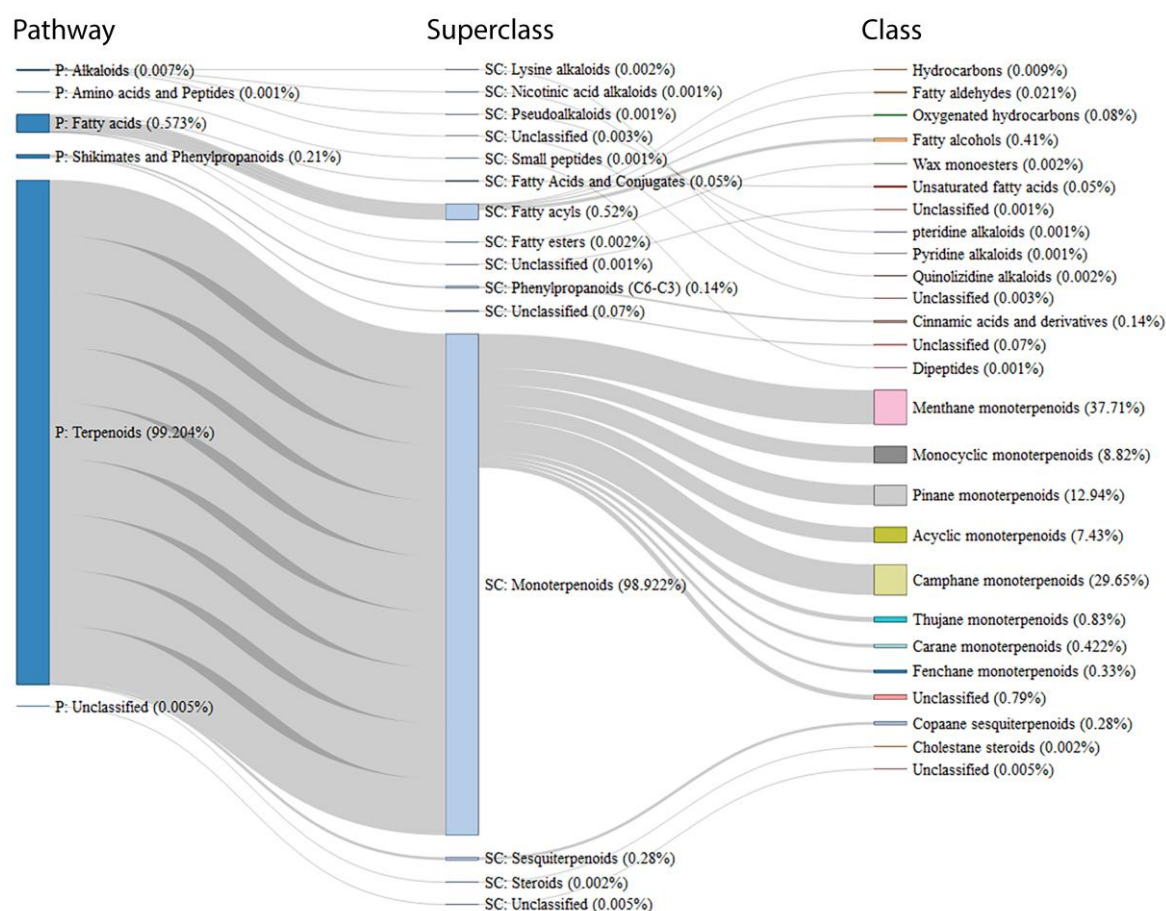


Figure 20. Classification des métabolites volatils de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* selon les niveaux Pathway, Superclass et Class à l'aide de NPClassifier.

Plusieurs études ont montré que des monoterpénoïdes présents dans le romarin, tels que le 1,8-cinéole et le camphre, exercent des effets inhibiteurs sur les bactéries pathogènes et les levures, tout en présentant des propriétés antioxydantes remarquables (Bejenaru et al., 2025 ; Soliman et al., 2024).

En nutrition animale, les monoterpénoïdes du romarin ont été étudiés pour leur impact sur la fermentation ruminale et leur potentiel à réduire la production de méthane. Leur capacité à modifier l'activité enzymatique microbienne et à réguler la digestion des fibres en fait des candidats prometteurs pour améliorer l'efficacité alimentaire des ruminants (Belbachir et al., 2025 ; Guendouz et al., 2024). L'utilisation de NPClassifier a permis d'obtenir une

classification hiérarchique précise des COV, ce qui a enrichi notre compréhension de la composition chimique de cette huile essentielle. Les avancées récentes en classification automatisée des métabolites ont montré que l'intégration de l'intelligence artificielle dans l'analyse chimique permet une identification plus rapide et plus précise des composés bioactifs, facilitant ainsi leur valorisation industrielle et thérapeutique (Guendouz et al., 2024 ; Khalil et Hassan, 2024).

II.4. Effet des doses d'huile essentielle sur les valeurs nutritives des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*

II.4.1. Pour l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.

Les effets de différentes doses d'huile essentielle (0, 50, 100, 150 et 300 $\mu\text{L/L}$) sur plusieurs indicateurs de la valeur nutritive [énergie métabolisable (EM), digestibilité de la matière organique (dMO), énergie nette lait (ENL) et acides gras volatils (AGV)] de trois sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (cladodes, écorces et tourteaux) ont été évalués. La figure 21 présente les valeurs absolues de chaque paramètre en fonction des différentes doses d'huile essentielle.

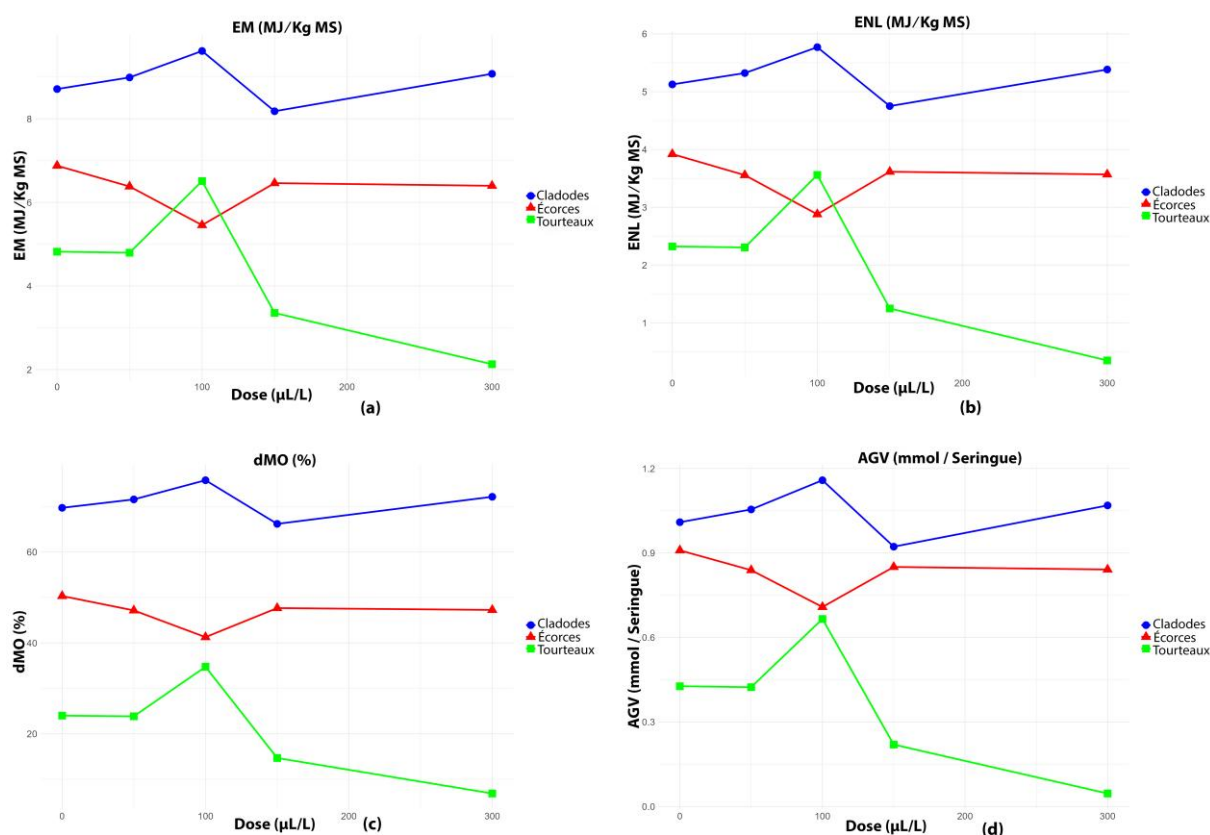


Figure 21. Effet des doses d'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh. sur quelques indicateurs de valeur nutritive des cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica*.

- **Énergie métabolisable (EM, MJ/kg MS) :** Dans la figure 21 (a), les cladodes montrent une augmentation notable de l'EM avec l'augmentation des doses d'huile essentielle, atteignant un pic à 100 $\mu\text{L/L}$ et maintenant des niveaux plus élevés que les écorces et les tourteaux pour toutes les doses. Les écorces présentent une variation minimale, restant relativement stables. Bien que les tourteaux montrent une amélioration à 100 $\mu\text{L/L}$, leur valeur d'EM reste bien inférieure à celle des cladodes et diminue fortement pour atteindre un niveau beaucoup plus bas à 300 $\mu\text{L/L}$.
- **Énergie nette lait (ENL, MJ/kg MS) :** Comme le montre la figure 21 (b), les cladodes affichent une augmentation progressive de l'ENL avec la dose d'huile essentielle, maintenant des niveaux plus élevés que les écorces et les tourteaux. Les écorces présentent des valeurs d'ENL stables avec très peu de variations, tandis que les tourteaux de graines montrent une légère amélioration à 100 $\mu\text{L/L}$, mais une diminution considérable par la suite, sans atteindre les niveaux des cladodes ni même des écorces, quelle que soit la dose.
- **Digestibilité de la matière organique (dMO, %) :** Dans la figure 21 (c), les cladodes restent stables à travers les différentes doses, avec des pourcentages de dMO avoisinant 60 %. Les écorces sont également constantes, avec des valeurs proches de 40 %. Bien que les tourteaux s'améliorent à 100 $\mu\text{L/L}$, leurs valeurs restent inférieures à celles des cladodes et des écorces, avec une diminution de la dMO autour de 20 % à 300 $\mu\text{L/L}$.
- **Acides gras volatils (AGV, mmol/Seringue) :** La figure 21 (d) révèle des niveaux d'AGV stables pour les cladodes et les écorces, se maintenant autour de 0,9 mmol quelle que soit la dose. Les tourteaux montrent une augmentation à 100 $\mu\text{L/L}$, mais restent inférieurs aux niveaux des cladodes et des écorces, avec une diminution notable des AGV à 300 $\mu\text{L/L}$.

Les cladodes ont présenté une énergie métabolisable (EM), une digestibilité de la matière organique (dMO) et une énergie nette lait (ENL) plus élevées que les tourteaux. Bien que des variations aient été observées dans les tourteaux à la dose intermédiaire de 100 $\mu\text{L/L}$, leurs valeurs sont restées inférieures à celles enregistrées pour les cladodes et les écorces.

Cette différence peut être attribuée à la teneur plus élevée en glucides solubles des cladodes, comme l'ont noté Cherif et al. (2022).

L'effet des huiles essentielles sur la fermentation ruminale dépend fortement de leur composition chimique et de leur concentration. Alabi et al. (2024a,b) ont rapporté que certaines huiles essentielles, bien qu'elles possèdent des propriétés antimicrobiennes, peuvent ne pas avoir d'impact significatif sur l'EM et la dMO lorsque la matrice alimentaire est riche en fibres

insolubles. Cette observation corrobore nos résultats : l'absence de différences notables dans l'EM et la dMO entre les différentes doses d'huile essentielle suggère que la composition chimique des sous-produits, notamment leur teneur en fibres et en glucides, joue un rôle déterminant dans la fermentation, surpassant ainsi l'effet de la supplémentation en huile essentielle.

De plus, Del Valle et al. (2024) ont constaté que l'ajout d'huiles essentielles dans l'alimentation des ruminants influence principalement la sélection microbienne, ce qui peut expliquer les variations observées dans les tourteaux sans affecter significativement la digestibilité de la matière organique. Cela confirme également que l'efficacité de la fermentation est principalement déterminée par les caractéristiques intrinsèques des sous-produits, plutôt que par la supplémentation en huile essentielle (Dorantes-Iturbide et al., 2022).

Enfin, Ibrahim (2024) a souligné que l'impact des huiles essentielles sur la fermentation ruminale peut être modulé par des interactions complexes entre les différents composés bioactifs et la diversité microbienne du rumen, ce qui expliquerait pourquoi certains sous-produits réagissent différemment aux mêmes doses d'huiles essentielles.

II.4.2. Pour l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Les effets de différentes doses d'huile essentielle (0, 50, 100, 150 et 300 µL/L) sur plusieurs indicateurs de la valeur nutritive [énergie métabolisable (EM), digestibilité de la matière organique (dMO), énergie nette lait (ENL) et acides gras volatils (AGV)] de trois sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (cladodes, écorces et tourteaux) ont été évalués. La figure 22 présente les valeurs absolues de chaque paramètre en fonction des différentes doses d'huile essentielle.

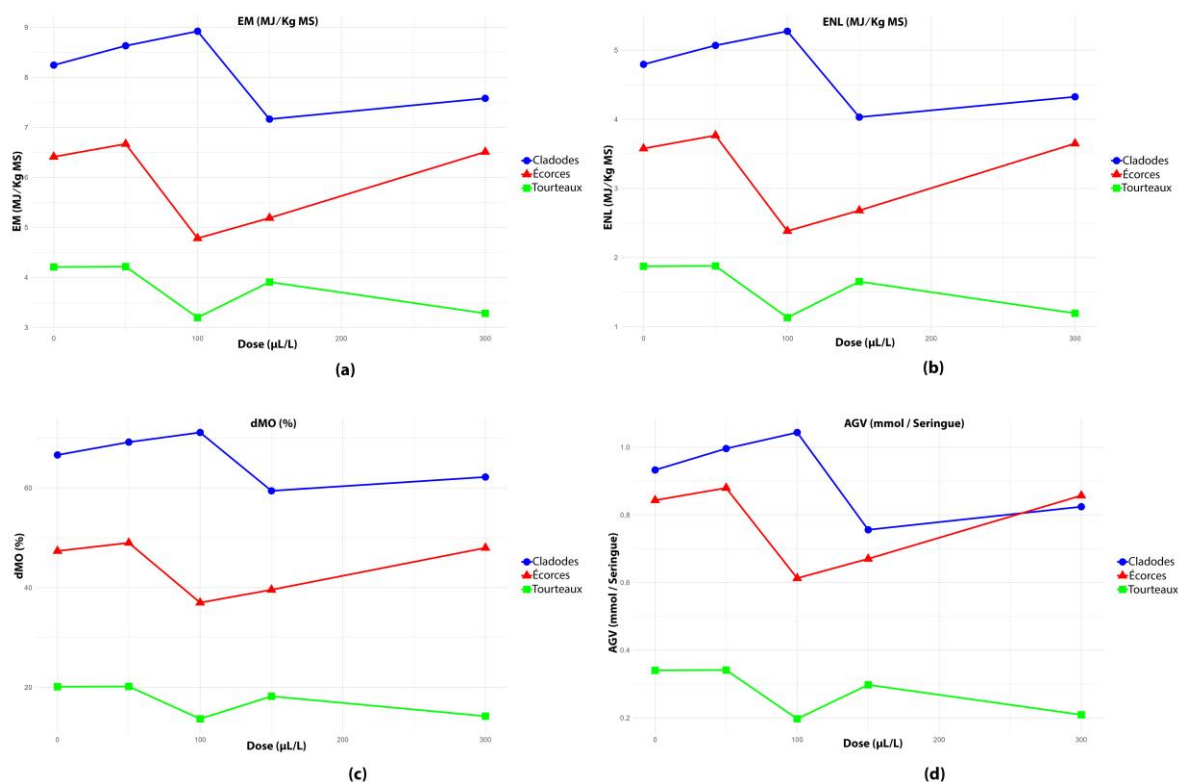


Figure 22. Effet des doses d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sur quelques indicateurs de valeur nutritive des cladodes, écorces et tourteaux d'*Opuntia ficus-indica*.

- **Énergie métabolisable (EM, MJ/kg MS) :** Dans la figure 22 (a), les cladodes montrent une tendance similaire à celle observée avec *Mentha suaveolens* Ehrh., avec une augmentation de l'EM jusqu'à 100 µL/L, suivie d'une légère diminution, tout en restant à des niveaux plus élevés que les autres sous-produits. Les écorces affichent une baisse significative de l'EM entre 50 et 150 µL/L, suivie d'une stabilisation à 300 µL/L. Les tourteaux, en revanche, présentent une réduction progressive de l'EM après 100 µL/L, atteignant des valeurs nettement inférieures à celles des cladodes et des écorces à 300 µL/L.
- **Énergie nette lait (ENL, MJ/kg MS) :** Comme l'illustre la figure 22 (b), les cladodes conservent des niveaux élevés d'ENL, atteignant leur maximum à 100 µL/L, puis affichant une légère baisse, tout en restant les plus élevés. Les écorces montrent une baisse après 100 µL/L, suivie d'une stabilisation. En revanche, les tourteaux subissent une diminution constante après 50 µL/L, atteignant leurs valeurs les plus basses à 300 µL/L.
- **Digestibilité de la matière organique (dMO, %) :** Dans la figure 22 (c), la dMO des cladodes reste relativement stable, avec une légère diminution après 100 µL/L, tout en conservant des valeurs supérieures à 60 %. Les écorces montrent également une certaine stabilité, bien que leurs valeurs soient légèrement inférieures à celles des cladodes (environ

40 %). Les tourteaux, quant à eux, présentent une forte baisse après 100 $\mu\text{L/L}$, atteignant environ 20 % à 300 $\mu\text{L/L}$.

➤ **Acides gras volatils (AGV, mmol/seringue) :** La figure 22 (d) illustre une variation marquée des AGV en réponse aux différentes doses d'huile essentielle. Les cladodes montrent une augmentation des AGV jusqu'à 100 $\mu\text{L/L}$, suivie d'une légère diminution à 150 $\mu\text{L/L}$, avant de se stabiliser autour de 0,9 mmol à 300 $\mu\text{L/L}$. Les écorces, quant à elles, subissent une réduction notable à 100 $\mu\text{L/L}$, mais affichent ensuite une progression constante, dépassant finalement les valeurs des cladodes à 300 $\mu\text{L/L}$. À l'inverse, les tourteaux présentent une forte diminution des AGV après 100 $\mu\text{L/L}$, atteignant leur niveau le plus bas à 300 $\mu\text{L/L}$.

Les résultats obtenus indiquent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* affecte différemment la valeur nutritive des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*, en fonction de la dose appliquée et de la nature du sous-produit étudié.

L'énergie métabolisable (EM) a montré une tendance similaire à celle observée avec *Mentha suaveolens* Ehrh., les cladodes affichant une augmentation de l'EM jusqu'à 100 $\mu\text{L/L}$ avant de se stabiliser. Cette tendance pourrait s'expliquer par l'effet stimulant de certains composants bioactifs du *Rosmarinus officinalis* sur la digestion des glucides structuraux, favorisant une meilleure production d'énergie (Elazab et al., 2024). Cependant, les écorces ont présenté une diminution marquée après 100 $\mu\text{L/L}$, ce qui pourrait être lié à l'interférence des huiles essentielles avec la microflore ruminale responsable de la dégradation des fibres (RahmatiZadeh et al., 2024). Les tourteaux ont montré une réduction progressive de l'EM après 100 $\mu\text{L/L}$, indiquant une sensibilité accrue à ces composés bioactifs, possiblement due à leur faible teneur en sucres fermentescibles (Odhaib et al., 2021).

Concernant l'énergie nette lait (ENL), une tendance similaire à celle de l'EM a été observée. Les cladodes conservent des niveaux élevés d'ENL, atteignant un maximum à 100 $\mu\text{L/L}$, ce qui s'explique par une meilleure disponibilité de l'énergie issue des fermentations microbiennes, optimisées par l'ajout modéré d'huiles essentielles (RahmatiZadeh et al., 2024). En revanche, les écorces ont montré une réduction après 100 $\mu\text{L/L}$, suivie d'une stabilisation, confirmant l'effet variable des huiles essentielles selon la composition chimique des substrats. Pour les tourteaux, la diminution constante après 50 $\mu\text{L/L}$ suggère une perturbation plus importante du microbiote impliqué dans la dégradation des nutriments essentiels à la production énergétique (Zhou et al., 2020).

La digestibilité de la matière organique (dMO) a révélé une certaine stabilité pour les cladodes et les écorces, bien que les valeurs des écorces restent légèrement inférieures. Ce résultat suggère que *Rosmarinus officinalis* a un effet modéré sur la digestibilité des fractions organiques des sous-produits riches en fibres, en accord avec les observations de Kong et al. (2022), qui rapportent que les huiles essentielles de romarin favorisent une fermentation plus efficace des fibres dans des matrices alimentaires spécifiques. Toutefois, la forte réduction observée pour les tourteaux après 100 µL/L indique que des doses élevées peuvent entraîner une inhibition partielle de la dégradation microbienne des composants cellulolytiques (Caroprese et al., 2023).

Les acides gras volatils (AGV) ont montré une variabilité importante en fonction de la dose d'huile essentielle. Les cladodes ont enregistré une augmentation des AGV jusqu'à 100 µL/L, suivie d'une légère diminution avant stabilisation, ce qui est cohérent avec une fermentation optimisée à des doses intermédiaires (Güney et al., 2021). Les écorces ont subi une réduction notable à 100 µL/L, avant une remontée progressive dépassant les valeurs des cladodes à 300 µL/L, suggérant une adaptation différée du microbiote à l'incorporation des huiles essentielles (Daş, 2024). En revanche, les tourteaux ont montré une forte diminution après 100 µL/L, atteignant leur niveau le plus bas à 300 µL/L, confirmant une perturbation probable de l'activité fermentaire spécifique aux substrats à faible teneur en amidon (Farghaly et Abdullah, 2021).

Ces résultats mettent en évidence des interactions complexes entre *Rosmarinus officinalis* et la composition des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*. Contrairement à *Mentha suaveolens* Ehrh., qui a montré un effet relativement homogène sur les différents sous-produits, *Rosmarinus officinalis* a un impact plus marqué, notamment sur les tourteaux et les écorces, où des doses élevées entraînent une réduction des paramètres de digestibilité et de fermentation. Ces résultats corroborent ceux de Yagoubi et al. (2022), qui suggèrent que l'efficacité des huiles essentielles dépend fortement de leur concentration et de leur interaction avec la matrice alimentaire. Ils confirment également que l'adaptation du microbiote ruminal joue un rôle clé dans l'optimisation de la digestion et de la valorisation énergétique des substrats alimentaires enrichis en huiles essentielles (Saber et al., 2022).

II.5. Modélisation de la cinétique de production de gaz et analyse des effets des doses et des types d'échantillons sur la fermentation

II.5.1. Pour l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.

Afin d'analyser les différences entre les types d'échantillons et les doses d'huile essentielle, des tests statistiques ont été réalisés sur trois paramètres dérivés du modèle d'Ørskov et McDonald (figures. 23, 24 et 25) :

- (a) Fraction immédiatement soluble (ml/200 mg MS).
- (b) Fraction potentiellement fermentescible (ml/200 mg MS)
- (c) Taux de production de gaz (h^{-1})

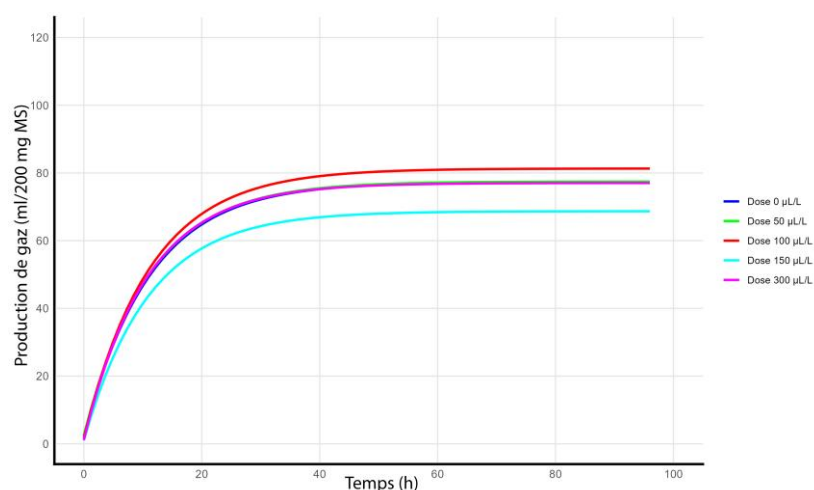


Figure 23. Cinétique de production de gaz pour les cladodes sous différentes doses d'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.

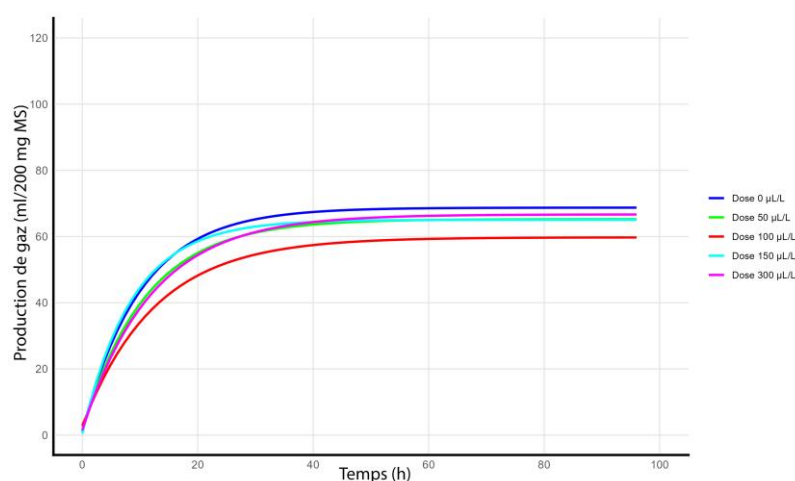


Figure 24. Cinétique de production de gaz pour les écorces sous différentes doses d'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.

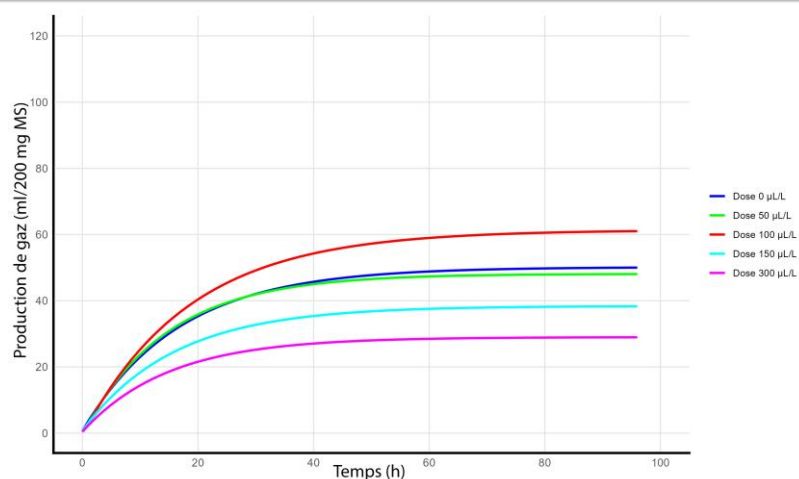


Figure 25. Cinétique de production de gaz pour les tourteaux sous différentes doses d'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.

II.5.1.1. Test de Friedman

Un test de Friedman a été appliqué pour comparer les trois types d'échantillons en fonction des paramètres de fermentation. Les résultats sont présentés dans le tableau 11 suivant :

Tableau 11 : Résultats du test de Friedman pour les paramètres de fermentation sous l'effet de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.

Paramètre	Statistique	df	p-value	Significativité
a (ml/200 mg MS)	5,2	2	0,0743	NS
b (ml/200 mg MS)	8,4	2	0,0150	*
c (h⁻¹)	7,6	2	0,0224	*

Statistique : Valeur de la statistique de Test de Friedman ; df : Degrés de liberté ; p-value : Niveau de significativité ; NS : Non significatif (p-value > 0,05) ; * : Significatif (p-value < 0,05).

Aucune différence significative n'a été observée pour la fraction immédiatement soluble (a) entre les échantillons (p = 0,0743, NS). En revanche, des différences significatives ont été détectées pour la fraction potentiellement fermentescible (b) (p = 0,0150, *), suggérant une variabilité dans la capacité des sous-produits à être fermentés. De plus, le taux de production de gaz (c) a montré des différences significatives entre les échantillons (p = 0,0224, *).

indiquant une influence des caractéristiques intrinsèques des sous-produits sur la cinétique de fermentation.

Les résultats obtenus mettent en évidence des différences significatives dans les paramètres de fermentation entre les différents sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (cladodes, écorces et tourteaux), comme illustré dans les tableaux 12 à 15. Les tourteaux ont présenté des valeurs significativement plus faibles pour la fraction potentiellement fermentescible (b) et le taux de production de gaz (c) par rapport aux cladodes et aux écorces ($p < 0,05$). Ces résultats concordent avec ceux de Cherif et al. (2022) et Macheboeuf et al. (2008), qui ont montré que les substrats riches en lignine ou en fibres indigestibles réduisent la digestibilité microbienne et, par conséquent, la production de gaz.

L'effet limitant des fibres a été largement documenté dans la littérature sur l'alimentation ovine. McAllister et al. (1994) ainsi que Owens & Basalan (2016) ont montré que la lignine constitue une barrière physique qui empêche l'accès des microorganismes fermentaires aux fractions digestibles. Cette contrainte structurelle se traduit par une réduction significative de la fermentation et de la production d'énergie métabolique. Nos résultats corroborent ces observations, notamment pour les tourteaux, qui affichent une baisse marquée de la fraction fermentescible (b) aux doses élevées d'huiles essentielles (tableau 14).

II.5.1.2. Comparaison post-hoc (Test de Dunn avec correction de Bonferroni)

Un test de Dunn a été réalisé pour comparer les groupes et identifier les différences spécifiques.

Tableau 12 : Résultats du test de Dunn pour la comparaison de la fraction potentiellement fermentescible (b) avec l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.

Comparaison	Z	P non-ajusté	P ajusté	Significativité
Cladodes - Écorces	1,838	0,06599	0,19798	NS
Cladodes - Tourteaux	3,464	0,00053	0,00159	**
Écorces - Tourteaux	1,626	0,10388	0,31163	NS

Z : Valeur du score Z du test de Dunn, indiquant l'écart entre les groupes comparés ; P non-ajusté : Valeur p-value initiale obtenue avant correction ; P ajusté : Valeur p-value corrigée en utilisant la méthode de Bonferroni ; NS : Non significatif ($p\text{-value} > 0,05$) ; * : Différence significative ($p\text{-value} < 0,05$) ; ** : Différence hautement significative ($p\text{-value} < 0,01$).

Tableau 13 : Résultats du test de Dunn pour la comparaison du taux de production de gaz (c) avec l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh.

Comparaison	Z	P non-ajusté	P ajusté	Significativité
Cladodes - Écorces	-0,212	0,832	1,000	NS
Cladodes - Tourteaux	2,545	0,01091	0,03273	*
Écorces - Tourteaux	2,757	0,00582	0,01746	*

Z : Valeur du score Z du test de Dunn, indiquant l'écart entre les groupes comparés ; P non-ajusté : Valeur p-value initiale obtenue avant correction ; P ajusté : Valeur p-value corrigée en utilisant la méthode de Bonferroni ; NS : Non significatif (p-value > 0,05) ; * : Différence significative (p-value < 0,05) ; ** : Différence hautement significative (p-value < 0,01).

Les tourteaux présentent une fraction potentiellement fermentescible (b) significativement plus faible que les cladodes (p < 0,01, tableau 12), indiquant une moindre capacité de fermentation. De plus, le taux de production de gaz (c) est significativement plus faible pour les tourteaux par rapport aux cladodes et aux écorces (p < 0,05, tableau 13), suggérant une fermentation plus lente et une dégradation microbienne réduite.

L'analyse statistique des paramètres de fermentation (tableaux 11, 12 et 13) n'a révélé aucune interaction significative entre les doses d'huiles essentielles et les sous-produits (p > 0,05). Bien que des variations aient été observées, notamment une tendance à la diminution de la fraction fermentescible (b) et du taux de production de gaz (c) à des doses élevées (150 et 300 µL/L), ces modifications restent dans la marge d'erreur expérimentale.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Garcia et al. (2020) et Torres et al. (2020), qui ont rapporté que les huiles essentielles n'ont pas toujours un effet significatif sur la fermentation ruminale, en particulier lorsque le substrat est riche en fibres insolubles. Selon Dorantes-Iturbide et al. (2022), l'efficacité des huiles essentielles dans la modulation de la microflore ruminale dépend fortement de la composition du substrat et de la capacité des composés actifs à pénétrer la matrice fibreuse.

Dans notre étude, l'absence d'effet marqué pourrait être attribuée à la haute teneur en lignine des écorces et tourteaux, qui limite la diffusion des huiles essentielles et réduit leur interaction avec les microorganismes ruminaux (Fidriyanto et al., 2023). Un effet similaire a été rapporté par Wang et McAllister (2002), qui ont observé que l'ajout d'huiles essentielles dans des rations riches en fibres n'améliorait pas significativement la fermentation.

II.5.1.3. Analyse des paramètres de fermentation selon les types d'échantillons et les doses d'huile essentielle

L'ajout d'huile essentielle n'a pas induit de modifications significatives sur la fraction immédiatement soluble **(a)**, la fraction potentiellement fermentescible **(b)** ou le taux de production de gaz **(c)**, comme l'indiquent les lettres de significativité similaires à travers toutes les doses ($p > 0,05$). Bien que les valeurs tendent à diminuer aux doses élevées, cette variation reste dans la marge d'erreur expérimentale.

➤ Fraction immédiatement soluble (a)

Aucune différence significative n'a été observée entre les différents types d'échantillons pour la fraction immédiatement soluble, comme l'indiquent les lettres de significativité similaires (a) à travers toutes les conditions expérimentales. Les valeurs de a ont varié légèrement en fonction de la dose, mais restent statistiquement comparables, suggérant que l'huile essentielle n'a pas modifié la solubilité initiale des substrats.

Tableau 14 : Comparaison des paramètres de fermentation pour différents types d'échantillons et doses d'huile essentielle (*Mentha suaveolens* Ehrh.).

Type d'échantillon	Dose ($\mu\text{L/L}$)	a (ml/200 mg MS)	b (ml/200 mg MS)	c (h^{-1})
Cladodes	0	2,28 ^a	75,0 ^a	0,0898 ^a
	50	2,57 ^a	74,9 ^a	0,0909 ^a
	100	1,69 ^a	79,6 ^a	0,0891 ^a
	150	0,989 ^a	67,7 ^a	0,0909 ^a
	300	1,15 ^a	75,9 ^a	0,0935 ^a
Écorces	0	1,23 ^a	67,5 ^{ab}	0,0985 ^a
	50	1,38 ^a	63,9 ^{ab}	0,0917 ^a
	100	2,76 ^a	57,0 ^{ab}	0,0799 ^a
	150	0,468 ^a	64,6 ^{ab}	0,115 ^a
	300	1,44 ^a	65,2 ^{ab}	0,0835 ^a
Tourteaux	0	0,639 ^a	49,5 ^b	0,0603 ^b
	50	-0,283 ^a	48,4 ^b	0,0686 ^b
	100	-0,694 ^a	62,1 ^b	0,0542 ^b
	150	0,708 ^a	37,7 ^b	0,0631 ^b
	300	0,412 ^a	28,6 ^b	0,0674 ^b

Les moyennes ayant des lettres en exposant différentes à l'intérieur d'une colonne sont significativement différentes (valeur $p < 0,05$).

➤ Fraction potentiellement fermentescible (b)

Des différences significatives ont été observées pour la fraction potentiellement fermentescible (**b**) entre les types d'échantillons. Les cladodes ont maintenu des valeurs élevées de **b**, indiquant une meilleure fermentabilité par rapport aux autres sous-produits. Les écorces ont présenté des valeurs intermédiaires (**ab**), tandis que les tourteaux ont affiché les valeurs les plus faibles (**b**), traduisant une fermentabilité réduite. Cette observation est particulièrement marquée aux doses élevées de 150 et 300 $\mu\text{L/L}$, où la fraction fermentescible (**b**) des tourteaux diminue fortement, passant de 49.5 ml/200 mg MS à 28.6 ml/200 mg MS.

➤ Taux de production de gaz (c)

Le taux de production de gaz (**c**) a également montré des différences significatives entre les échantillons. Les cladodes et les écorces ont maintenu des valeurs similaires, suggérant un processus de fermentation plus rapide par rapport aux tourteaux, qui ont affiché des valeurs significativement plus faibles (**b**). Cela indique que la vitesse de fermentation des tourteaux est plus lente, ce qui peut être attribué à leur composition chimique moins propice à la fermentation microbienne.

➤ Effet des doses d'huile essentielle

L'ajout d'huile essentielle n'a pas induit de modifications significatives sur la fraction immédiatement soluble (**a**), la fraction potentiellement fermentescible (**b**) ou le taux de production de gaz (**c**), comme l'indiquent les lettres de significativité similaires à travers toutes les doses ($p > 0,05$). Bien que les valeurs tendent à diminuer aux doses élevées, cette variation reste dans la marge d'erreur expérimentale.

Dans une étude récente, Kholif (2024) a examiné l'ajout d'huile essentielle de laurier dans des rations ovines et a conclu que, bien que la fermentation ruminale ne soit pas significativement modifiée, la composition des acides gras volatils pouvait être altérée, ce qui pourrait influencer l'efficacité énergétique de la ration. De même, Dong et al. (2024) ont observé que certaines huiles essentielles favorisent la sélection microbienne, mais leur impact global dépend de la digestibilité des substrats.

Nos résultats montrent que l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh. n'a pas significativement modifié la fermentation ruminale, ce qui peut être attribué à plusieurs facteurs. D'une part, la résistance microbienne aux faibles concentrations utilisées pourrait limiter leur efficacité, comme suggéré par Binuni Rebez et al. (2025). D'autre part, la présence d'une forte proportion de fibres insolubles dans les tourteaux et les écorces pourrait restreindre la diffusion des composés actifs des huiles essentielles, réduisant ainsi leur interaction avec les

microorganismes du rumen (Fidriyanto et al., 2023). Cette hypothèse est appuyée par les travaux de Wang et McAllister (2002), qui ont démontré que l'ajout d'huiles essentielles à des rations riches en fibres n'améliore pas significativement la fermentation. Enfin, Del Valle et al. (2024) ont suggéré que les huiles essentielles ont un effet plus prononcé lorsqu'elles sont combinées à des probiotiques, ce qui pourrait expliquer leur faible efficacité lorsqu'elles sont administrées seules.

Ainsi, bien que certaines tendances soient observées, nos résultats indiquent que la composition chimique des sous-produits influence davantage la fermentation que l'ajout d'huiles essentielles. Le tableau 15 ci-dessous synthétise ces résultats, mettant en évidence les différences significatives observées entre les échantillons analysés.

Ces résultats confirment que les tourteaux, en raison de leur teneur élevée en lignine et en fibres insolubles, ont une fermentabilité réduite, ce qui limite leur utilisation dans l'alimentation des petits ruminants. En revanche, les cladodes, grâce à leur teneur plus élevée en glucides solubles, montrent les meilleures performances fermentaires. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Cherif et al. (2022) et Macheboeuf et al. (2008), qui ont souligné l'impact des caractéristiques physiques des substrats sur leur dégradabilité par la microflore ruminale.

Tableau 15 : Effet de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* Ehrh. sur les paramètres de fermentation des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*.

Type d'échantillon	Paramètre a (ml/200 mg MS)	Groupe	Paramètre b (ml/200 mg MS)	Groupe	Paramètre c (h ⁻¹)	Groupe
Cladodes	1,74 ± 0,71	a	74,62 ± 4.32	a	0,0908 ± 0,0017	a
Écorces	1,46 ± 0,83	a	63,64 ± 3.98	ab	0,0937 ± 0,0143	a
Tourteaux	0,16 ± 0,63	a	45,26 ± 12,71	b	0,0627 ± 0,0055	b

II.5.2. Pour l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

II.5.2.1. Test de Friedman

Un test de Friedman a été appliqué pour comparer les trois types d'échantillons en fonction des paramètres de fermentation sous l'effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Les résultats sont présentés dans le tableau 16 suivant :

Tableau 16 : Résultats du test de Friedman pour les paramètres de fermentation sous l'effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

Paramètre	Statistique	df	p-value	Significativité
a (ml/200 mg MS)	10,0	2	0,00674	**
b (ml/200 mg MS)	8,4	2	0,0150	*
c (h⁻¹)	8,4	2	0,0150	*

Statistique : Valeur de la statistique de Test de Friedman ; df : Degrés de liberté ; p-value : Niveau de significativité ; NS : Non significatif (p-value > 0,05) ; * : Significatif (p-value < 0,05) ; ** : Différence hautement significative (p-value < 0,01).

Les résultats du test de Friedman montrent des différences significatives pour tous les paramètres de fermentation (tableau 16). Contrairement à *Mentha suaveolens* Ehrh., qui n'a pas influencé la fraction immédiatement soluble (a), *Rosmarinus officinalis* a induit un effet hautement significatif sur cette fraction (p = 0,00674).

Ce résultat est en accord avec les travaux de Elazab et al. (2024), qui ont démontré que le romarin améliore la solubilité initiale des substrats grâce à ses composés phénoliques aux propriétés antimicrobiennes et enzymatiques.

II.5.2.2. Comparaison post-hoc (Test de Dunn avec correction de Bonferroni)

Les résultats du test de Friedman indiquent que *Rosmarinus officinalis* influence particulièrement la solubilité initiale des substrats (p = 0,00674), ce qui suggère un rôle potentiel dans l'amélioration de la phase précoce de fermentation. Cependant, pour évaluer son impact global sur la fermentation ruminale, une analyse post-hoc détaillée a été réalisée (tableaux 17, 18 et 19).

Tableau 17 : Résultats du test de Dunn pour la comparaison de la fraction immédiatement soluble (a) avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

Comparaison	Z	P non-ajusté	P ajusté	Significativité
Cladodes - Écorces	1,555635	0,11979	0,35938	NS
Cladodes - Tourteaux	3,323402	0,00089	0,00267	**
Écorces - Tourteaux	1,767767	0,07710	0,23130	NS

Tableau 18 : Résultats du test de Dunn pour la comparaison de la fraction potentiellement fermentescible (b) avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

Comparaison	Z	P non-ajusté	P ajusté	Significativité
Cladodes - Écorces	0,9192388	0,35797	1,00000	NS
Cladodes - Tourteaux	3,1112698	0,00186	0,00559	**
Écorces - Tourteaux	2,1920310	0,02838	0,08513	NS

Tableau 19 : Résultats du test de Dunn pour la comparaison du taux de production de gaz (c) avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

Comparaison	Z	P non-ajusté	P ajusté	Significativité
Cladodes - Écorces	0,3535534	0,72367	1,00000	NS
Cladodes - Tourteaux	2,8284271	0,00468	0,01403	*
Écorces - Tourteaux	2,4748737	0,01333	0,03998	*

Z : Valeur du score Z du test de Dunn, indiquant l'écart entre les groupes comparés ; P non-ajusté : Valeur p-value initiale obtenue avant correction ; P ajusté : Valeur p-value corrigée en utilisant la méthode de Bonferroni ; NS : Non significatif (p-value > 0,05) ; * : Différence significative (p-value < 0,05) ; ** : Différence hautement significative (p-value < 0,01).

Les analyses post-hoc réalisées à l'aide du test de Dunn (tableaux 17, 18 et 19) confirment que les tourteaux présentent des valeurs significativement plus faibles pour la fraction immédiatement soluble (a), la fraction potentiellement fermentescible (b) et le taux de production de gaz (c) ($p < 0,05$). Ces résultats sont consolidés par les données complémentaires présentées dans les tableaux 20 et 21.

Cela met en évidence le rôle limitant de la lignine sur la digestibilité des sous-produits, un phénomène également rapporté par Wandscheer et al. (2024). Ces auteurs ont montré que l'efficacité des huiles essentielles est plus marquée dans des régimes équilibrés en énergie et en fibres fermentescibles, ce qui pourrait expliquer pourquoi, malgré une amélioration de la

solubilité initiale, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* n'a pas induit d'augmentation significative de la fermentation chez les tourteaux.

Bien que *Rosmarinus officinalis* ait un effet plus marqué sur la fraction immédiatement soluble, la fraction potentiellement fermentescible (b) et le taux de production de gaz (c) restent comparables à ceux obtenus avec *Mentha suaveolens* Ehrh.. Cela suggère que l'impact du romarin se limite à la première phase de digestion et ne se traduit pas par une augmentation significative de la fermentation globale.

II.5.2.3. Analyse des paramètres de fermentation selon les types d'échantillons et les doses d'huile essentielle

Les paramètres de fermentation ont été comparés selon les types d'échantillons et les doses d'huile essentielle appliquées, comme présenté dans le tableau suivant :

Tableau 20 : Comparaison des paramètres de fermentation pour différents types d'échantillons et doses d'huile essentielle (*Rosmarinus officinalis*).

Type d'échantillon	Dose (µL/L)	a (ml/200 mg MS)	b (ml/200 mg MS)	c (h ⁻¹)
Cladodes	0	2,72 ^a	75,31 ^a	0,09 ^a
	50	2,32 ^a	75,81 ^a	0,10 ^a
	100	2,33 ^a	79,99 ^a	0,09 ^a
	150	6,06 ^a	62,53 ^a	0,08 ^a
	300	2,79 ^a	65,79 ^a	0,10 ^a
Écorces	0	1,47 ^{ab}	67,71 ^{ab}	0,10 ^a
	50	1,77 ^{ab}	70,97 ^{ab}	0,09 ^a
	100	1,24 ^{ab}	57,95 ^{ab}	0,08 ^a
	150	2,61 ^{ab}	59,99 ^{ab}	0,07 ^a
	300	0,82 ^{ab}	70,31 ^{ab}	0,09 ^a
Tourteaux	0	1,11 ^b	49,36 ^b	0,06 ^b
	50	0,26 ^b	50,14 ^b	0,06 ^b
	100	-0,20 ^b	42,56 ^b	0,06 ^b
	150	0,08 ^b	47,82 ^b	0,06 ^b
	300	0,21 ^b	43,14 ^b	0,06 ^b

Bien que *Rosmarinus officinalis* ait influencé certains paramètres fermentaires (tableaux 14 et 21), aucune interaction significative entre les doses et les sous-produits n'a été observée ($p > 0,05$), confirmant ainsi la dépendance des huiles essentielles à la composition du substrat (Garcia et al., 2020 ; Torres et al., 2020).

Cette absence d'effet est cohérente avec les résultats obtenus avec *Mentha suaveolens* Ehrh., confirmant que l'efficacité des huiles essentielles dépend fortement de la composition du substrat (Garcia et al., 2020 ; Torres et al., 2020).

Les résultats de Dorantes-Iturbide et al. (2022) indiquent que les huiles essentielles ont une efficacité réduite dans des substrats riches en lignine. Fidriyanto et al. (2023) ont suggéré que la teneur élevée en fibres limite l'action des huiles essentielles en empêchant leur diffusion et interaction avec les microorganismes du rumen.

Tableau 21 : Effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. sur les paramètres de fermentation des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*.

Type d'échantillon	Paramètre a (ml/200 mg)	Groupe	Paramètre b (ml/200 mg)	Groupe	Paramètre c (h^{-1})	Groupe
Cladodes	$3,24 \pm 1,58$	a	$71,88 \pm 7,55$	a	$0,0937 \pm 0,0068$	a
Écorces	$1,58 \pm 0,67$	ab	$65,38 \pm 5,85$	ab	$0,0867 \pm 0,0118$	a
Tourteaux	$0.29 \pm 0,47$	b	$46,60 \pm 3,52$	b	$0,0568 \pm 0,0011$	b

II.6. Comparaison globale entre les effets de *Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis* sur la fermentation des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*

Afin d'évaluer de manière globale les effets des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis* sur la fermentation ruminale des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*, deux analyses statistiques ont été appliquées. Tout d'abord, un test de Mann-Whitney a été utilisé pour comparer la fraction immédiatement soluble (a), la fraction potentiellement fermentescible (b) et le taux de production de gaz (c) entre les deux huiles essentielles. Ensuite, une analyse de variance alignée sur les rangs (ANOVA ART) a été réalisée afin d'examiner l'effet principal de trois facteurs : la dose d'huile essentielle, le type d'échantillon et l'huile essentielle elle-même, ainsi que leurs interactions potentielles. Les résultats de ces analyses sont présentés dans les tableaux 22 et 23.

Tableau 22 : Résultats du test de Mann-Whitney pour la comparaison entre *Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis*.

Paramètres	Dose (µL/L)	p-value	Signification
Fraction immédiatement soluble (a)	0	0,700	NS
	50	1,000	NS
	100	1,000	NS
	150	0,700	NS
	300	1,000	NS
Fraction potentiellement fermentescible (b)	0	0,900	NS
	50	0,800	NS
	100	0,750	NS
	150	1,000	NS
	300	0,850	NS
Taux de production de gaz (c)	0	0,680	NS
	50	0,900	NS
	100	0,950	NS
	150	0,730	NS
	300	0,880	NS

NS : Non significatif (p-value>0,05)

Tableau 23 : Résultats de l'ANOVA ART pour l'évaluation des interactions entre Dose, Type d'échantillon et Huiles essentielles.

Paramètres	Source	Df	Df.res	Valeur F	p-value	Signification
Fraction immédiatement soluble (a)	Dose	4	20	0,182	0,945	NS
	Huile	1	20	1,110	0,305	NS
	Dose × Huile	4	20	0,371	0,827	NS
Fraction potentiellement fermentescible (b)	Dose	4	20	0,351	0,840	NS
	Huile	1	20	0,067	0,798	NS
	Dose × Huile	4	20	0,117	0,975	NS
Taux de production de gaz (c)	Dose	4	20	0,489	0,744	NS
	Huile	1	20	0,254	0,620	NS
	Dose × Huile	4	20	0,318	0,863	NS

Df : Degrés de liberté ; Df.res : Degrés de liberté résiduels ; NS : Non significatif (p > 0,05) ; Les valeurs de F et p ont été arrondies à trois décimales pour plus de clarté.

➤ **Effet des huiles essentielles sur la fraction immédiatement soluble (a)**

L'analyse globale, basée sur les tests de Mann-Whitney et l'ANOVA ART (tableaux 22 et 23), indique qu'il n'existe pas de différence significative entre *Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis* pour la fraction immédiatement soluble ($p > 0,05$). Cependant, une analyse plus détaillée via le test de Friedman (section 2.4.2.1) a révélé une différence significative pour *Rosmarinus officinalis* ($p = 0,00674$), suggérant que cette huile essentielle a influencé la solubilité de certains substrats spécifiques tels que les tourteaux, les écorces et les cladodes.

Cette observation pourrait être expliquée par la composition chimique de *Rosmarinus officinalis*, qui contient une forte proportion de monoterpénoïdes de type camphane et pinane (figure 20). Ces composés sont connus pour leurs propriétés surfactantes et antimicrobiennes (Elazab et al., 2024) et pourraient modifier la structure des parois cellulaires végétales, facilitant ainsi la solubilisation de certains composants (Fidriyanto et al., 2023). Toutefois, cet effet semble limité à des échantillons spécifiques et disparaît lorsqu'on considère l'ensemble des sous-produits, comme le confirment les résultats globaux des tests de Mann-Whitney et de l'ANOVA ART (tableaux 22 et 23).

➤ **Effet des huiles essentielles sur la fraction potentiellement fermentescible (b) et le taux de production de gaz (c)**

L'analyse statistique ne met en évidence aucune différence significative entre *Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis* pour la fraction potentiellement fermentescible (b) et le taux de production de gaz (c) ($p > 0,05$, tableaux 22 et 23). Ces résultats suggèrent que les huiles essentielles n'influencent pas la capacité fermentescible des sous-produits, ce qui est en accord avec les conclusions de et Torres et al. (2020). Cet auteur a montré que l'effet des huiles essentielles est généralement limité dans les régimes alimentaires riches en lignine, en raison de la faible accessibilité des microorganismes aux fractions digestibles.

➤ **Implications et comparaison avec les résultats précédents**

Les résultats obtenus confirment que les tourteaux sont nettement moins fermentescibles que les cladodes et les écorces. Cette faible fermentabilité s'explique par leur teneur élevée en lignine (111,7 g/kg MS), qui forme une barrière physique limitant l'accès des microorganismes aux fractions digestibles et réduisant ainsi la production de gaz (Owens et Basalan, 2016). Ces observations sont en accord avec les travaux de Cherif et al. (2022) et Macheboeuf et al. (2008), qui ont montré que la présence de fibres insolubles en grande quantité entraîne une diminution significative de la fermentabilité des substrats.

II.7. Analyse en Composantes Principales (ACP) des effets des huiles essentielles sur la fermentation des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica*

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a été réalisée afin d'explorer les interactions entre les doses d'huiles essentielles (*Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis*), les paramètres de fermentation (a, b, c) et les caractéristiques nutritionnelles des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (énergie métabolisable - EM, digestibilité de la matière organique - dMO, énergie nette lait - ENL, acides gras volatils - AGV). Cette approche statistique a permis d'identifier les variables qui influencent le plus la variabilité des échantillons et d'évaluer si les huiles essentielles exercent un impact structurant sur ces paramètres.

L'ACP a été appliquée sur la matrice des corrélations avec normalisation des variables. L'interprétation des composantes principales s'est basée sur la variance expliquée et la structure des corrélations entre les différentes variables, permettant ainsi d'identifier les dimensions les plus pertinentes pour l'analyse des résultats.

Les résultats de cette analyse sont illustrés par trois représentations graphiques principales. Le cercle des corrélations (figure 26) met en évidence les relations entre les différentes variables étudiées. La heatmap des contributions (figure 27) montre l'importance relative de chaque variable dans la construction des axes principaux. Enfin, la projection des individus sur les axes principaux (figures 28) permet d'analyser la répartition des échantillons en fonction des huiles essentielles appliquées et des types de sous-produits, offrant ainsi une vision plus globale des tendances observées.

La figure 26 illustre les relations entre les paramètres de fermentation (a, b, c) et les caractéristiques nutritionnelles des sous-produits (énergie métabolisable - EM, digestibilité de la matière organique - dMO, énergie nette lait - ENL, acides gras volatils - AGV) en fonction des axes principaux de l'Analyse en Composantes Principales (ACP), Dim1 et Dim2.

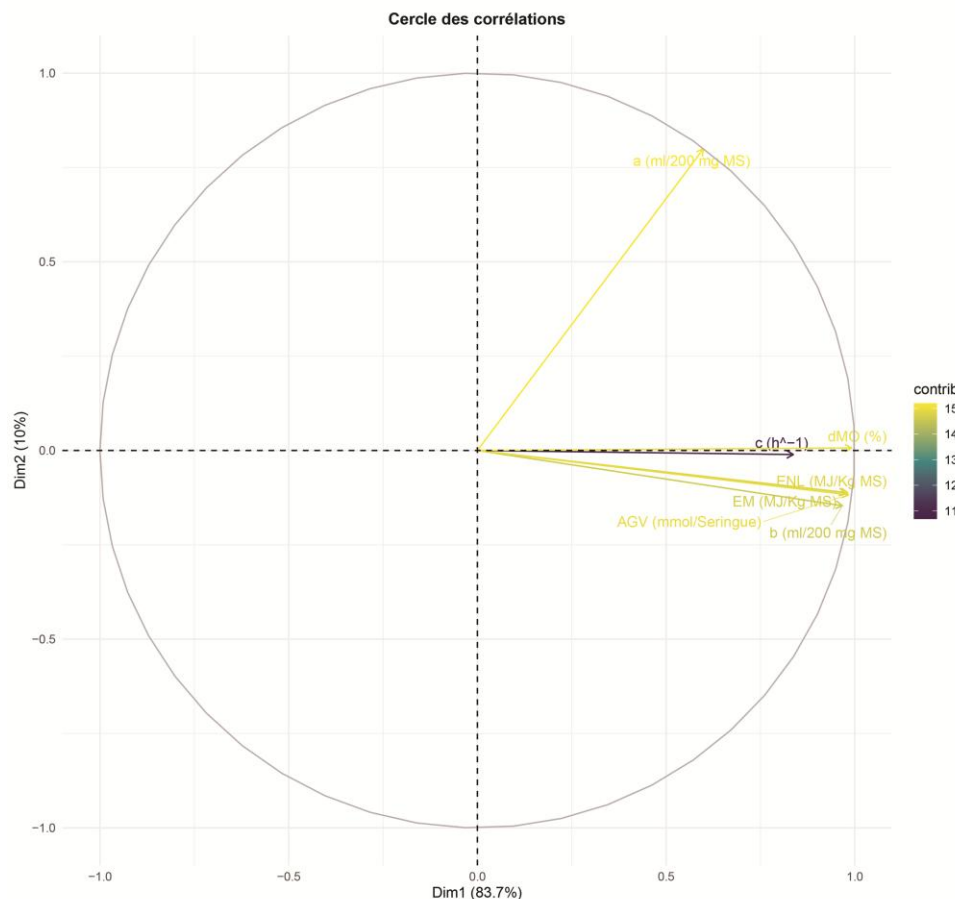


Figure 26. Cercle des corrélations des variables étudiées.

L'axe Dim1, qui explique 83,7 % de la variance des données, est principalement influencé par la fraction potentiellement fermentescible (b), le taux de production de gaz (c) et les caractéristiques nutritionnelles (EM, ENL, AGV, dMO). Ces variables jouent un rôle déterminant dans la différenciation des échantillons. En revanche, l'axe Dim2, qui contribue à 10 % de la variance, est fortement corrélé à la fraction immédiatement soluble (a), suggérant une influence plus spécifique sur cet aspect des sous-produits.

Cette représentation met en évidence une forte association entre la digestibilité des sous-produits et leurs paramètres de fermentation, confirmant leur rôle clé dans la variabilité des échantillons.

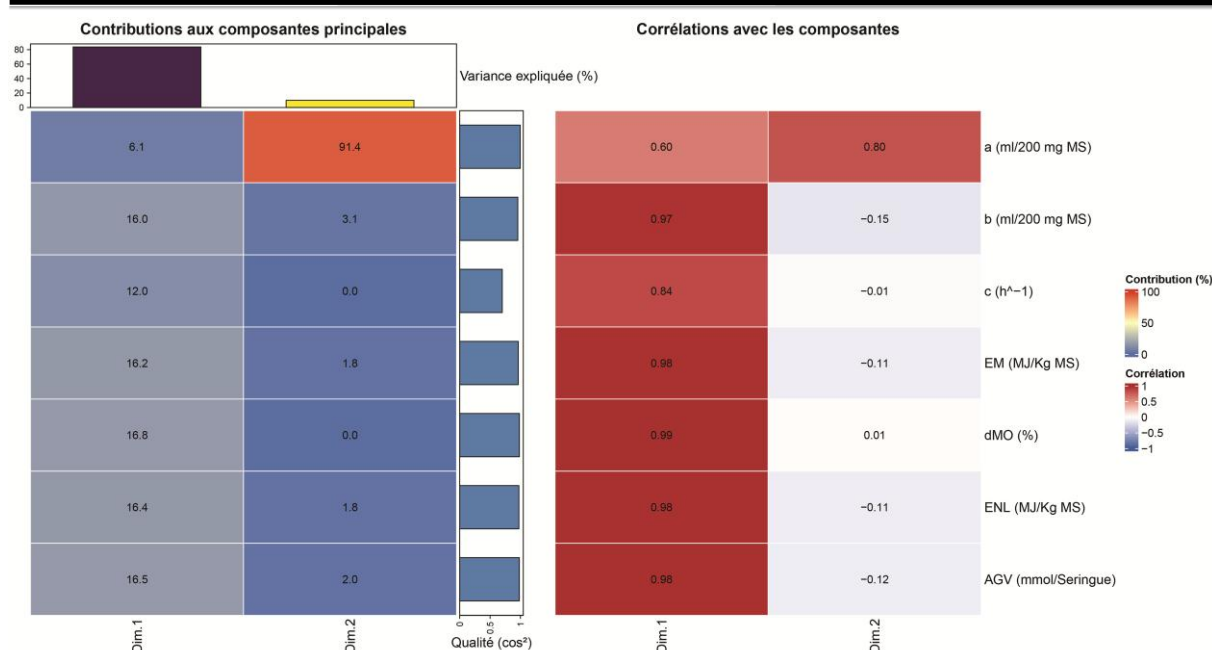


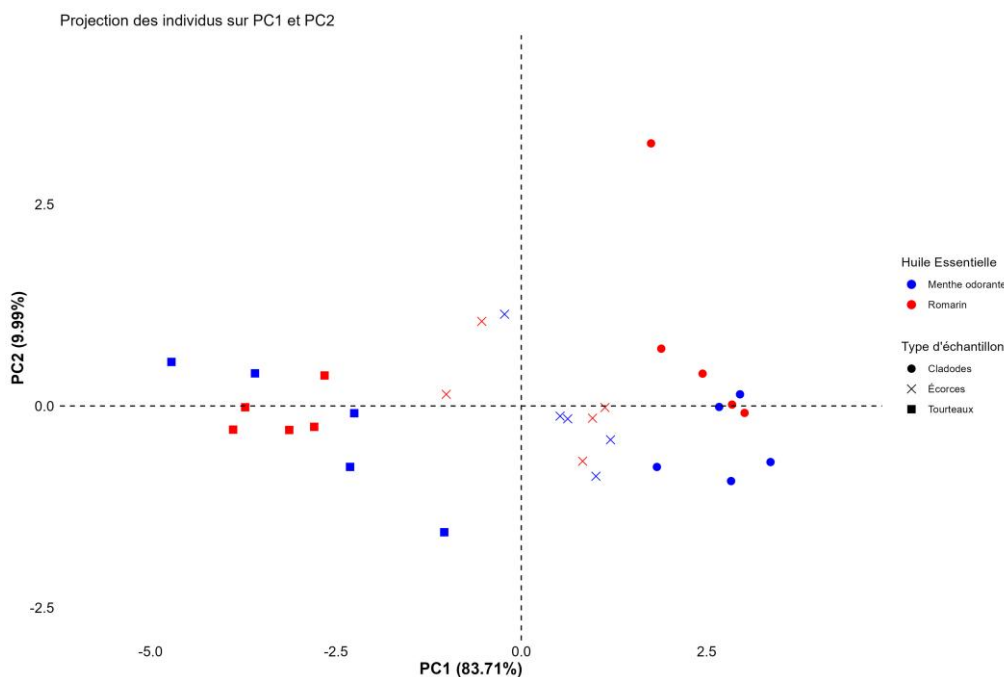
Figure 27. Heatmap des contributions des variables aux axes principaux.

La figure 27 met en évidence l'importance relative de chaque variable dans la construction des axes principaux de l'Analyse en Composantes Principales (ACP). La fraction immédiatement soluble (a) se distingue comme la variable la plus influente sur Dim2, avec une contribution de 91,4 %, ce qui signifie qu'elle joue un rôle particulièrement discriminant sur cet axe. En revanche, Dim1 est principalement structuré par la fraction potentiellement fermentescible (b), le taux de production de gaz (c) et les caractéristiques nutritionnelles des sous-produits (EM, ENL, AGV, dMO), indiquant que ces facteurs sont les principaux moteurs de différenciation entre les échantillons.

La corrélation entre la fraction immédiatement soluble (a) et Dim2 est élevée (0,80), confirmant son importance spécifique sur cet axe. Par ailleurs, la variance totale expliquée par Dim1 et Dim2 atteint 93,7 %, ce qui indique que ces deux dimensions résument l'essentiel de l'information contenue dans les données et permettent une interprétation fiable des tendances observées.

La figures 28 illustre la répartition des échantillons en fonction de leur type (cladodes, écorces, tourteaux) et de l'huile essentielle appliquée (*Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis*). L'analyse montre que les tourteaux sont positionnés à l'extrême gauche de PC1, ce qui confirme leur faible digestibilité et fermentabilité, probablement en raison de leur teneur élevée en lignine, qui limite l'accès des microorganismes aux fractions digestibles.

En revanche, les cladodes et les écorces présentent une distribution plus homogène, traduisant une variabilité plus importante selon leurs caractéristiques nutritionnelles et l'effet potentiel des huiles essentielles. Cette dispersion suggère que d'autres facteurs, tels que la composition en fibres et en glucides solubles, influencent davantage leur fermentabilité.



Figures 28. Projection des individus sur PC1 et PC2.

Enfin, l'absence de séparation nette entre les huiles essentielles, visible par le mélange des points rouges et bleus, indique un effet limité de ces dernières sur la structuration des échantillons. Cette observation pourrait s'expliquer par la forte variabilité intrinsèque des sous-produits, en particulier leur richesse en lignine et leur fermentabilité naturelle, qui semblent jouer un rôle prépondérant par rapport à l'influence des huiles essentielles.

➤ Effet des huiles essentielles sur la fermentation et la digestibilité des sous-produits

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a mis en évidence que la variabilité des échantillons est principalement influencée par la fraction potentiellement fermentescible (b) et les caractéristiques nutritionnelles des sous-produits, notamment l'énergie métabolisable (EM), l'énergie nette lait (ENL), les acides gras volatils (AGV) et la digestibilité de la matière organique (dMO). Ces résultats suggèrent que la digestibilité intrinsèque des sous-produits constitue un facteur déterminant dans la fermentation ruminale, indépendamment de l'huile essentielle appliquée (Fidriyanto et al., 2023).

En revanche, la fraction immédiatement soluble (a) est fortement corrélée à Dim2, ce qui indique qu'elle joue un rôle spécifique mais moins influent dans la dynamique globale de la fermentation. Son impact semble être plus localisé à certaines dimensions de variabilité plutôt qu'à l'ensemble du processus fermentaire.

➤ **Comparaison entre *Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis***

Contrairement aux attentes initiales, les huiles essentielles n'ont pas induit de séparation nette des échantillons sur les axes de l'ACP (figures 28). Les points représentant *Rosmarinus officinalis* (rouge) et *Mentha suaveolens* Ehrh. (bleu) apparaissent largement superposés, suggérant **l'absence d'un effet différenciant marqué** de ces huiles sur les paramètres de fermentation.

Cette observation est en accord avec les conclusions de Torres et al. (2020), qui ont montré que les huiles essentielles ont un effet limité lorsque les substrats sont riches en lignine et en fibres insolubles. Il est probable que la structure des sous-produits, en particulier leur composition en fibres et en composants non digestibles, joue un rôle prédominant dans la dynamique fermentaire, masquant ainsi l'influence potentielle des huiles essentielles.

Conclusion

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis* sur la fermentation ruminale des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* (cladodes, écorces et tourteaux). Nos résultats montrent que, bien que certaines tendances aient été observées, notamment une légère influence du *Rosmarinus officinalis* sur la solubilité initiale des substrats, les huiles essentielles n'ont pas significativement modifié les paramètres de fermentation, en particulier la fraction fermentescible et le taux de production de gaz.

Ces observations suggèrent que la composition chimique et la structure physique des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* jouent un rôle prépondérant dans leur fermentabilité, dépassant l'influence potentielle des huiles essentielles. Plus précisément, la faible digestibilité des tourteaux, due à leur teneur élevée en lignine, a limité leur dégradation microbienne et leur contribution énergétique dans la fermentation. Ces résultats sont en accord avec les études antérieures qui soulignent l'effet restrictif des fibres insolubles sur la fermentation ruminale.

Cependant, cette étude présente certaines limites. L'absence d'un effet marqué des huiles essentielles pourrait être liée à leur mode d'administration et à la concentration utilisée, suggérant la nécessité d'investiguer d'autres dosages ou formulations, notamment sous forme encapsulée, pour améliorer leur biodisponibilité dans le rumen. De plus, la diversité microbienne du rumen et ses interactions avec les huiles essentielles n'ont pas été explorées dans cette étude et mériteraient une attention particulière dans les recherches futures.

D'un point de vue appliqué, ces résultats indiquent que l'incorporation d'huiles essentielles seules ne suffit pas à améliorer la valorisation des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* en alimentation animale. Une approche combinée, associant huiles essentielles et enzymes fibrolytiques ou probiotiques, pourrait être une stratégie plus efficace pour optimiser la digestibilité et l'utilisation énergétique de ces sous-produits.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'étude menée dans cette thèse met en évidence l'intérêt des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* en tant que ressources alternatives pour l'alimentation animale, tout en explorant l'impact des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* Ehrh. et *Rosmarinus officinalis* sur leur fermentation ruminale. À travers une approche pluridisciplinaire combinant analyses chimiques, métabolomiques et tests de fermentation *in vitro*, nos résultats apportent un éclairage nouveau sur les potentialités et les limites de ces biomasses végétales dans le contexte de la nutrition des petits ruminants.

L'analyse chimique des sous-produits a révélé une diversité de métabolites secondaires, dont certains présentent un potentiel nutritionnel et fonctionnel intéressant. Les cladodes et tourteaux, riches en acides gras, pourraient être intégrés dans des rations animales avec un effet bénéfique sur la balance énergétique. En revanche, la forte teneur en lignine des tourteaux pose un défi majeur à leur digestibilité. Par ailleurs, la présence de composés bioactifs tels que les stéroïdes et terpènes dans les écorces pourrait ouvrir des perspectives de valorisation dans les industries pharmaceutique et cosmétique, suggérant un modèle de bioraffinerie intégrée où chaque fraction de la plante trouve une application spécifique.

L'évaluation des huiles essentielles a montré que, bien qu'elles possèdent des propriétés bioactives reconnues, leur impact direct sur la fermentation ruminale des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* demeure limité. L'absence d'un effet significatif sur les paramètres de fermentation pourrait être attribuée à leur mode d'administration ou à leur concentration, suggérant la nécessité d'une optimisation des formulations, notamment via des technologies d'encapsulation pour améliorer leur biodisponibilité. De plus, les interactions complexes entre la matrice végétale et le microbiote ruminal doivent être approfondies pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et identifier des stratégies efficaces d'amélioration de la digestibilité.

D'un point de vue appliqué, ces résultats montrent que l'intégration des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* dans l'alimentation animale est une option prometteuse, mais qui nécessite une adaptation des stratégies de transformation et d'incorporation pour maximiser leur valeur nutritive. Une approche combinée, associant ces sous-produits à des additifs naturels tels que des enzymes fibrolytiques, des probiotiques ou encore des mélanges spécifiques d'huiles essentielles, pourrait constituer une voie d'optimisation viable.

En conclusion, cette thèse constitue une avancée significative dans la compréhension du potentiel des sous-produits d'*Opuntia ficus-indica* pour une exploitation durable en alimentation des petits ruminants. Toutefois, elle met également en évidence certaines limites et questionnements qui nécessitent des investigations complémentaires, notamment par le biais d'études *in vivo* sur les effets physiologiques et métaboliques de ces substrats chez les ruminants. Une meilleure intégration des nouvelles technologies analytiques et biotechnologiques permettrait d'affiner ces connaissances et d'optimiser leur valorisation dans une démarche agroécologique durable.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abdnim, R., Ouassou, H., Elrherabi, A., Daoudi, N. E., Berraaouan, A., Legssyer, A., ... & Bnouham, M. (2023). Antioxidant, Antiglycation, Inhibition of Digestive Enzymes and Enhanced Glucose Uptake Activities of *Opuntia ficus indica* L, In Vitro and In Vivo. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(7).
- Aiple, K. P., Steingass, H., & Drochner, W. (1996). Prediction of the net energy content of raw materials and compound feeds for ruminants by different laboratory methods. *Archives of Animal Nutrition*, 49(3), 213-220.
- Akacha, A., Rebai, T., Zourgui, L., & Amri, M. (2018). Preventive effect of ethanolic extract of cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes on methotrexate-induced oxidative damage of the small intestine in Wistar rats. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 14(Suppl 3), S779-S784.
- Alabi, J. O., Anotaeuwe, C. C., Adelusi, O. O., Wuaku, M., Oderinwale, O. A., Enikuomihin, J. M., ... & Anele, U. Y. (2024a). PSX-21 Supplementing essential oil blend and fumaric acid in calf feed influenced rumen fermentation and greenhouse gases emission. *Journal of Animal Science*, 102(Supplement_3), 751-752.
- Alabi, J. O., Wuaku, M., Anotaeuwe, C. C., Okedoyin, D. O., Adelusi, O. O., Ike, K. A., ... & Anele, U. Y. (2024b). A Mixture of Prebiotics, Essential Oil Blends, and Onion Peel Did Not Affect Greenhouse Gas Emissions or Nutrient Degradability, but Altered Volatile Fatty Acids Production in Dairy Cows Using Rumen Simulation Technique (RUSITEC). *Fermentation*, 10(6), 324.
- Alghamdi, A., Alshehri, W., Sajer, B., Ashkan, M., Ashy, R., Gashgari, R., & Hakmi, H. (2023). Biological Activities and GC-MS Analysis of *Aloe vera* and *Opuntia ficus-indica* Extracts. *Journal of Chemistry*, 2023(1), 6504505.
- Alqurashi, A. S., Al Masoudi, L. M., Hamdi, H., & Abu Zaid, A. (2022). Chemical composition and antioxidant, antiviral, antifungal, antibacterial and anticancer potentials of *Opuntia ficus-indica* seed oil. *Molecules*, 27(17), 5453.
- Amrouni Sais, H. (2019). Étude du marché et de la chaîne de valeur de la figue de barbarie en Algérie (TCP/ALG/3702). Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO).
- Andreu, L., Nuncio-Jáuregui, N., Carbonell-Barrachina, Á. A., Legua, P., & Hernández, F. (2018). Antioxidant properties and chemical characterization of Spanish *Opuntia ficus-indica* Mill. cladodes and fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(4), 1566-1573.
- Arvaniti, O. S., Samaras, Y., Gatidou, G., Thomaidis, N. S., & Stasinakis, A. S. (2019). Review on fresh and dried figs: Chemical analysis and occurrence of phytochemical compounds, antioxidant capacity and health effects. *Food Research International*, 119, 244-267.
- Aufrère, J., & Michalet-Doreau, B. (1988). Comparison of methods for predicting digestibility of feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 20, 203-218.

- Aufrère, J., & Cartailier, D. (1988). Mise au point d'une méthode de laboratoire de prévision de la dégradabilité des protéines alimentaires des aliments concentrés dans le rumen. *Ann. Zootech.*, 37, 255-270.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- Barone, R. (1996). Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 3 : Splanchnologie I - Appareil digestif, Appareil respiratoire (4e éd.). Baronne. ISBN 978-2711490462.
- Barry, T. N., Thompson, A., & Armstrong, D. G. (1977). Rumen fermentation studies on two contrasting diets. 1. Some characteristics of the in vivo fermentation, with special reference to the composition of the gas phase, oxidation/reduction state and volatile fatty acid proportions. *The Journal of Agricultural Science*, 89(1), 183-195.
- Bauman, D. E., Baumgard, L. H., Corl, B. A., & Griinari, D. J. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. In *Proceedings of the American Society of Animal Science* (Vol. 77, No. E-Suppl., pp. 1-15). Cornell University.
- Bauman, D. E., & Griinari, J. M. (2001). Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science*, 70(1-2), 15-29.
- Baumgard, L. H., Corl, B. A., Dwyer, D. A., Sæbø, A., & Bauman, D. E. (2000). Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 278(1), R179-R184.
- Bejenaru, L. E., Segneanu, A. E., Bejenaru, C., Biță, A., Tuțulescu, F., Radu, A., ... & Mogoșanu, G. D. (2025). Seasonal Variations in Chemical Composition and Antibacterial and Antioxidant Activities of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil from Southwestern Romania. *Applied Sciences*, 15(2), 681.
- Belbachir, Y., El Farissi, H., Dahmouny, M. E., Choukoud, A., Beraich, A., Bellaouchi, R., ... & Talhaoui, A. (2025). *Rosmarinus Officinalis*: A Molecular Perspective on its Therapeutic Potential with ADMET Insights. *Moroccan Journal of Chemistry*, 13(1), 459-481.
- Belhadj Slimen, I., Najar, T., & Abderrabba, M. (2021). Bioactive compounds of prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. Bioactive compounds in underutilized vegetables and legumes, 171-209.
- Benchaa, C., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Beauchemin, K. A., & McAllister, T. A. (2007). Effects of essential oils and their components on in vitro rumen microbial fermentation. *Canadian journal of animal science*, 87(3), 413-419.
- Benchaa, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Colombatto, D., McAllister, T. A., & Beauchemin, K. A. (2008). A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal feed science and technology*, 145(1-4), 209-228.
- Bennink, M. R., Tyler, T. R., Ward, G. M., & Johnson, D. E. (1978). Ionic milieu of bovine and ovine rumen as affected by diet. *Journal of Dairy Science*, 61(3), 315-323.
- Benteboula, M., Hornick, J. L., Besseboua, O., & Ayad, A. (2023). Effect of Partial Dietary Substitution of Prickly Pear (*Opuntia ficus indica* L.) Seeds Meal on Growth Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chicken. *Veterinarija ir Zootechnika*, 81(1).

- Berger, L. M. (2013). Supplementierung des Flavonols Quercetin bei der Kuh-Bioverfügbarkeit und Beeinflussung der Fermentation (Doctoral dissertation, Christian-Albrechts Universität Kiel).
- Bergman, M. E., Franks, A. E., & Phillips, M. A. (2023). Biosynthesis, natural distribution, and biological activities of acyclic monoterpenes and their derivatives. *Phytochemistry Reviews*, 22(2), 361-384.
- Binuni Rebez, E., Sejian, V., Silpa, M., Kalaignazhal, G., Kalaignazhal, J., Nikhil, K. T., ... & Lacetera, N. (2025). Feed additives supplementation: a potential strategy to ameliorate heat stress in sheep. *ANNALS OF ANIMAL SCIENCE*.
- Blümmel, M., and E.R. Ørskov. (1993). Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 40:109–119.
- Blümmel, M., & Becker, K. (1997). The degradability characteristics of fifty-four roughages and roughage neutral-detergent fibres as described by in vitro gas production and their relationship to voluntary feed intake. *British Journal of Nutrition*, 77(5), 757-768.
- Blümmel, M., H. Steingas, and K. Becker. (1997a). The relationship between in vitro gas production, in vitro microbial biomass yield and ¹⁵N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *Br. J. Nutr.* 77:911–921.
- Blümmel, M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1997b). In vitro gas production: a technique revisited. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 77(1-5), 24-34.
- Blümmel, M., Givens, D. I., & Moss, A. R. (2005). Comparison of methane produced by straw fed sheep in open-circuit respiration with methane predicted by fermentation characteristics measured by an in vitro gas procedure. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 379-390.
- Borchani, M., Yaich, H., Abbès, F., Blecker, C., Besbes, S., Attia, H., & Masmoudi, M. (2021). Physicochemical, functional and antioxidant properties of the major protein fractions extracted from prickly pear (*Opuntia ficus indica* L.) seed cake. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 1749-1760.
- Broberg, G. (1958). Measurement of redox potential in rumen contents. IV. In vivo measurements.
- Broderick, G. A., Wallace, R. J., Ørskov, E. R., & Hansen, L. (1988). Comparison of estimates of ruminal protein degradation by in-vitro and in-situ methods. *J. Anim. Sci.*, 66, 1739-1745.
- Bryant, M. P. (1964). Symposium on microbial digestion in ruminants: Identification of groups of anaerobic bacteria active in ruminal fermentation. *Journal of Animal Science*, 23(3), 1107-1120.
- Bueno, I. C., Brandi, R. A., Franzolin, R., Benetel, G., Fagundes, G. M., Abdalla, A. L., ... & Muir, J. P. (2015). In vitro methane production and tolerance to condensed tannins in five ruminant species. *Animal Feed Science and Technology*, 205, 1-9.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M. D., & Kamel, C. (2005). Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. *Journal of dairy science*, 88(12), 4393-4404.

-
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., & Kamel, C. (2006). Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. *Journal of dairy science*, 89(2), 761-771.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., & Ferret, A. (2007). Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of dairy science*, 90(6), 2580-2595.
- Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A., & Kamel, C. (2005). Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *Journal of animal science*, 83(11), 2572-2579.
- Caroprese, M., Ciliberti, M. G., Marino, R., Santillo, A., Sevi, A., & Albenzio, M. (2023). Essential oil supplementation in small ruminants: A review on their possible role in rumen fermentation, microbiota, and animal production. *Dairy*, 4(3), 497-508.
- Carpena, M., Cassani, L., Gomez-Zavaglia, A., Garcia-Perez, P., Seyyedi-Mansour, S., Cao, H., ... & Prieto, M. A. (2023). Application of fermentation for the valorization of residues from Cactaceae family. *Food Chemistry*, 410, 135369.
- Chaucheyras, F., Fonty, G., Gouet, P., Bertin, G., & Salmon, J. M. (1996). Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell® SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Canadian journal of microbiology*, 42(9), 927-933.
- Cheng, K. J., McCowan, R. P., & Costerton, J. W. (1979). Adherent epithelial bacteria in ruminants and their roles in digestive tract function. *The American journal of clinical nutrition*, 32(1), 139-148.
- Cheng, K. J., McAllister, T. A., Popp, J. D., Hristov, A. N., Mir, Z., & Shin, H. T. (1998). A review of bloat in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 76(1), 299-308.
- Cherif, I., Arbouche, R., Arbouche, Y., Mennani, A., & Arbouche, F. (2022). Dehydrated husks and cake of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) processing for broiler feed: Effects on growth performance, carcass characteristics, and meat quality. *Veterinary World*, 15(3), 551.
- Choudhury, P. K., Salem, A. Z. M., Jena, R., Kumar, S., Singh, R., & Puniya, A. K. (2015). Rumen microbiology: An overview. *Rumen microbiology: from evolution to revolution*, 3-16.
- Church, D. C., 1976. Digestive physiology and nutrition of ruminants. *Digestive physiology*. 2nd Ed. O. et B. Books, Corvallis, Oregon (USA).
- Clarke, R. T. J., 1977. The gut and its micro-organisms. In: Clarke, R. T. J., Bauchop, T. (eds.), *Microbial ecology of the gut*, p 36-71. Academy Press, New York, New York (USA).
- Clauss, M., Schwarm, A., Ortmann, S., Streich, W. J., & Hummel, J. (2007). A case of non-scaling in mammalian physiology? Body size, digestive capacity, food intake, and ingesta passage in mammalian herbivores. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 148(2), 249-265.
- Clauss, M., Hofmann, R. R., Fickel, J., Streich, W. J., & Hummel, J. (2009). The intraruminal papillation gradient in wild ruminants of different feeding types: implications for rumen physiology. *Journal of Morphology*, 270(8), 929-942.

-
- Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M., & Yu, Z. (2016). Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. *Science of the Total Environment*, 545, 556-568.
- Colonna, P., Buléon, A., Leloup, V., Thibault, J. F., Renard, C., Lahaye, M., ... & Journet, M. (1995). Constituants des céréales, des graines, des fruits et de leurs sous-produits. In *Nutrition des ruminants domestiques* (pp. 83-121). INRA Editions, Paris.
- Cone, J. W., van Gelder, A. H., & Driehuis, F. (2002). Description of gas production profiles with a three-phasic model. *Animal Feed Science and Technology*, 98, 41–55.
- Crawford, R. J., Hoover, W. H., Sniffen, C. J., & Crooker, B. A. (1978). Degradation of feedstuff nitrogen in the rumen versus nitrogen solubility in three solvents. *J. Anim. Sci.*, 46, 1768-1775.
- Csardi, G., Nepusz, T. (2006). The igraph software package for complex network research. *InterJournal Complex Syst . Complex Sy*(1695),1695.
- Cuadros-Inostroza, A., Ruíz-Lara, S., González, E., Eckardt, A., Willmitzer, L., & Peña-Cortés, H. (2016). GC–MS metabolic profiling of Cabernet Sauvignon and Merlot cultivars during grapevine berry development and network analysis reveals a stage-and cultivar-dependent connectivity of primary metabolites. *Metabolomics*, 12(2), 39.
- Cuvelier, C., Hornick, J.-L., Beckers, Y., Froidmont, E., Knapp, E., Istasse, L., & Dufrasne, I. (2021). L'alimentation de la vache laitière : Physiologie et besoins. Aliments, calculs de ration, indicateurs d'évaluation des déséquilibres de la ration et pathologies d'origine nutritionnelle. Université de Liège & Centre Wallon de Recherches Agronomiques.
- Czerkawski, J. W., & Breckenridge, G. (1975). New inhibitors of methane production by rumen micro-organisms. Experiments with animals and other practical possibilities. *British Journal of Nutrition*, 34(3), 447-457.
- Dagar, S. S., Kumar, S., Mudgil, P., Singh, R., & Puniya, A. K. (2011). D1/D2 domain of large-subunit ribosomal DNA for differentiation of *Orpinomyces* spp. *Applied and environmental microbiology*, 77(18), 6722-6725.
- Daş, B. D. (2024). The Effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Powder Supplementation on Silage Fermentation Characteristics, Silage Quality, and In Vitro Digestibility in Corn Silage. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 12(2), 305-309.
- De Boever, J. L., Cottyn, B. G., Vanacker, J. M., & Buysse, F. X. (1986). Test of different enzymatic methods on compound feeds. In *CEC Workshop on Methodology of Analysis of Feedingstuffs for Ruminants. European Collaborative Studies on Van Soest and In Vitro Methods*.
- De Visser, H., Huisert, H., Klop, A., & Ketelaar, R. S. (1993). Autumn-cut grass silage as roughage component in dairy cow rations. 2. Rumen degradation, fermentation and kinetics. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 41, 221-221.
- Dehority, B. A. (2003). *Rumen Microbiology*. Nottingham : Nottingham University.

- Delgadillo-Ruiz, L., Bañuelos-Valenzuela, R., Gallegos-Flores, P., Echavarría-Cháirez, F., Meza-López, C., & Gaytán-Saldaña, N. (2021). Modification of ruminal fermentation in vitro for methane mitigation by adding essential oils from plants and terpenoid compounds. *Abanico veterinário*, 11.
- Del Valle, T. A., Facco, F. B., Garcia, T. M., Capucho, E., Campana, M., & Morais, J. P. (2024). Lemongrass essential oil in silage and as a feed additive has limited effect on animals feed intake and rumen fermentation. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 1-12.
- Demeyer, D., & Doreau, M. (1999). Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proceedings of the nutrition society*, 58(3), 593-607.
- Demeyer, D., & Fievez, V. (2000). Ruminants et environnement: la méthanogenèse. In *Annales de Zootechnie* (Vol. 49, No. 2, pp. 95-112). EDP Sciences.
- Dhana, M. S., France, J., Crompton, L. A., Mauricio, R. M., Kebreab, E., Mills, J. A. N., ... & López, S. (2004). A proposed method to determine the extent of degradation of a feed in the rumen from the degradation profile obtained with the in vitro gas production technique using feces as the inoculum. *Journal of animal science*, 82(3), 733-746.
- Dijkstra, J. (1994). Simulation of the dynamics of protozoa in the rumen. *British Journal of Nutrition*, 72(5), 679-699.
- Djabou, N. (2020). Analyse de la Filière Figue de Barbarie en Algérie : Stratégie de Mise en Place d'une Filière Figue de Barbarie en Algérie (TCP/ALG/3702). Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO).
- Dong, X., Chen, J., Zhou, Z., & Hu, R. (2024). Nutrition regulation and stress in ruminant. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1456709.
- Dorantes-Iturbide, G., Orzuna-Orzuna, J. F., Lara-Bueno, A., Mendoza-Martínez, G. D., Miranda-Romero, L. A., & Lee-Rangel, H. A. (2022). Essential oils as a dietary additive for small ruminants: A meta-analysis on performance, rumen parameters, serum metabolites, and product quality. *Veterinary Sciences*, 9(9), 475.
- Duffield, T., Plaizier, J. C., Fairfield, A., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P., ... & McBride, B. (2004). Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 87(1), 59-66.
- Dyce, K. M., Sack, W. O., & Wensing, C. J. G. (2009). *Textbook of veterinary anatomy*. Elsevier Health Sciences.
- European Commission (EC). (2002). Commission Regulation (EC) No 796/2002 of 6 May 2002 amending Regulation (EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-pomace oil and on the relevant methods of analysis and the additional notes in the Annex to Council Regulation (EEC) No 2658/87 on the tariff and statistical nomenclature and on the Common Customs Tariff. *Official Journal of the European Communities*, L 128, pp. 8-28. <http://data.europa.eu/eli/reg/2002/796/oj>
- European Commission (EC). (2003). Regulation N° 1831/2003 of the European parliament and of the council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Off. J. Eur. Union* 2003, L268/229. <http://data.europa.eu/eli/reg/2003/1831/oj>

-
- Elazab, M.A., Zahran, S.M., Elkomy, A.E., Ahmed, M.H. (2024). Performance of Holstein dairy cows fed a diet supplemented with rosemary and ginger essential oils: milk production, milk fatty acid, and ruminal fermentation. *Sciendo*.
- El Hassania, L., Mounime, K., Elbouzidi, A., Taibi, M., Mohamed, C., Abdelkhaleq, L., ... & Fauconnier, M. L. (2024). Analyzing the bioactive properties and volatile profiles characteristics of *Opuntia Dillenii* (Ker Gawl.) Haw: exploring its potential for pharmacological applications. *Chemistry & Biodiversity*, 21(3), e202301890.
- El-Meadaway, A., Mir, Z., Mir, P. S., Zaman, M. S., & Yanke, L. J. (1998). Relative efficacy of inocula from rumen fluid or faecal solution for determining in vitro digestibility and gas production. *Canadian Journal of Animal Science*, 78(4), 673-679.
- El Shaer, H. M., Omed, H. M., Chamberlain, A. G., & Axford, R. F. E. (1987). Use of faecal organisms from sheep for the in vitro determination of digestibility. *The Journal of Agricultural Science*, 109(2), 257-259.
- Evans, J. D., & Martin, S. A. (2000). Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Current microbiology*, 41, 336-340.
- European pharmacopoeia. (2008). European Directorate for the Quality of Medicines. 6 th ed.; Council of Europe, London, UK.
- Faichney, G. J. (1975). The use of markers to partition digestion within the gastrointestinal tract in ruminants. *Digesation and Metabolism in ruminants*.
- Fandiño, I., Fernandez-Turren, G., Ferret, A., Moya, D., Castillejos, L., & Calsamiglia, S. (2020). Exploring additive, synergistic or antagonistic effects of natural plant extracts on in vitro beef feedlot-type rumen microbial fermentation conditions. *Animals*, 10(1), 173.
- Farag, M. A., Maamoun, A. A., Ehrlich, A., Fahmy, S., & Wesjohann, L. A. (2017). Assessment of sensory metabolites distribution in 3 cactus *Opuntia ficus-indica* fruit cultivars using UV fingerprinting and GC/MS profiling techniques. *Lwt*, 80, 145-154.
- Farghaly, M. M., & Abdullah, M. A. M. (2021). Effect of dietary oregano, rosemary and peppermint as feed additives on nutrients digestibility, rumen fermentation and performance of fattening sheep. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 24(3), 365-376.
- Ferre, D., Banjac, M., Calsamiglia, S., Busquet, M., Kamel, C., & Avguštin, G. (2004). The effects of plant extracts on microbial community structure in a rumen-simulating continuous-culture system as revealed by molecular profiling. *Folia Microbiologica*, 49, 151-155.
- Fernandes, F., Delerue-Matos, C., & Grosso, C. (2024). Unveiling the Potential of Agrifood By-products: a Comprehensive Review of Phytochemicals, Bioactivities and Industrial Applications. *Waste and Biomass Valorization*, 1-34.
- Fidriyanto, R., Priadi, G., Ridwan, R., Nahrowi, N., & Jayanegara, A. (2023). Physicochemical, thermal properties, and in vitro rumen fermentation of four different underutilized fruit by-products. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(4).
- Fliegerova, K., Kaerger, K., Kirk, P., & Voigt, K. (2015). Rumen fungi. *Rumen microbiology: from evolution to revolution*, 97-112.

- Focant, M. (1986). Contribution à l'étude du comportement alimentaire des petits ruminants: rôle des acides gras volatils (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Université Catholique de Louvain, Louvain, Belgique).
- Fonty, G., Senaud, J., Jouany, J. P., & Gouet, P. (1988). Establishment of ciliate protozoa in the rumen of conventional and conventionalized lambs: influence of diet and management conditions. *Canadian journal of microbiology*, 34(3), 235-241.
- France, J., Theodorou, M. K., Lowman, L. S., & Beever, D. E. (2000). Feeding systems and feed evaluation models: Feed evaluation for animal production. CABI Publishing.
- Fuller, M. F. (Ed.). (2004). The encyclopedia of farm animal nutrition. CABI publishing.
- Garcia, F., Colombatto, D., Brunetti, M. A., Martínez, M. J., Moreno, M. V., Scorcione Turcato, M. C., ... & Martínez Ferrer, J. (2020). The reduction of methane production in the in vitro ruminal fermentation of different substrates is linked with the chemical composition of the essential oil. *Animals*, 10(5), 786.
- Geishauser, T., & Gitzel, A. (1996). A comparison of rumen fluid sampled by oro-ruminal probe versus rumen fistula. *Small Ruminant Research*, 21(1), 63-69.
- Geron, L. J. V., da Costa, F. G., de Aguiar, S. C., Garcia, J., Ribeiro, M. G., Zeoula, L. M., ... & Silveira, R. M. (2015). Digestibilidade in vitro e in vivo de nutrientes em ovinos para rações contendo ausência ou presença de resíduo da extração da polpa de tamarindo. *Semina: Ciências Agrárias*, 36(6Supl2), 4507-4518.
- Getachew, G., Blümmel, M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1998). In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 72(3-4), 261-281.
- Getachew, G., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2002). Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. *The Journal of Agricultural Science*, 139(3), 341-352.
- Ghasemi, A., & Zahediasl, S. (2012). Normality tests for statistical analysis: a guide for non-statisticians. *International journal of endocrinology and metabolism*, 10(2), 486.
- Giannenas, I., Bonos, E., Christaki, E., & Florou-Paneri, P. (2013). Essential oils and their applications in animal nutrition. *Med. Aromat. Plants*, 2(140), 2167-0412.
- Glasser, F., Schmidely, P., Sauvant, D., & Doreau, M. (2008). Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors: 2. C18 fatty acids. *Animal*, 2(5), 691-704.
- Goering, H. K., & Van Soest, P. J. (1970). Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications) (No. 379). US Agricultural Research Service.
- Golbotteh, M. M., Malecky, M., Aliarabi, H., & Zamani, P. (2024). Impact of oil type and savory plant on nutrient digestibility and rumen fermentation, milk yield, and milk fatty acid profile in dairy cows. *Scientific Reports*, 14(1), 22427.
- Gruninger, R. J., Puniya, A. K., Callaghan, T. M., Edwards, J. E., Youssef, N., Dagar, S. S., ... & Elshahed, M. S. (2014). Anaerobic fungi (phylum Neocallimastigomycota): advances in

understanding their taxonomy, life cycle, ecology, role and biotechnological potential. FEMS microbiology ecology, 90(1), 1-17.

Guendouz, C., Guenane, H., Bakchiche, B., Ascrizzi, R., Flamini, G., Bardaweel, S. K., ... & Ghareeb, M. A. (2024). Chemical composition and biological activities of nine essential oils obtained from Algerian plants. Natural Product Research, 1-10.

Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M. Ü. N. E. V. V. E. R., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A. T. A. L. A. Y., ... & Ozkan, H. İ. C. A. B. İ. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. Food chemistry, 103(4), 1449-1456.

Güney, M., Karaca, S., Erdogan, S., Kor, A., Kale, C., Onalan, S., ... & Bingol, N. T. (2021). Effects of dietary supplementation with rosemary oil on methanogenic bacteria density, blood and rumen parameters and meat quality of fattening lambs. Italian Journal of Animal Science, 20(1), 794-805.

Haddi, M. L., Filacorda, S., Meniai, K., Rollin, F., & Susmel, P. (2003). In vitro fermentation kinetics of some halophyte shrubs sampled at three stages of maturity. Animal Feed Science and Technology, 104(1-4), 215-225.

Harfoot, C. G., and G. P. Hazlewood. (1997). Lipid metabolism in the rumen. Pages 382-426 in the rumen microbial ecosystem. P. N. Hobson, and C. S. Stewart (Ed.), Blackie Academic & Professional, London.

Henderson, G., Cox, F., Ganesh, S., Jonker, A., Young, W., & Janssen, P. H. (2015). Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. Scientific reports, 5(1), 14567.

Henneberg, W., Stohmann, F. (1860). Beiträge zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer: Praktisch-landwirthschaftliche und chemisch-physiologische Untersuchungen ; für Landwirte und Physiologen. Allemagne: Schwetschke.

García, F. H., Coll, L. A., Cano-Lamadrid, M., Lluch, D. L., Barrachina, Á. A. C., & Murcia, P. L. (2020). Valorization of prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill]: Nutritional composition, functional properties and economic aspects. In Invasive species-introduction pathways, economic impact, and possible management options. IntechOpen.

Hofmann, R. R. (1989). Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. Oecologia, 78(4), 443-457.

Hungate, R. E., 1966. The rumen and its microbes. Academic Press, New York and London.

Huntingtont, J. A., & Givens, D. I. (1998). The effect of host diet on the cumulative gas production profile of grass hay and high temperature dried grass. BSAP Occasional Publication, 22, 224-226.

Hurdebise, J., Cuvelier, C., Hornick, J.-L., & Dufrasne, I. (2023). L'alimentation de la vache viandeuse : Physiologie, besoins alimentaires, formulation de rations équilibrées, indicateurs d'évaluation des déséquilibres de la ration, pathologies d'origine nutritionnelle et impact environnemental. Service Public de Wallonie – EDIWALL. ISBN : 978-2-8056-0455-3.

Ibrahim, S. L. (2024). Use of Lipid Encapsulated Tannin to Replace Ionophore in Mitigating Enteric Methane Emission and Manipulating Dietary Protein Bypass in SA Mutton Merino Sheep (Doctoral dissertation, University of Pretoria (South Africa)).

Iftikhar, K., Siddique, F., Ameer, K., Arshad, M., Kharal, S., Mohamed Ahmed, I. A., ... & Aziz, N. (2023). Phytochemical profiling, antimicrobial, and antioxidant activities of hydroethanolic extracts of prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit and pulp. *Food science & nutrition*, 11(4), 1916-1930.

Inglese, P., Mondragon, C., Nefzaoui, A., & Sáenz, C. (Éds.). (2018). *Écologie, culture et utilisations du figuier de barbarie*. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) et Centre International pour la Recherche Agricole dans les Zones Arides (ICARDA).

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry. Applied Chemistry Division). Commission on Oils, Fats, and Derivatives, Dieffenbacher, A., & Pocklington, W. D. (1992). *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats, and Derivatives: 1st Supplement to the 7th Revised and Enlarged Edition*. Blackwell Scientific Publications.

ISO., 2000. ISO 5509:2000 - Animal and vegetable fats and oils — Preparation of methyl esters of fatty acids (2nd ed.). International Organization for Standardization. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/37abc0ea-3e75-4531-bb43-c6912f85a0c5/iso-5509-2000>.

Janssen, P. H., & Kirs, M. (2008). Structure of the archaeal community of the rumen. *Applied and environmental microbiology*, 74(12), 3619-3625.

Jenkins, T. C. (1993). Lipid metabolism in the rumen. *Journal of dairy science*, 76(12), 3851-3863.

Jenkins, T. C., Wallace, R. J., Moate, P. J., & Mosley, E. E. (2008). Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal of animal science*, 86(2), 397-412.

Jorge, A. O., Costa, A. S., & Oliveira, M. B. P. (2023). Adapting to climate change with *Opuntia*. *Plants*, 12(16), 2907.

Jouany, J. P., & Thivend, P. (1972). Évolution postprandiale de la composition glucidique des corps microbiens du rumen en fonction de la nature des glucides du régime. I.—les protozoaires. In *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* (Vol. 12, No. 4, pp. 673-677). EDP Sciences.

Jouany, J. P., Broudiscou, L., Prins, R. A., & Komisarczuk-Bony, S. (1995). Métabolisme et nutrition de la population microbienne du rumen. *Nutrition des ruminants domestiques : ingestion et digestion*, Paris, France, 349-382.

Jouany, J. P., & Ushida, K. (1999). The role of protozoa in feed digestion-Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 12(1), 113-128.

Julien, C., Marden, J. P., Bonnefont, C., Moncoulon, R., Auclair, E., Monteils, V., & Bayourthe, C. (2010). Effects of varying proportions of concentrates on ruminal-reducing power and bacterial community structure in dry dairy cows fed hay-based diets. *animal*, 4(10), 1641-1646.

-
- Kadda, S., Belabed, A., Conte, R., Ouahhoud, S., Hamdaoui, H., Mechchate, H., & Elarbi, Z. (2023). Phytochemical analysis for the residues of *Opuntia ficus indica* l seed oil of eastern region of Morocco. *Materials Today: Proceedings*, 72, 3662-3668.
- Kamel, C., Greathead, H. M. R., Tejido, M. L., Ranilla, M. J., & Carro, M. D. (2008). Effects of allicin and diallyl disulfide on in vitro rumen fermentation of a mixed diet. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4), 351-363.
- Katoch, R. (2023). *Techniques in Forage Quality Analysis*. Springer.
- Khalil, D. Y., & Hassan, O. M. (2024). Anti-inflammatory and Antioxidant Activity of Rosemary Essential Oil. *Journal of Angiotherapy*, 8(4), 1-6.
- Khiaosa-Ard, R., & Zebeli, Q. (2013). Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. *Journal of Animal Science*, 91(4), 1819-1830.
- Kholif, A. E., & Olafadehan, O. A. (2021). Essential oils and phytogenic feed additives in ruminant diet: Chemistry, ruminal microbiota and fermentation, feed utilization and productive performance. *Phytochemistry Reviews*, 20(6), 1087-1108.
- Kholif, A. E. (2024). The Impact of Varying Levels of *Laurus nobilis* Leaves as a Sustainable Feed Additive on Ruminal Fermentation: In Vitro Gas Production, Methane and Carbon Dioxide Emissions, and Ruminal Degradability of a Conventional Diet for Ruminants. *Fermentation*, 10(8), 387.
- Khorasani, G. R., Okine, E. K., & Kennelly, J. J. (2001). Effects of forage source and amount of concentrate on rumen and intestinal digestion of nutrients in late-lactation cows. *Journal of dairy science*, 84(5), 1156-1165.
- Kim, H. W., Wang, M., Leber, C. A., Nothias, L. F., Reher, R., Kang, K. B., ... & Cottrell, G. W. (2021). NPClassifier: a deep neural network-based structural classification tool for natural products. *Journal of Natural Products*, 84(11), 2795-2807.
- Kitessa, S., Irish, G. G., & Flinn, P. C. (1999). Comparison of methods used to predict the in vivo digestibility of feeds in ruminants. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50(5), 825-842.
- Kittelmann, S., Pinares-Patiño, C. S., Seedorf, H., Kirk, M. R., Ganesh, S., McEwan, J. C., & Janssen, P. H. (2014). Two different bacterial community types are linked with different rumen methanogen populations in sheep. *PLoS One*, 9(7), e103171.
- Kleen, J. L., Hooijer, G. A., Rehage, J., & Noordhuizen, J. P. (2004). Rumenocentesis (rumen puncture): a viable instrument in herd health diagnosis. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 111(12), 458-462.
- Koike, S., Yoshitani, S., Kobayashi, Y., & Tanaka, K. (2003). Phylogenetic analysis of fiber-associated rumen bacterial community and PCR detection of uncultured bacteria. *FEMS microbiology letters*, 229(1), 23-30.
- Komarek, R. J. (1981). Rumen and abomasal cannulation of sheep with specially designed cannulas and a cannula insertion instrument. *Journal of animal science*, 53(3), 790-795.

-
- Kong, F., Wang, S., Dai, D., Cao, Z., Wang, Y., Li, S., & Wang, W. (2022). Preliminary investigation of the effects of rosemary extract supplementation on milk production and rumen fermentation in high-producing dairy cows. *Antioxidants*, 11(9), 1715.
- Kouamé, N. M. T., Soro, K., Mangara, A., Diarrassouba, N., Koulibaly, A. V., & Boraud, N. K. M. (2015). Étude physico-chimique de sept (7) plantes spontanées alimentaires du centre-ouest de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 90, 8450-8463.
- Kozłowska, M., Gruczyńska, E., Ścibisz, I., & Rudzińska, M. (2016). Fatty acids and sterols composition, and antioxidant activity of oils extracted from plant seeds. *Food chemistry*, 213, 450-456.
- Krause, D. O., Denman, S. E., Mackie, R. I., Morrison, M., Rae, A. L., Attwood, G. T., & McSweeney, C. S. (2003). Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS microbiology reviews*, 27(5), 663-693.
- Krishnamoorthy, U., Sniffen, C. J., Stern, M. D., & Van Soest, P. J. (1983). Evaluation of a mathematical model of rumen digestion and an in vitro simulation of rumen proteolysis to estimate the rumen-undegraded nitrogen content of feedstuffs. *British Journal of Nutrition*, 50(3), 555-568.
- Kristensen, N. B., Engbæk, M., Vestergaard, M., & Harmon, D. L. (2010). Ruminal cannulation technique in young Holstein calves: Effects of cannulation on feed intake, body weight gain, and ruminal development at six weeks of age. *Journal of dairy science*, 93(2), 737-742.
- Krizsan, S. J., Nyholm, L., Nousiainen, J., Südekum, K. H., & Huhtanen, P. (2012). Comparison of in vitro and in situ methods in evaluation of forage digestibility in ruminants. *Journal of Animal Science*, 90(9), 3162-3173.
- Krusinski, L., Maciel, I. C., van Vliet, S., Ahsin, M., Adams, J., Lu, G., ... & Fenton, J. I. (2024). Fatty acids and secondary metabolites can predict grass-finished beef and supplemental cattle feeds. *npj Science of Food*, 8(1), 73.
- Kumar, D., Kumar, G., & Singh, C. P. (2010). Ultrasonic-assisted transesterification of *Jatropha curcus* oil using solid catalyst, Na/SiO₂. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(5), 839-844.
- Kusano, M., Mendez, E., & Furton, K. G. (2013). Comparison of the volatile organic compounds from different biological specimens for profiling potential. *Journal of Forensic Sciences*, 58(1), 29-39.
- Kyriazakis, I. (2023). Putting smart into nutrition. In *Smart Livestock Nutrition* (pp. 1-15). Cham: Springer International Publishing.
- Lairez, J., Feschet, P., Botreau, R., Bockstaller, C., Fortun-Lamothe, L., Bouvarel, I., & Aubin, J. (2017). L'évaluation multicritère des systèmes d'élevage pour accompagner leurs évolutions: démarches, enjeux et questions soulevées. *INRAE Productions Animales*, 30(3), 255-268.
- Lalnunfela, C., Lalthanpuui, P. B., Lalremsanga, H. T., Zothansiam, Lalmuansangi, C., Kumar, N. S., ... & Lalchandama, K. (2024). Characterisation of Bioactive Compounds and In Vitro Anticancer and Anthelmintic Activities of *Ilex khasiana*, an Endangered Species of Holly From Mizoram, India. *Scientifica*, 2024(1), 8212850.

Landau, S., Glasser, T., & Dvash, L. (2006). Monitoring nutrition in small ruminants with the aid of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technology: A review. *Small Ruminant Research*, 61, 1-11.

Le Liboux, S., & Peyraud, J. L. (1999). Effect of forage particle size and feeding frequency on fermentation patterns and sites and extent of digestion in dairy cows fed mixed diets. *Animal feed science and technology*, 76(3-4), 297-319.

Lodge-Ivey, S. L., Browne-Silva, J., & Horvath, M. B. (2009). Bacterial diversity and fermentation end products in rumen fluid samples collected via oral lavage or rumen cannula. *Journal of Animal Science*, 87(7), 2333-2337.

Lourenço, M., Ramos-Morales, E., & Wallace, R. J. (2010). The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal*, 4(7), 1008-1023.

MacFarland, T. W., & Yates, J. M. (2016). Kruskal–Wallis H-Test for oneway analysis of variance (ANOVA) by ranks. In *Introduction to Nonparametric Statistics for the Biological Sciences Using R* (pp. 177–211). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30634-6_6

Macheboeuf, D., Morgavi, D. P., Papon, Y., Mousset, J. L., & Arturo-Schaan, M. (2008). Dose–response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4), 335-350.

Makkar, H. P. S., Blümmel, M., & Becker, K. (1995). Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in in vitro techniques. *British Journal of Nutrition*, 73(6), 897-913.

Makkar, H. P. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small ruminant research*, 49(3), 241-256.

Makkar, H. P. (2005). In vitro gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 291-302.

Makkar, H.P. (2010). In Vitro Screening of Feed Resources for Efficiency of Microbial Protein Synthesis. In: Vercoe, P., Makkar, H., Schlink, A. (eds) *In vitro screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies*. Springer, Dordrecht.

Malmuthuge, N., Griebel, P. J., & Guan, L. L. (2014). Taxonomic identification of commensal bacteria associated with the mucosa and digesta throughout the gastrointestinal tracts of preweaned calves. *Applied and environmental microbiology*, 80(6), 2021-2028.

Marden, J. P., Bayourthe, C., Enjalbert, F., & Moncoulon, R. (2005). A new device for measuring kinetics of ruminal pH and redox potential in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 88(1), 277-281.

Marounek, M., Bartos, S., & Kalachnyuk, G. I. (1982). Dynamics of the redox potential and rh of the rumen fluid of goats. *Physiologia bohemoslovaca*, 31(4), 369-374.

- Martin, C., Brossard, L., & Doreau, M. (2006). Mécanismes d'apparition de l'acidose ruminale latente et conséquences physiopathologiques et zootechniques. *INRAE Productions Animales*, 19(2), 93-108.
- Martínez, M. E., Ranilla, M. J., Tejido, M. L., Saro, C., & Carro, M. D. (2010). The effect of the diet fed to donor sheep on in vitro methane production and ruminal fermentation of diets of variable composition. *Animal Feed Science and Technology*, 158(3-4), 126-135.
- Mathison, G.W., Okine, E.K., Vaage, A.S., Kaske, M. and Milligan, L.P. (1995) Current understanding of the contribution of the propulsive activities in the forestomach to the flow of digesta. In: Englehardt, W.V., Leonhard-Marek, S., Breves, G. and Gieseck, D. (eds) *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, p. 23.
- Matsuta, R., Yamamoto, H., Tomita, M., & Saito, R. (2022). iDMET: network-based approach for integrating differential analysis of cancer metabolomics. *BMC bioinformatics*, 23(1), 508.
- Mauricio, R. M., Owen, E., Mould, F. L., Givens, I., Theodorou, M. K., France, J., ... & Dhanoa, M. S. (2001). Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an in vitro gas production technique for evaluating forages. *Animal Feed Science and Technology*, 89(1-2), 33-48.
- Maxin, G., Nozière, P., Sauvant, D., & Baumont, R. (2018). Appliquer les méthodes d'évaluation multicritère aux rations des ruminants: identification des critères à évaluer et des indicateurs à mesurer sur les aliments. *INRAE Productions Animales*, 31(3), 255-268.
- McAllister, T. A., Bae, H. D., Jones, G. A., & Cheng, K. J. (1994). Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *Journal of animal science*, 72(11), 3004-3018.
- McCracken, T. O., Kainer, R. A., & Spurgeon, T. L. (2013). *Spurgeon's color atlas of large animal anatomy: the essentials*. John Wiley & Sons.
- McDonald, P., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C., Edwards, R., Sinclair, L., Wilkinson, R. (2021). *Animal Nutrition*. Pearson Education.
- McSweeney, C. S., Blackall, L. L., Collins, E., Conlan, L. L., Webb, R. I., Denman, S. E., & Krause, D. O. (2005). Enrichment, isolation and characterisation of ruminal bacteria that degrade non-protein amino acids from the tropical legume *Acacia angustissima*. *Animal feed science and technology*, 121(1-2), 191-204.
- Mendoza, G. D., Britton, R. A., & Stock, R. A. (1993). Influence of ruminal protozoa on site and extent of starch digestion and ruminal fermentation. *Journal of Animal Science*, 71(6), 1572-1578.
- Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *The Journal of Agricultural Science*, 93(1), 217-222.
- Menke, K. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Develop.* 28:7–55.

- Michalet-Doreau, B., & Nozière, P. (1999). Intérêts et limites de l'utilisation de la technique des sachets pour l'étude de la digestion ruminale. *INRAE Productions Animales*, 12(3), 195-206.
- Millen, D. D., Arrigoni, M. D. B., & Pacheco, R. D. L. (Eds.). (2016). *Rumenology* (pp. 127-156). Berlin/Heidelberg, Germany: Springer.
- Miron, J., Ben-Ghedalia, D., & Morrison, M. (2001). Invited review: adhesion mechanisms of rumen cellulolytic bacteria. *Journal of dairy science*, 84(6), 1294-1309.
- Monteils, V., Rey, M., Silberberg, M., Cauquil, L., & Combes, S. (2012). Modification of activities of the ruminal ecosystem and its bacterial and protozoan composition during repeated dietary changes in cows. *Journal of Animal Science*, 90(12), 4431-4440.
- Montejano-Ramírez, V., Ávila-Oviedo, J. L., Campos-Mendoza, F. J., & Valencia-Cantero, E. (2024). Microbial volatile organic compounds: insights into plant defense. *Plants*, 13(15), 2013.
- Morgavi, D. P., Forano, E., Martin, C., & Newbold, C. J. (2010). Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *animal*, 4(7), 1024-1036.
- Mould, F.L., Kliem, K.E., Morgan, R., Mauricio, R.M.(2005a). In vitro microbial inoculum: a review of its function and properties. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123–124, 31–50.
- Mould, F.L., Morgan, R., Kliem, K.E., Krystallidou, E.(2005b). A review and simplification of the in vitro incubation medium. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123, 155–172.
- Muetzel, S., Hunt, C., & Tavendale, M. H. (2014). A fully automated incubation system for the measurement of gas production and gas composition. *Animal Feed Science and Technology*, 196, 1-11.
- Naorem, A., Patel, A., Hassan, S., Louhaichi, M., & Jayaraman, S. (2024). Global research landscape of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) in agricultural science. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1354395.
- Nefzaoui, A. (2021). Élaboration d'une stratégie de développement de la filière du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica* L.) en Algérie (TCP/ALG/3702). Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO).
- Nehme, R., Andrés, S., Pereira, R. B., Jemaa, M. B., Bouhallab, S., Ceciliani, F., ... & Abdennebi-Najar, L. (2021). Essential Oils in Livestock: From Health to Food Quality. *Antioxidants*, 10, 330.
- Nocek, J. E. (1988). In Situ and Other Methods to Estimate Ruminant Protein and Energy Digestibility: A Review. *J. Dairy Sci.*, 71, 2051-2069.
- Newbold, J. R., & Rust, S. R. (1992). Effect of asynchronous nitrogen and energy supply on growth of ruminal bacteria in batch culture. *Journal of Animal Science*, 70(2), 538-546.
- Newbold, C. J., McIntosh, F. M., Williams, P., Losa, R., & Wallace, R. J. (2004). Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal feed science and technology*, 114(1-4), 105-112.

-
- Nounah, I., Chbani, M., Matthäus, B., Charrouf, Z., Hajib, A., & Willenberg, I. (2020). Profile of volatile aroma-active compounds of cactus seed oil (*Opuntia ficus-indica*) from different locations in Morocco and their fate during seed roasting. *Foods*, 9(9), 1280.
- Odhaib, K. J., Ali Alallawee, M. H., & AL-Mousawi, Z. A. (2021). Utilization of Herbal Remedies to Improve Ruminant Performance: A Review. *Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences*, 14(1).
- Oh, H. K., Jones, M. B., & Longhurst, W. M. (1968). Comparison of rumen microbial inhibition resulting from various essential oils isolated from relatively unpalatable plant species. *Applied Microbiology*, 16(1), 39-44.
- Ohene-Adjei, S., Teather, R. M., Ivan, M., & Forster, R. J. (2007). Postinoculation protozoan establishment and association patterns of methanogenic archaea in the ovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(14), 4609-4618.
- Olowu, O. O., & Yaman, S. (2019). Feed evaluation methods: performance, economy and environment. *Eurasian Journal of Agricultural Research*, 3(2), 48-57.
- Orpin, C. G., & Joblin, K. N. (1997). The rumen anaerobic fungi. In *The rumen microbial ecosystem* (pp. 140-195). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Ørskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92, 499-503.
- Oumatou, J., ZRIRA, S., PETRETTO, G. L., SAIDI, B., SALARIS, M., & PINTORE, G. (2016). Volatile constituents and polyphenol composition of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill from Morocco. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 4(3).
- Owens, F. N., & Bergen, W. G. (1983). Nitrogen metabolism of ruminant animals: historical perspective, current understanding and future implications. *Journal of animal science*, 57(suppl_2), 498-518.
- Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J., & Gill, D. R. (1998). Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal Science*, 76(1), 275-286.
- Owens, F.N., Basalan, M. (2016). Ruminal Fermentation. In: Millen, D., De Beni Arrigoni, M., Lauritano Pacheco, R. (eds) *Rumenology*. Springer, Cham.
- Palmquist, D. L., & Jenkins, T. C. (1980). Fat in lactation rations. *Journal of dairy science*, 63(1), 1-14.
- Pariza, M. W., Park, Y., & Cook, M. E. (2001). The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in lipid research*, 40(4), 283-298.
- Paul, S. S., Kamra, D. N., & Sastry, V. R. (2010). Fermentative characteristics and fibrolytic activities of anaerobic gut fungi isolated from wild and domestic ruminants. *Archives of animal nutrition*, 64(4), 279-292.
- Pei, C. X., Mao, S. Y., Cheng, Y. F., & Zhu, W. Y. (2010). Diversity, abundance and novel 16S rRNA gene sequences of methanogens in rumen liquid, solid and epithelium fractions of Jinnan cattle. *Animal*, 4(1), 20-29.

- Petrén, H., Köllner, T. G., & Junker, R. R. (2023). Quantifying chemodiversity considering biochemical and structural properties of compounds with the R package chemodiv. *New Phytologist*, 237(6), 2478-2492.
- Pitta, D., Indugu, N., Narayan, K., & Hennessy, M. (2022). Symposium review: Understanding the role of the rumen microbiome in enteric methane mitigation and productivity in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 105(10), 8569-8585.
- Poos-Floyd, M., Klopfenstein, T., & Britton, R. A. (1985). Evaluation of laboratory techniques for predicting ruminal protein degradation. *Journal of Dairy Science*, 68(4), 829-839.
- RahmatiZadeh, M., Hozhabri, F., & Kafilzadeh, F. (2024). Effect of different doses of several mixtures of three essential oils of peppermint, thyme and rosemary on rumen fermentation parameters of fattening diet by in vitro method. *Animal Science Research*, 33(4), 1-16.
- Ramos-Morales, E., Arco-Pérez, A., Martín-García, A. I., Yáñez-Ruiz, D. R., Frutos, P., & Hervás, G. (2014). Use of stomach tubing as an alternative to rumen cannulation to study ruminal fermentation and microbiota in sheep and goats. *Animal Feed Science and Technology*, 198, 57-66.
- Rasoulpour, R., Afsharifar, A., Izadpanah, K., & Aminlari, M. (2017). Purification and characterization of an antiviral protein from prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) cladode. *Crop Protection*, 93, 33-42.
- Razali, N. M., & Wah, Y. B. (2011). Power comparisons of shapiro-wilk, kolmogorov-smirnov, lilliefors and anderson-darling tests. *Journal of statistical modeling and analytics*, 2(1), 21-33.
- Rey, M. (2012). Implantation du microbiote et mise en place des fonction du rumen chez le veau de race laitière et effet de la supplémentation en levures vivantes (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse-INPT).
- Rémond, B., Brugère, H., Poncet, C., & Baumont, R. (1995). Le contenu du réticulo-rumen. *Nutrition des ruminants domestiques*, 253-298.
- Ridler, A. (2016). *Sheep Medicine* (2nd Edition). *New Zealand Veterinary Journal*, 64(3), 200.
- Roy, B. (2013). *Multicriteria methodology for decision aiding* (Vol. 12). Springer Science & Business Media.
- Rueda, A. F. (2025). Investigating the Ruminal Metagenome of Grass and Forage-Fed Bison to Uncover Metabolic Activities that Impact the Efficiency of Plant Fiber Utilization (Doctoral dissertation, South Dakota State University).
- Russell, J. B., & Rychlik, J. L. (2001). Factors that alter rumen microbial ecology. *Science*, 292(5519), 1119-1122.
- Russell, J. B. (2002). *Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition*. Department of Microbiology, Cornell University.
- Rymer, C., Huntington, J. A., Williams, B. A., & Givens, D. I. (2005). In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 9-30.

-
- Saad, S., Kechebar, M. S. A., Karoune, S., Lahmadi, S., Djemouai, N., Foughalia, A., ... & Abidat, H. (2023). Multivariate Analysis of Polyphenolic Content and In Vitro Antioxidant Capacities of Different Fractions of *Lepidium Sativum* L. Aerial Parts and Roots from Algeria. *1Applied Ecology and Environmental Research*, 21(2), 889–923.
- Saber, J., Houcine, S., Foued, A., Ameni, D., Houcem, S., Chaabane, A., & Hichem, S. (2022). Antioxidant and antibacterial properties of *Salvia officinalis* essential oils and their effects on In vitro feed fermentation with goat rumen liquor. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 22(2), 297-310.
- Saha, S. K., & Pathak, N. N. (2021). *Fundamentals of animal nutrition* (pp. 219-246). Singapore: Springer.
- Salem, A. F. Z. (2005). Impact of season of harvest on in vitro gas production and dry matter degradability of *Acacia saligna* leaves with inoculum from three ruminant species. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 67-79.
- Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A., Shabih, F., & Sangwan, R. S. (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant growth regulation*, 34, 3-21.
- Sautet, J. (1995). L'appareil digestif et ses adaptations. *Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion*, 183-222.
- Sauvant, D., AUFRERE, J., Michalet-Doreau, B., Giger-Reverdin, S., & Chapoutot, P. (1987). Valeur nutritive des aliments concentrés simples: Tables et prévision.
- Sauvant, D., & Milgen, J. V. (1995). Dynamic aspects of carbohydrate and protein breakdown and the associated microbial matter synthesis.
- Sauvant, D., & van Milgen, J. (1995). Les conséquences de la dynamique de la digestion des aliments sur le métabolisme ruminal et les performances animales. *INRAE Productions Animales*, 8(5), 353-367.
- Sauvant, D., & Noziere, P. (2013). La quantification des principaux phénomènes digestifs chez les ruminants : les relations utilisées pour rénover les systèmes d'unités d'alimentation énergétique et protéique. *INRA Productions Animales*, 26(4), 327-346.
- Scarano, P., Tartaglia, M., Zuzolo, D., Prigioniero, A., Guarino, C., & Sciarrillo, R. (2022). Recovery and valorization of bioactive and functional compounds from the discarded of *Opuntia ficus-indica* (L.) mill. fruit peel. *Agronomy*, 12(2), 388.
- Shen, J. S., Chai, Z., Song, L. J., Liu, J. X., & Wu, Y. M. (2012). Insertion depth of oral stomach tubes may affect the fermentation parameters of ruminal fluid collected in dairy cows. *Journal of dairy science*, 95(10), 5978-5984.
- Sheng, Y., Wang, J., Liu, S., & Jiang, Y. (2024). IMN4NPD: an integrated molecular networking workflow for natural product dereplication. *Analytical Chemistry*, 96(7), 2990-2997.
- Shi, W., Moon, C. D., Leahy, S. C., Kang, D., Froula, J., Kittelmann, S., ... & Rubin, E. M. (2014). Methane yield phenotypes linked to differential gene expression in the sheep rumen microbiome. *Genome research*, 24(9), 1517-1525.

- Singh, K. M., Tripathi, A. K., Pandya, P. R., Parnerkar, S., Rank, D. N., Kothari, R. K., & Joshi, C. (2012). Methanogen diversity in the rumen of Indian Surti buffalo (*Bubalus bubalis*), assessed by 16S rDNA analysis. *Research in Veterinary Science*, 92(3), 451-455.
- Shingfield, K. J., & Griinari, J. M. (2007). Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(8), 799-816.
- Sirohi, S. K., Singh, N., Dagar, S. S., & Puniya, A. K. (2012). Molecular tools for deciphering the microbial community structure and diversity in rumen ecosystem. *Applied microbiology and biotechnology*, 95, 1135-1154.
- Soest, P. V., & Wine, R. H. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 50(1), 50-55.
- Soliman, M. M., Elsaba, Y. M., Soliman, M. S. A., & Ahmed, E. Z. (2024). Composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Artemisia monosperma* L. leaf essential oils and methanolic extracts from plants grown in normal and saline habitats in Egypt. *Scientific Reports*, 14(1), 7342.
- Soliva, C. R., Hindrichsen, I. K., Meile, L., Kreuzer, M., & Machmüller, A. (2003). Effects of mixtures of lauric and myristic acid on rumen methanogens and methanogenesis in vitro. *Letters in Applied Microbiology*, 37(1), 35-39.
- Söllinger, A., Tveit, A. T., Poulsen, M., Noel, S. J., Bengtsson, M., Bernhardt, J., ... & Urich, T. (2018). Holistic assessment of rumen microbiome dynamics through quantitative metatranscriptomics reveals multifunctional redundancy during key steps of anaerobic feed degradation. *MSystems*, 3(4), 10-1128.
- Steiner, T. (Ed.). (2010). *Phytogenics in animal nutrition: natural concepts to optimize gut health and performance*. Nottingham University Press.
- Stevens, C. E., & Hume, I. D. (1998). Contributions of microbes in vertebrate gastrointestinal tract to production and conservation of nutrients. *Physiological Reviews*, 78(2), 393-427.
- Storm, A. C., & Kristensen, N. B. (2010). Effects of particle size and dry matter content of a total mixed ration on intraruminal equilibration and net portal flux of volatile fatty acids in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(9), 4223-4238.
- Susmel, P., Stefanon, B., Mills, C. R., & Colitti, M. (1989). The evaluation of PDI concentrations in some ruminant feedstuffs: a comparison of in situ and in vitro protein degradability. In *Annales de zootechnie* (Vol. 38, No. 4, pp. 269-283).
- Temmar, R., Rodríguez-Prado, M., Forgeard, G., Rougier, C., & Calsamiglia, S. (2021). Interactions among natural active ingredients to improve the efficiency of rumen fermentation in vitro. *Animals*, 11(5), 1205.
- Terré, M., Castells, L., Fàbregas, F., & Bach, A. (2013). Comparison of pH, volatile fatty acids, and microbiome of rumen samples from preweaned calves obtained via cannula or stomach tube. *Journal of dairy science*, 96(8), 5290-5294.

- Tice, E. M., Eastridge, M. L., & Firkins, J. L. (1993). Raw soybeans and roasted soybeans of different particle sizes. 1. Digestibility and utilization by lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 76(1), 224-235.
- Tilley, J. M. A., & Terry, R. A. (1963). A two-stage technique for the in-vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18(2), 104-111.
- Titgemeyer, E. C. (1997). Design and interpretation of nutrient digestion studies. *Journal of Animal Science*, 75(8), 2235-2247.
- Tiwari, R. M., Sinha, M. (2010). Toxicology of insecticides. *Veterinary Toxicology*, Oxford Book Company, Edition, 17-38.
- Todaro, M., Alabiso, M., Di Grigoli, A., Scatassa, M. L., Cardamone, C., Mancuso, I., ... & Bonanno, A. (2020). Prickly pear by-product in the feeding of livestock ruminants, Preliminary investigation. *Animals*, 10(6), 1–10.
- Torres, R. N. S., Moura, D. C., Ghedini, C. P., Ezequiel, J. M. B., & Almeida, M. T. C. (2020). Meta-analysis of the effects of essential oils on ruminal fermentation and performance of sheep. *Small Ruminant Research*, 189, 106148.
- Van Der Meer, J. M. (1984). CEC workshop on methodology of feedingstuffs for ruminants European" In vitro" ring test 1983: statistical report (No. 155). IVVO.
- Van Dijk, M., Morley, T., Rau, M. L., & Saghai, Y. (2021). A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, 2(7), 494-501.
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant* (Vol. 476). Cornell University Press.
- Van Soest, P. J. (1996). Allometry and ecology of feeding behavior and digestive capacity in herbivores: a review. *Zoo Biology: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association*, 15(5), 455-479.
- Vanzant, E. S., Cochran, R. C., & Titgemeyer, E. C. (1998). Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. *Journal of animal science*, 76(10), 2717-2729.
- Váradyová, Z., Baran, M., & Zeleňák, I. (2005). Comparison of two in vitro fermentation gas production methods using both rumen fluid and faecal inoculum from sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 81-94.
- VDLUFA. (2012). *Methodenbuch*, Vol. 3, Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Darmstadt: VDLUFA-Verlag.
- Verpoorte, R. (2000). Secondary metabolism. In *Metabolic engineering of plant secondary metabolism* (pp. 1-29). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Wanapat, M., Kang, S., & Polyorach, S. (2013). Development of feeding systems and strategies of supplementation to enhance rumen fermentation and ruminant production in the tropics. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4, 1-11.
- Wang, Y., & McAllister, T. A. (2002). Rumen microbes, enzymes and feed digestion-a review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 15(11), 1659-1676.

-
- Wen, T., Xie, P., Yang, S., Niu, G., Liu, X., Ding, Z., ... & Yuan, J. (2022). ggClusterNet: An R package for microbiome network analysis and modularity-based multiple network layouts. *Imeta*, 1(3), e32.
- Wilfart, A., Espagnol, S., Dauguet, S., Tailleur, A., Gac, A., Garcia-Launay, F. (2016). ECOALIM: a dataset of environmental impacts of feed ingredients used in French animal production. *PLoS One*, 11, e0167343.
- Williams, A. G., & Coleman, G. S. (1997). The rumen protozoa. In *The rumen microbial ecosystem* (pp. 73-139). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Williams, Y. J., Popovski, S., Rea, S. M., Skillman, L. C., Toovey, A. F., Northwood, K. S., & Wright, A. D. G. (2009). A vaccine against rumen methanogens can alter the composition of archaeal populations. *Applied and environmental microbiology*, 75(7), 1860-1866.
- Williams, C. L., Thomas, B. J., McEwan, N. R., Rees Stevens, P., Creevey, C. J., & Huws, S. A. (2020). Rumen protozoa play a significant role in fungal predation and plant carbohydrate breakdown. *Frontiers in microbiology*, 11, 720.
- Wolin, M. J., Miller, T. L., & Stewart, C. S. (1997). Microbe-microbe interactions. In *The rumen microbial ecosystem* (pp. 467-491). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Wood, C. D., & Badve, V. C. (2001). Recent developments in laboratory methods for the assessment of ruminant feeds. BAIF Development Research Foundation and Natural Resources Institute UK.
- Wright, A. D. G., Auckland, C. H., & Lynn, D. H. (2007). Molecular diversity of methanogens in feedlot cattle from Ontario and Prince Edward Island, Canada. *Applied and environmental microbiology*, 73(13), 4206-4210.
- Yagoubi, Y., Mekki, I., Nasraoui, M., Abdelmalek, Y. B., & Atti, N. (2022). Effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) by-products and linseed (*Linum usitatissimum*) intake on digestibility, body weight gain, and estimated tissular composition in cull fat-tailed ewes. *Tropical Animal Health and Production*, 54(2), 101.
- Yu, P., Egan, A. R., & Leury, B. J. (2000). Predicting in sacco rumen degradation kinetics of raw and dry roasted faba beans (*Vicia faba*) and lupin seeds (*Lupinus albus*) by laboratory techniques. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 13(10), 1377-1387.
- Yu, S., Li, L., Zhao, H., Tu, Y., Liu, M., Jiang, L., & Zhao, Y. (2023). Characterization of the dynamic changes of ruminal microbiota colonizing citrus pomace waste during rumen incubation for volatile fatty acid production. *Microbiology Spectrum*, 11(2), e03517-22.
- Zaklouta, M., Hilali, M. E. D., Nefzaoui, A., & Haylani, M. (2011). *Animal nutrition and product quality laboratory manual*, p 44-46.
- Zelter, S. Z., Leroy, F., Tissier, J. P., & Naville, M. (1970). Protection des protéines alimentaires contre la désamination bactérienne dans le rumen. I.—études in vitro: comportement en milieu de rumen de quelques protéines tannées avec du tanin de châtaignier ou certains aldéhydes (formaldéhyde, glutaraldéhyde, glyoxal). In *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* (Vol. 10, No. 1, pp. 111-122). EDP Sciences.

Zened, A., Forano, E., Delbes, C., Verdier-Metz, I., Morgavi, D., Popova, M., ... & Marie-etancelin, C. (2020). Les microbiotes des ruminants: état des lieux de la recherche et impacts des microbiotes sur les performances et la santé des animaux:(Full text available in English). *INRAE Productions Animales*, 33(4), 249-260.

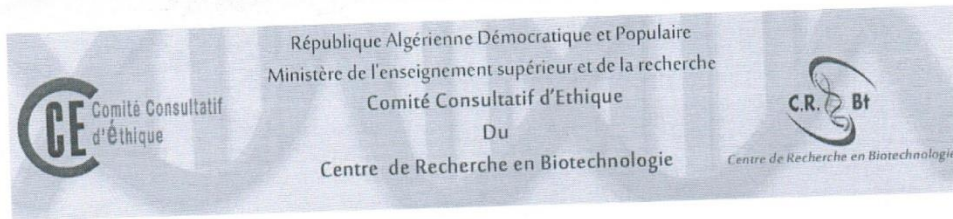
Zhao, W., Abdelsattar, M. M., Wang, X., Zhang, N., & Chai, J. (2023). In vitro modulation of rumen fermentation by microbiota from the recombination of rumen fluid and solid phases. *Microbiology Spectrum*, 11(1), e03387-22.

Zhou, R., Wu, J., Lang, X., Liu, L., Casper, D. P., Wang, C., ... & Wei, S. (2020). Effects of oregano essential oil on in vitro ruminal fermentation, methane production, and ruminal microbial community. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2303-2314.

Zouaoui, N., Chenchouni, H., Bouguerra, A., Massouras, T., & Barkat, M. (2020). Characterization of volatile organic compounds from six aromatic and medicinal plant species growing wild in North African drylands. *NFS journal*, 18, 19-28.

Annexes

Annexe 1



CERTIFICAT D'APPROBATION D'ETHIQUE

Le 21/01/2024

À Monsieur **CHEKKAL Fekhreddine**,
Doctorant en Production Animale
Université de Biskra
Centre de Recherche scientifique et technique sur les régions arides (CRSTRA)
Fekhreddine.chekkal@univ-biskra.dz

Numéro/Réf : **Projet N23FC-2023**

Monsieur,

J'ai le plaisir de vous informer que les membres du Comité Consultatif d'Éthique (CCE) du Centre de Recherche en Biotechnologie ont examiné votre projet de recherche intitulé « *Effet de l'emploi de mélange de substances naturelles et de sous-produits du cactus dans l'alimentation des petits ruminants* » soumis pour des considérations d'éthique et ont émis un avis **favorable**.

L'approbation de votre projet de recherche s'est basée sur des documents et des précisions que vous avez fait parvenir au CCE à partir du **05/11/2023**.

Par ailleurs, veuillez noter que le présent certificat est valable pour une durée d'un an, soit du **05/12/2023 au 04/12/2024**, pour le projet tel que soumis au CCE. Toute demande de renouvellement devrait parvenir au CCE dans les meilleurs délais avant l'expiration du présent certificat.

Le secrétariat du CCE devra également être informé de toute modification qui pourrait être apportée ultérieurement au protocole expérimental, ou de tout problème imprévu pouvant remettre en question l'éthique dans la conduite de votre projet de recherche.

Je vous souhaite plein succès dans la poursuite de vos travaux de recherche.

Le président,

**Président du Comité
Consultatif d'Éthique**

Pr. Abdelhamid ABERKANE



Annexe 2



Photo 3. Mesure de la production de gaz lors de la fermentation *in vitro* chez les petits ruminants (cliché personnel, 2024).

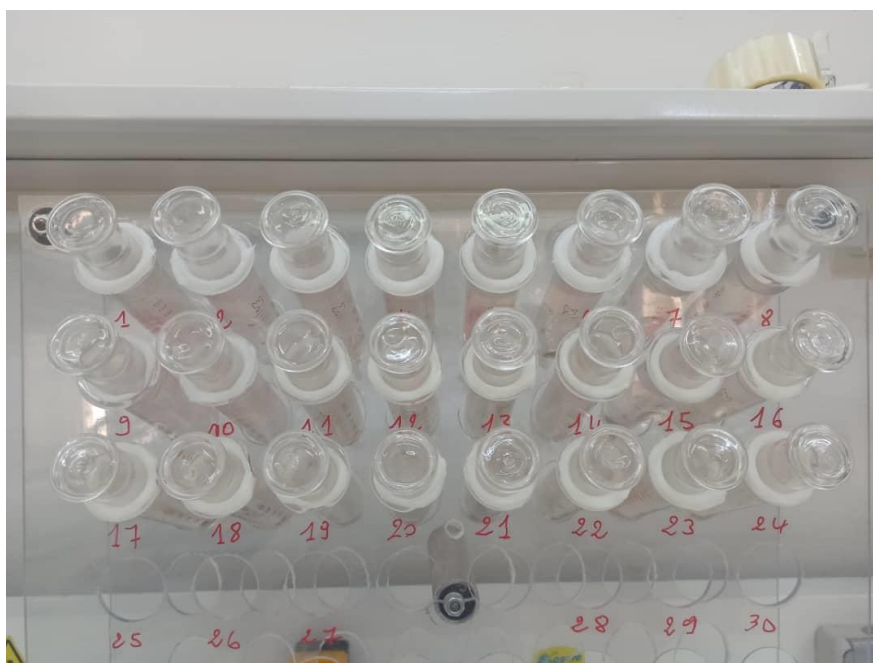


Photo 4. Dispositif expérimental de fermentation *in vitro* : série de seringues pour la mesure de la production de gaz (cliché personnel, 2024).

Annexe 3

Tableau 8 : Pourcentages relatifs (%) et temps de rétention (RT) des composés organiques volatils (COV) identifiés et classés à l'aide du NPClassifier à partir des cladodes, des écorces et des tourteaux d'*opuntia ficus indica*.

Pathway	Superclass	Class	Composés	RT (minute)	Cladodes	Écorces	Tourteaux
Fatty acids	Fatty esters	Wax monoesters	Methyl behenate	11.718	0,0003	0,0113	-
			Methyl octanoate	8.118	0,0003	-	0,0005
			Methyl dodecanoate	10.567	0,0337	-	0,0025
			Dimethyl azelate	10.663	0,0006	-	0,0018
			Methyl palmitoleate	12.171	0,0091	-	0,0291
			Methyl palmitate	12.258	0,1253	-	0,0007
			Methyl Stearate	12.977	0,1087	-	0,0794
			Methyl arachidate	13.671	0,0163	-	0,0178
			Methyl hexanoate	5.474	0,0001	-	-
			Methyl nonanoate	8.892	0,0001	-	-
			Methyl decanoate	9.525	0,0009	-	-
			Methyl undecanoate	10.071	0,0003	-	-
			Methyl 4,8,12-trimethyltridecanoate	10.975	0,0003	-	-
			Dimethyl undecanedioate	11.100	0,003	-	-
			Methyl tetradecanoate	11.460	0,0495	-	-
			Methyl linolenate	11.676	0,287	-	-
			5-Octadecenoic acid, methyl ester	11.772	0,0054	-	-
			Methyl pentadecanoate	11.866	0,0244	-	-
			Methyl oleate	12.548	0,0391	-	-
			Methyl heptadecanoate	12.621	0,0328	-	-
			Methyl nonadecanoate	13.317	0,0051	-	-
			Methyl elaidolinolenate	13.384	0,0021	-	-
			Methyl heptanoate	5.476	-	-	0,003
			Methyl (Z)-4-decenoate	9.475	-	-	0,0003
			Methyl hexadecadienoate	11.772	-	-	0,0008
			Methyl 5-octadecenoate	11.810	-	-	0,0003
			Palmitic Acid	12.258	-	-	0,1092
			Methyl elaidate	12.769	-	-	0,0041
			Methyl nonadeca-10,13-dienoate	12.892	-	-	0,2129
			Methyl tricosanoate	13.308	-	-	0,0324
			Sebacic Acid	14.103	-	-	0,0047
			Oleic Acid	14.345	-	-	0,0138
			Methyl tetracosanoate	14.875	-	-	0,0087
		Lactones	Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane, 1(22),7(16)-diepoxy-	13.714	0,0622	-	-
	Fatty acyls	Hydrocarbons	Dotriacontane	13.933	0,0171	0,0735	0,0007
			3-Ethyl-3-methylheptane	7.458	0,0001	-	0,0003
			4,6-Dimethyldodecane	9.249	0,0003	-	0,0008

			Tetradecane	9.958	0,0002	-	0,0002
			Nonadecane	13.230	0,0242	-	0,0003
			Docosane	9.805	-	0,0051	0,0053
			Hexatriacontane	14.61	-	0,1132	0,0192
			5-Propyldecane	7.915	0,0001	-	-
			Eicosane	11.060	0,0001	-	-
			1,54-Dibromotetrapentacontane	13.578	0,0284	-	-
			Pentatriacontane	9.701	-	0,0095	-
			Tetracontane	10.008	-	0,0013	-
			Octadecyltrichlorosilane	11.155	-	0,0007	-
			1-Eicosene	13.069	-	0,0231	-
			Triacontane	13.111	-	0,0208	-
			17-Pentatriacontene	13.329	-	0,0115	-
			1-Bromotriacontane	14.002	-	0,0522	-
			2,6,11-Trimethyldodecane	9.388	-	-	0,0008
			2,5-Dimethyldodecane	10.018	-	-	0,0003
			Tetracosane	11.203	-	-	0,0003
			Tritriacontane	11.234	-	-	0,0462
			Octadecane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-	13.098	-	-	0,0079
			Hexacontane	13.129	-	-	0,0107
			Squalene	15.918	-	-	0,0027
			Pentapentacontane	17.043	-	-	0,0077
		Fatty alcohols	(9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dien-1-ol	12.448	0,0013	-	-
			1-Triacontanol	11.295	-	0,0067	-
			1-Hexacosanol	11.685	-	0,0077	-
			1-Heptadecanol	11.8	-	0,0079	-
			Triacontane-1,30-diol	13.786	-	0,0089	-
			1-Eicosanol	14.285	-	0,0094	-
			1-Pentacosanol	14.882	-	0,0221	-
			(R)-(-)-14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol	14.255	-	-	0,0056
			1-Dotetracontanol	15.042	-	-	0,0327
			Tetracontane-1,40-diol	16.283	-	0,0324	-
			3-Heptadecanol	16.744	-	-	0,0027
		Oxygenated hydrocarbons	1,2-Epoxyoctadecane	13.256	0,0027	0,0234	-
			2-Heptadecanone	13.429	-	0,0057	-
			2-Pentadecanone	14.995	-	0,0077	-
		Halogenated hydrocarbons	1-Iododecane	9.162	0,0001	-	-
			1-Chlorodocosane	10.417	0,0011	-	-
		Fatty aldehydes	Dodecanal	10.021	0,0005	-	-
			(Z)-7-Hexadecenal	13.717	-	-	0,0119
		Unclassified	Dodecamethylcyclhexasiloxane	9.404	0,0019	0,0095	-
	Fatty Acids and Conjugates;Fatty acyls	Fatty aldehydes;Oxo fatty acids	Methyl 9-oxononanoate	10.131	0,0017	-	0,0007
			Methyl 8-oxooctanoate	9.575	0,0002	-	-
	Fatty Acids and Conjugates	Unsaturated fatty acids	Tetracosanoic acid	11.605	-	0,0011	0,0169
			Methyl erucate	14.378	-	-	0,0101

			Methyl (Z)-tetracos-15-enoate	15.307	-	-	0,0033
		Branched fatty acids; Unsaturated fatty acids	Lauric Acid	10.736	0,0027	-	-
			Myristic Acid	11.605	0,0023	-	-
		Hydroxy fatty acids	Methyl octacosanoate	11.979	-	0,0143	0,0002
			Methyl triacontanoate	15.136	-	0,0242	-
			Methyl heptacosanoate	16.645	-	-	0,0033
		Carbocyclic fatty acids	Methyl 8-(2-octylcyclopropyl)octanoate	13.145	0,005	-	-
			Cyclopropaneoctanoic acid, 2-[[2-[(2-ethylcyclopropyl)methyl]cyclopropyl]methyl]-, methyl ester	13.450	-	-	0,0186
		Fatty acids	methyl (9E,11E)-octadeca-9,11-dienoate	13.190	-	-	0,0049
		Epoxy fatty acids	Oxiraneoctanoic acid, 3-octyl-, methyl ester, cis-	13.523	-	-	0,077
		Unclassified	Octadecamethylcyclononasiloxane	11.644	0,001	0,0012	0,0007
			Hexadecamethylcyclooctasiloxane	11.008	0,0025	0,0021	0,0011
			Tetradecamethylcycloheptasiloxane	10.262	0,003	-	0,0026
			Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane	12.725	0,0003	-	0,0043
			6-Hexadecenoic acid, 7-methyl,methyl ester (Z)	13.791	-	-	0,0195
			Methyl pentacosanoate	15.375	-	-	0,0103
	Eicosanoids	Other Eicosanoids	6,9,12,15-Docosatetraenoic acid, methyl ester	13.432	0,007	-	-
	Fatty amides	N-acyl amines	N,N-Dimethylhexadecanamide	14.206	-	-	0,0053
	Glycerolipids	Monoacylglycerols	d-Glucitol, 4-O-decyl-	11.235	0,0002	-	-
Fatty acids; Terpenoids	Apocarotenoids; Fatty acyls	Apocarotenoids (Ψ-); Hydrocarbons	Geranylacetone	10.221	0,0007	-	-
Terpenoids	Apocarotenoids	Apocarotenoids (β-)	3-Acetyl-2,4,4-trimethylcyclohex-2-en-1-one	10.305	0,0004	-	-
			4,4,7a-Trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydrobenzofuran-2(4H)-one	10.764	0,002	-	-
	Meroterpenoids	Prenyl quinone meroterpenoids	DL-α-Tocopherol	12.3	-	0,0524	0,004
			4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide	13.822	0,0258	-	-
	Monoterpenoids	Menthane monoterpenoids; Monocyclic monoterpenoids	Limonene, (-)-	7.177	0,0001	-	-
		Pinane monoterpenoids	Chrysanthenone	8.787	0,0001	-	-
		Monocyclic monoterpenoids	4-Acetyl-1,4-dimethyl-1-cyclohexene	9.019	-	0,0019	-
		Acyclic monoterpenoids	2,6-Dimethyloctan-2-ol	13.871	-	0,0042	-
		Carane monoterpenoids	7,7-Dimethyl-3-methylidenebicyclo[4.1.0]heptan-2-ol	9.021	-	-	0,0004
	Sesquiterpenoids; Monoterpenoids	Acyclic monoterpenoids; Farnesane sesquiterpenoids	2,10-Dodecadien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, (Z)-	13.059	0,0004	-	-
	Sesquiterpenoids	Farnesane sesquiterpenoids	3,7,11-Trimethyldodecan-3-ol	12.480	0,0015	-	-

		Bisabolane sesquiterpenoids	Juvabione	12.667	0,0009	-	-
		Eudesmane sesquiterpenoids	7-Isopropenyl-4a-methyl-1-methylenedecahydronaphthalene	10.562	-	0,0038	-
			beta-Selinene	10.558	-	-	0,0014
		Cuparane sesquiterpenoids	Widdrol	12.916	-	0,0046	-
		Longifolane sesquiterpenoids	3-Isolongifolol	12.685	-	-	0,0034
		Presilphiperfolane and Probotryane sesquiterpenoids	Ginsenol	16.510	-	-	0,0004
		Guaiane sesquiterpenoids	[(3aS,6S,6aR,9aS,9bR)-6a-hydroxy-6-methyl-3-methylidene-2,9-dioxo-4,5,6,7,8,9b-hexahydro-3aH-azuleno[4,5-b]furan-9a-yl]methyl 2-methylpropanoate	18.020	-	-	0,0019
	Diterpenoids	Phytane diterpenoids	6,10,14-Trimethylpentadecan-2-one	11.949	0,0044	0,0146	-
			Neophytadiene	12.020	0,0006	0,0066	-
			Phytane	10.632	-	-	0,0006
		Labdane diterpenoids	13(16),14-Labdien-8-ol	13.847	-	-	0,0107
	Triterpenoids	Friedelane triterpenoids	Acetic acid, 4,4a,6b,8a,11,11,12b,14a-octamethyl-3-oxodocosahydricen-2-yl ester	13.256	-	0,0048	-
		Acyclic triterpenoids	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracos-2,10,14,18,22-pentaene-6,7-diol	16.029	-	0,012	-
		Lanostane, Tirucallane and Euphane triterpenoids	Eburicol	16.783	-	0,0164	-
		Ursane and Taraxastane triterpenoids	alpha-Amyrin acetate	17.159	-	0,0323	-
		Cycloartane triterpenoids	24-Methylenecycloartanol	17.962	-	0,0364	-
	Steroids	Cholestane steroids	Cholesterol	12.543	-	0,025	-
		Cholestane steroids;Ergostane steroids	Ergostanol	14.23	-	0,0119	-
		Cholestane steroids;Stigmastane steroids	Stigmasterol	14.419	-	0,007	-
			Stigmastanol	15.616	-	0,0514	-
			beta-Sitosterol acetate	12.009	-	-	0,0039
		Stigmastane steroids	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(2R)-5-ethyl-6-methylhept-4-en-2-yl]-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	15.055	-	0,004	-
			Clionasterol	15.412	-	0,1366	-
			Stigmast-8(14)-en-3beta-ol	16.38	-	0,0609	-
			Stigmastan-3,5-diene	11.944	-	-	0,0022
		Pregnane steroids	14b-Pregnan	13.924	-	-	0,0581

		Unclassified	Ergostane-5,25-diol, 3,6,12-tris[(trimethylsilyl)oxy]-, 25-acetate, (3beta,5alpha,6beta,12beta)-	12.82	-	0,0023	-
	Unclassified	Unclassified	Grandlure III	9.018	0,001	-	-
			Spiro[1,3-dioxolane-2,2'(4'aH)-naphthalene]-4'a-methanol, 1',3',4',5',6',7'-hexahydro-	10.490	0,0004	-	-
			1-Methyl-6-(3-methylbuta-1,3-dienyl)-7-oxabicyclo[4.1.0]heptane	13.353	0,0013	-	-
			Naphthalene, decahydro-1,6-dimethyl-	14.142	-	-	0,0105
Shikimates and Phenylpropanoids	Phenylpropanoids (C6-C3)	Cinnamic acids and derivatives	Allyltetramethoxybenzene	10.885	0,0007	0,0044	-
	Phenolic acids (C6-C1)	Shikimic acids and derivatives;Simple phenolic acids	Butyl methyl phthalate	11.260	0,0002	-	-
			Diisobutyl phthalate	12.054	0,0011	-	-
			Dibutyl Phthalate	12.416	0,0022	-	-
			Phthalic acid	14.507	-	-	0,014
	Flavonoids	Unclassified	Methyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate	12.327	0,0013	-	-
	Shikimates and Phenylpropanoids	Cinnamic acids and derivatives	Apiole (parsley)	11.320	-	-	0,0007
	Unclassified	Unclassified	methyl (Z)-2-(benzhydrylideneamino)but-2-enoate	11.193	0,0002	-	-
2,2'-Methylenebis(4-methyl-6-tert-butylphenol)			14.075	-	-	0,0062	
Alkaloids	Pseudoalkaloids	Purine alkaloids	Adenine,6N-O-fluorobenzyl	12.723	-	-	0,0036
			1H-Purin-6-amine, N-((3-fluorophenyl)methyl)-	17.938	-	-	0,0021
	Tryptophan alkaloids	Carboline alkaloids	Adamantane-1-carboxamide, N-(1-methylbenzimidazol-2-yl)-	13.033	-	-	0,0075
	Unclassified	Unclassified	2-[2-(1-Ethylpropylidene)hydrazino]-N-isopropyl-2-oxoacetamide	10.810	0,0005	-	-
			2-Amino-4,6-dimethoxypyrimidine	13.754	0,0405	-	-
Polyketides	Aromatic polyketides	Depsides	Benzoic acid, 2-hydroxy-4-[(2-hydroxy-4-methoxy-6-methylbenzoyl)oxy]-6-methyl-, methyl ester	13.246	-	-	0,0113
Unclassified	Unclassified	Unclassified	Hexahydro-1,6-pentalenedione	8.015	0,0003	-	-
			2-Fluorobenzoic acid, heptadecyl ester	10.458	0,001	-	-
			1,8(2H,5H)-Naphthalenedione, hexahydro-8a-methyl-, cis-	10.620	0,0018	-	-

Abstract

This study aims to valorize the by-products of *Opuntia ficus-indica*—namely cladodes, peels, and seed cakes—for use in the nutrition of small ruminants. Chemical characterization of these biomasses was carried out using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS), complemented by metabolic classification through the NPClassifier artificial intelligence tool. The results revealed a marked diversity of bioactive compounds: fatty acids were predominant in the cladodes, while peels stood out for their high content of terpenoids and steroids. Diversity indices (Shannon, Simpson), along with similarity indices (Bray-Curtis, Jaccard), confirmed the metabolic heterogeneity, with peels appearing as the most complex matrix.

A molecular network was also constructed based on the identified metabolic classes, highlighting the structural and functional relationships among compounds derived from the different by-products.

Furthermore, the effects of essential oils from *Mentha suaveolens* Ehrh. and *Rosmarinus officinalis* were evaluated on the in vitro fermentation of the three by-products at various concentrations. The results indicated a limited impact on nutritional and fermentation kinetics parameters, although moderate improvements were observed for cladodes.

This dual approach, combining metabolomic profiling and fermentation analysis, underscores the potential of prickly pear by-products as a sustainable resource. The study paves the way for their optimized integration into animal feed and proposes a structured database of the identified metabolites, thereby contributing to more efficient, economical, and environmentally sustainable livestock nutrition.

Keywords: *Opuntia ficus-indica*, by-products, metabolomics, GC-MS, NPClassifier, molecular networking, essential oils, in vitro fermentation, small ruminant nutrition.

المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى تثمين المنتجات الثانوية لنبات التين الشوكي (*Opuntia ficus-indica*) ، وهي الألواح (cladodes)، والقشور، والكُسور الزيتية (seed cakes) ، لاستخدامها في تغذية المجترات الصغيرة. تم إجراء توصيف كيميائي لهذه الكتل الحيوية باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الغاز المقترنة بمطيافية الكتلة (GC-MS) ، واستُكمل ذلك بتصنيف أيضي باستخدام أداة الذكاء الاصطناعي NPClassifier. كشفت النتائج عن تنوع ملحوظ في المركبات النشطة بيولوجياً؛ حيث سادت الأحماض الدهنية في الألواح، في حين تميزت القشور بارتفاع محتواها من التربينويدات والستيرويدات. وقد أكدت مؤشرات التنوع (Shannon و Simpson) ، إلى جانب مؤشرات التشابه (Bray-Curtis و Jaccard) ، على التغيرات الأيضية، حيث ظهرت القشور كمصفوفة أكثر تعقيداً.

تم أيضاً بناء شبكة جزيئية استناداً إلى الفئات الأيضية المحددة، مما أظهر العلاقات البنوية والوظيفية بين المركبات المستخلصة من المنتجات الثانوية المختلفة.

وعلاوة على ذلك، تم تقييم تأثير الزيوت العطرية المأخوذة من *Mentha suaveolens* Ehrh. و *Rosmarinus officinalis* على التخمر داخل المختبر (*in vitro*) للمنتجات الثانوية الثلاثة بتركيزات مختلفة. أظهرت النتائج تأثيراً محدوداً على المعايير التغذوية والحركية للتخمر، رغم تسجيل بعض التحسينات المعتدلة في حالة الألواح.

تُبرز هذه المقاربة المزدوجة، التي تجمع بين التحليل الأيضي ودراسة التخمر، الإمكانيات الواعدة لمنتجات التين الشوكي الثانوية كمورد مستدام. وتفتح الدراسة آفاقاً جديدة لإدماجها المُحسن في علائق الحيوانات، كما تقدم قاعدة بيانات منظمة للمستقلبات المُحددة، مما يُساهم في تغذية حيوانية أكثر كفاءة واقتصادية وصديقة للبيئة.

الكلمات المفتاحية: *Opuntia ficus-indica* ، المنتجات الثانوية، الميتابولوميات، GC-MS ، NPClassifier ، الشبكات الجزيئية، الزيوت العطرية، التخمر داخل المختبر، تغذية المجترات الصغيرة.