

# Evolution de la concentration en protozoaires et en ammoniacque de fermentations ruminales avec un substrat supplémenté en extraits de plantes à saponines

## Evolution in protozoa and ammonia concentration of rumen fermentation with a feedstuff supplemented in extracts from saponin containing plants

BUDAN A. (1, 2), TESSIER N. (1), GUILLET D. (2), RICHOMME P. (2), CHICOTEAU P. (1)

(1) Nor-Feed Sud, 3 rue Amedeo Avogadro 49070 Beaucouzé, France

(2) Laboratoire Substances d'Origine Naturelle et Analogues Structuraux (SONAS), UPRES-EA 921, IFR QUASAV, Université d'Angers, 16 bd Daviers 49045 Angers, France

## INTRODUCTION

*Yucca schidigera* et *Quillaja saponaria* sont des plantes à saponines (PAS) utilisées en alimentation des ruminants pour optimiser la gestion de l'ammoniacque (NH<sub>3</sub>) dans le rumen, en particulier lorsque les rations sont riches en azote soluble (e.g. mise à l'herbe, manque d'énergie). Les données sur d'autres PAS sont rares bien que ces métabolites secondaires amphiphiles soient présentes dans beaucoup de végétaux. L'objectif de ce travail était de déterminer *in vitro* l'effet d'extraits de plantes à saponines sur l'évolution du nombre de protozoaires et sur la concentration en NH<sub>3</sub> du fluide ruminal.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. EXTRAITS DE PLANTES A SAPONINES

Des extraits aqueux secs de parties aériennes de *Calendula officinalis* et *Saponaria officinalis*, de racines de *Saponaria vaccaria*, *Gypsophylla paniculata* et *Primula veris*, de graines de *Trigonella foenum-graecum*, de tourteau de *Argania spinosa* et d'enveloppe de *Chenopodium quinoa* ont été réalisés par macération - centrifugation - lyophilisation. Des extraits de *Yucca schidigera* (Micro-Aid<sup>®</sup>) et de *Quillaja saponaria* Molina provenaient respectivement de Nor-Feed Sud et de Sigma-Aldrich. L'identification des saponines a été effectuée par déréglication (CLHP-MS<sup>n</sup>) et le contenu en saponines totales a été estimé par gravimétrie.

### 1.2. FERMENTATIONS RUMINALES

Les milieux de culture constitués d'un mélange fluide ruminal de vache laitière - solution tampon (1-2, v/v) ont été fermentés en seringues pendant 24h en triplicats (López et al. 2010). Le substrat était composé d'un mélange Ray grass-blé (70-30, MS: 960 g/kg, protéines: 89g/kg, ADF: 250g/kg, NDF: 492 g/kg, amidon: 172g/kg). Les extraits de PAS étaient mélangés au substrat (5-95) pour atteindre une concentration dans les milieux de culture de 0,4 mg/mL. Les protozoaires ont été dénombrés au microscope optique. L'ammoniacque total a été dosé par spectrophotométrie.

### 1.2. TRAITEMENT STATISTIQUE

Les données ont été traitées par analyse de la variance à deux facteurs (ANOVA) en utilisant XLSTAT (version 2011.2.04, Addinsoft, USA). Un test de Dunnett a été utilisé pour comparer les moyennes des traitements à celle du témoin (sans PAS). Les corrélations ont été étudiées avec un coefficient de Pearson standard (R).

## 2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. CARACTERISATION DES SAPONINES

De 3 à 21 saponines ont été identifiées par extraits, avec des différences structurales marquées, e.g. 31 sapogénines différentes, nombre d'unités osidiques allant de 1 à 12. Chaque extrait a ainsi été relié à un profil chromatographique particulier, ce qui permet d'associer son activité à un pool donné de saponines. La concentration en saponines totales variait de 95 à 373 mg/g.

### 2.1. PROTOZOAIRES ET AMMONIAQUE

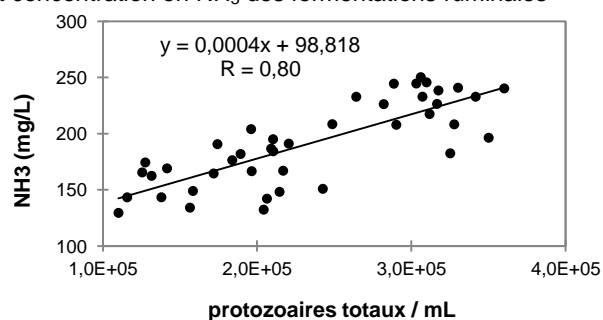
A l'exception de *S. officinalis* et de *C. officinalis*, tous les extraits ont influencé positivement la concentration en NH<sub>3</sub>. Une corrélation positive et linéaire (R=0.80, P<0.001) a été identifiée entre NH<sub>3</sub> et protozoaires, que l'on peut expliquer par une augmentation de la protéosynthèse engendrée par une diminution de la prédation due à l'effet anti-protozoaires des saponines (Wina et al., 2006).

**Tableau 1** Effet d'extraits de PAS sur fluide ruminal *in vitro* exprimé en fonction du témoin négatif

Extraits de plantes	Protozoaires	NH <sub>3</sub>
<i>P. veris</i>	-51,3%***	-30,9%**
<i>C. quinoa</i>	-41,8%***	-29,8%**
<i>G. paniculata</i>	-12,2%	-26,5%*
<i>Y. schidigera</i>	-33,0%**	-23,5%*
<i>Q. saponaria</i>	-49,9%***	-23,3%*
<i>T. foenum graecum</i>	-17,2%*	-20,0%
<i>S. vaccaria</i>	-25,7%***	-16,0%
<i>A. spinosa</i>	-24,3%***	-7,0%
Témoin	+0,0%	+0,0%
<i>S. officinalis</i>	-3,9%	+29,1%*
<i>C. officinalis</i>	+0,9%	+31,1%*

Différence significative à \*\*\*P<0,001, \*\*P<0,01, \*P<0,05, Tendence †P<0,10

**Figure 1** Régression linéaire entre nombre de protozoaires et concentration en NH<sub>3</sub> des fermentations ruminales



## CONCLUSION

A des doses économiquement viables en production, *P. veris*, *C. quinoa* et *G. paniculata* ont un effet *in vitro* plus marqué sur la concentration en NH<sub>3</sub> du rumen que *Y. schidigera*. Des études *in vivo* sont nécessaires pour confirmer le potentiel de ces plantes à orienter favorablement les fermentations du rumen.

Ces travaux ont bénéficié d'un financement de la région Pays de la Loire et de l'appui de Végépolys.

López, S., Makkar, H.P.S., Soliva, C.R. in VERCOE P.E., MAKKAR H.P.S., SCHLINK A.C. (Editors), *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. Springer Dordrecht, Pays-Bas. 191–231  
Wina E., Muetzel S., Becker K., 2005. *J. Agric. Food Chem.* 53, 8093–8105.