

ZV0000780

780

OK

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES
AGRICOLES (I.S.R.A.)

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES

PROGRAMME ABT

RESULTATS OBTENUS EN DIGESTIBILITE IN VITRO

Par D. FRIOT

avec la collaboration technique de

A. FAYE, B. AHOKPE, B. DIAW et

W. GOUDIABY

REF. N° 112/PHYSIO.
DECEMBRE 1983.

RESULTATS OBTENUS EN DIGESTIBILITE IN VITRO

Depuis plus de 15 ans, des digestibilités in vitro sont réalisées au LNERV dans le but d'établir des équations de prévision des dMS vivo et dMO vivo à partir de dMS vitro* et dMO vitro.

I - METHODE

La méthode utilisée est celle de Tilley et Terry qui a été modifiée et dont le protocole expérimental est joint en annexe.

La ration distribuée aux animaux fistulés donneurs de jus de rumen est un aliment d'entretien et de légère production dont la composition est la suivante :

- coque d'arachide broyée	: 30 kg
- SENAL (son de blé mélassé à 15 %)	: 55 kg
- maïs ou sorgho	: 15 kg
- complément minéral	: 3,5 kg

La coque d'arachide est broyée, depuis un an, avant incorporation aux autres éléments ce qui diminue les refus et garantit une ingestion plus homogène. La ration ainsi constituée apporte 80 g de MAD et 0,45 UF pour une dMS proche de 0,50.

II - PROBLEMES RENCONTRES

1) Le nombre des animaux fistulés est insuffisant. Il existe actuellement 2 bovins fistulés mais pendant de longs mois un seul de ces bovins a été disponible. Il est de plus difficile de maintenir tout au long de l'année une alimentation constante pour ces animaux par suite de rupture de stocks au niveau, soit des fournisseurs, soit du LNERV.

2) Pour vérifier/la reproductibilité des résultats d'une semaine à l'autre un fourrage témoin est inclus dans la série. Ce témoin n'est pas toujours le

.../...

* Voir en annexe la liste des abréviations et des unités utilisées.

même : il change à peu près tous les deux mois. Ce témoin est généralement un fourrage dont la digestibilité se situe entre 50 et 65 %. Peut-être faudrait-il constituer un stock de foin (*Panicum maximum* par exemple) qui servirait de témoin unique.

3) Dans les fourrages testés in vitro, il y a de nombreux fourrages pauvres (pailles notamment) dont la teneur en azote est faible et pourrait constituer un facteur limitant à l'attaque des micro-organismes du jus de rumen (teneur en azote ammoniacal insuffisante). Cette question avait été soulevée lors de la dernière mission de M. DEMARQUILLY au Sénégal ; celui-ci avait suggéré que l'on ajoute au jus de rumen une source azotée soluble à la salive artificielle. L'urée et le sulfate d'ammonium ont été testés sur 2 fourrages : une paille de riz et un foin de *Panicum* de mauvaise qualité. La teneur en azote a été calculée de façon à ajouter 0,010 g d'azote par tube, ce qui multipliait environ par 2 la teneur en azote du milieu.

Les résultats suivants ont été obtenus.

Source d'azote	N	Moyenne ± I.C 95 %	F
Paille de riz seule (40 g de MAT/kg de MS)	20	26,3 ± 2,2	F ₄₇ ² = 1,71 (NS)
Paille + urée	10	29,9 ± 3,5	
Paille + sulfate d'ammonium	20	25,8 ± 2,0	
<i>Panicum</i> seul	18	34,0 ± 1,5	F ₅₁ ² = 6,33 (S 5%)
<i>Panicum</i> + urée	12	32,3 ± 2,5	
<i>Panicum</i> + sulfate d'ammonium	24	36,1 ± 1,3	

Pour la paille de riz, il est impossible de conclure à un effet favorable de l'urée ou du sulfate d'ammonium (F non significatif).

Par contre, une différence significative apparaît pour le *Panicum* avec un effet légèrement positif du sulfate d'ammonium, soit l'effet contraire de celui observé pour la paille de riz. L'urée donne des résultats plus faibles. Devant des résultats aussi contradictoires, l'adjonction d'une source d'azote n'a jamais été utilisée en routine.

Des solutions plus complexes sont utilisées à l'INRA. Il serait certainement intéressant de les tester à Dakar.

4) Le problème du taux de refus est particulièrement important. En effet, les DIV sont réalisées sur le fourrage offert. Il est logique de penser que les DIV du refusé sont inférieures à celle de l'offert, et qu'en conséquence la DIV calculée pour le consommé est supérieure à celle de l'offert. L'influence sur la prévision des dMS vivo du consommé sera d'autant plus importante que les taux de refus seront plus élevés. Il est prévisible qu'apparaîtra ainsi une imprécision dans les équations de prévision des coefficients de digestibilité in-vivo à partir des DIV de l'offert. La solution serait de maintenir constant le taux de refus mais ceci n'est pas possible pour des impératifs décrits dans le rapport n° 96/PHYSIO.

5) La reproductibilité des résultats n'est pas toujours très bonne. Pour appréhender cette précision, les calculs des moyennes et intervalles de confiance ont été effectués pour quelques digestibilités. Les résultats sont rassemblés dans le tableau ci-dessous.

dMS vitro ± IC 95 %	N	dMO vitro ± IC 95 %	N
40,3 ± 1,5	11	43,3 ± 1,7	12
39,7 ± 2,1	8	38,5 ± 2,1	8
56,6 ± 2,6	8	56,8 ± 3,0	8
48,6 ± 1,7	14	47,5 ± 1,6	16
26,5 ± 2,4	8	23,4 ± 2,9	8
45,0 ± 2,8	8	43,5 ± 2,5	8
28,4 ± 2,6	8	25,6 ± 2,6	8
63,0 ± 2,5	10	62,1 ± 1,9	11
57,4 ± 1,4	16	54,5 ± 1,6	16

.../...

Les raisons suivantes peuvent être suspectées d'être la cause des intervalles de confiance élevés observés :

- prises d'essais non représentatives de l'échantillon (homogénéisation imparfaite),
 - l'agitation des tubes laisse souvent des particules de fourrages collées aux parois, ce qui diminue artificiellement les coefficients de digestibilités ; ces quantités de particules, bien que faibles, peuvent varier d'un tube à l'autre augmentant ainsi l'intervalle de confiance de la moyenne,
 - variabilité biologique du jus de rumen d'une semaine à l'autre ; cette variabilité tient à l'animal, aux conditions de son alimentation et certainement aux horaires de prélèvement et à l'endroit du rumen où le jus est prélevé ; ces paramètres ne sont pas tous parfaitement maîtrisables,
 - température des bains : ce facteur est régulièrement contrôlé et ne semble pas prépondérant bien que les pannes d'électricité survenant en dehors des heures de service passent inaperçues,
 - pertes à la filtration : celles-ci sont rarissimes et notées sur les feuilles de résultats,
 - variation de poids des creusets filtrants : il a souvent été constaté que le poids des creusets vides varie d'une expérience à l'autre, ce qui est dû soit à une perte de matière des ces creusets quelquefois friables, soit à un apport de substance (creusets ayant tendance à se boucher). Il n'est pas rare de constater un poids de "creuset + résidu calciné" inférieur au poids du creuset vide. Il s'agit de différences très faibles mais qui ne peuvent qu'influer négativement sur les résultats,
 - broyage des fourrages : tous les échantillons sont broyés par un broyeur équipé d'une grille de 1 mm mais la taille des brins n'est pas constante et ceci peut entraver l'attaque microbienne.
- 6) Le nombre d'échantillons testé annuellement est insuffisant. Ceci risque de gêner considérablement la suite du programme ABT, essentiellement pour la détermination des DIV des bols oesophagiens et des prélèvements du berger. Actuellement, comme il a été décrit dans le protocole, un fourrage

est testé en général 4 fois par semaine durant 2 semaines consécutives soit un total de 8 répétitions par échantillon. Dans les meilleures conditions, 13 échantillons et le fourrage témoin sont ainsi testés par quinzaine soit un maximum de 338 échantillons chaque année. Ce nombre n'est malheureusement jamais atteint pour de multiples raisons, certaines ayant déjà été explicitées ci-dessus :

- rupture d'aliments
- animaux malades
- les semaines où les résultats du fourrage témoin diffèrent de ce qu'ils sont habituellement, entraînent l'obligation de repasser la série une autre semaine
- d'autres programmes que le programme ABT sont demandeurs de DIV, ce qui diminue le nombre de mesures pour ABT.

7) L'observation des résultats des DIV montre que les dMS vitro sont généralement supérieures aux dMO vitro, ce qui ne paraît pas très logique. Il est difficile de fournir une explication satisfaisante. Il se pourrait que les problèmes de creusets évoqués au § II.5 en soit la cause.

Cette constatation est gênante pour l'exploitation des résultats des bols oesophagiens. Ceux-ci étant fortement imprégnés de salive, donc de matières minérales, il faudra utiliser les dMO vitro plutôt que les dMS vitro.

8) Influence de la composition chimique du fourrage sur les résultats de DIV.

Certains auteurs ont étudié l'influence de la composition chimique des fourrages sur les résultats de la DIV. Des études similaires ont été conduites au LNERV ; elles ont permis d'établir les équations de régression suivantes pour les pâturages naturels et les cultures fourragères.

Aliments	Equation de régression	N	r	SE
Pâturages naturels	$dMS_{\text{vitro}} = -0,1322 \text{ ADF} + 105,2$	17	0,849	4,6
	$dMS_{\text{vitro}} = -0,144 \text{ Cell} + 97,7$	17	0,841	4,7
Cultures fourragères	$dMS_{\text{vitro}} = 0,1125 \text{ MA} + 41,7$	54	0,603	5,3
	$dMS_{\text{vitro}} = 0,0677 \text{ MA} - 0,251 \text{ Li} + 70,7$	24	0,931	2,2
	$dMO_{\text{vitro}} = -0,314 \text{ Li} + 0,085 \text{ MA}$	24	0,938	2,3

III - RESULTATS

Les équations de régression liant la dMS vivo aux résultats des DIV et de l'analyse chimique ont été établies à l'aide de l'ordinateur 5120 et du logiciel statistique STAT II de la manière suivante :

- a) création de fichiers par type d'aliment (pâturages naturels, cultures fourragères, pailles, etc...) ; correction, mise à jour et impression de ces fichiers ;
- b) calcul des corrélations simples ;
- c) calcul des équations de régression.

Les variables dépendantes (appelées aussi variables à expliquer) étaient dMS vivo et dMO vivo. Les variables indépendantes (ou explicatives) étaient : dMS vitro, dMO vitro et la composition chimique de l'offert (matières organiques, cellulosiques, azotées, extractif non azoté, lignine, NDF, ADF et, pour certains calculs, l'insoluble chlorhydrique).

Les calculs ont toujours été menés de façon identique :

- a) sélection par la méthode de régression pas à pas des meilleures variables explicatives et calcul des coefficients de régression, terme constant, erreur-type, coefficient de corrélation. Seules ont été retenues dans les équations, les variables dont les pentes étaient significatives

b) les résultats des DIV n'étant pas toujours retenus par cette méthode, les équations dMS vivo ou dMO vivo = f (d vitro) ont été calculées; Dans certains cas, il a été possible d'améliorer ces régressions en ajoutant certains paramètres de l'analyse chimique en ne gardant, là aussi, que les variables dont les coefficients de régression étaient significativement différents de 0.

A - Résultats obtenus sur des pâturages naturels

N°	Equation de regression	N	r	SE
1	$dMS_{vivo} = 0,151 MA - 0,069 ADF + 72,2$	17	0,918	4n0
2	$dMS_{vivo} = 0,226 MA + 35,2$	17	0,877	4,7
3	$dMO_{vivo} = 0,132 MA - 0,086 ADF + 83,9$	17	0,909	4,3
4	$dMO_{vivo} = 0,225 MA + 37,9$	17	0,848	5,3
5	$dMS_{vivo} = 0,757 dMS_{vitro} + 16,8$	17	0,679	7,1
6	$dMS_{vivo} = 0,723 dMS_{vitro} - 0,103 ENA + 67,7$	17	0,827	5,7
7	$dMS_{vivo} = -0,143 ADF + 116,5$	17	0,826	5,5
8	$dMS_{vivo} = 0,189 MA - 0,053 Cell + 57,5$	17	0,908	4,2
9	$dMO_{vivo} = 0,847 dMS_{vitro} + 15,4$	17	0,737	6,8
10	$dMO_{vivo} = 0,729 dMO_{vitro} + 21,5$	17	0,662	7,5
11	$dMO_{vivo} = -0,151 ADF + 122,6$	17	0,843	5,4

La meilleure équation de prévision ne fait pas intervenir les DIV mais les matières azotées et l'ADF. Il faut être prudent dans l'utilisation de cette équation qui, du fait de leur nombre, donne beaucoup de poids aux pâturages naturels d'hivernage à forte teneur en azote. Lorsque les résultats seront en nombre suffisant, il sera nécessaire de reprendre ces calculs par saison (hivernage, saison sèche).

Les équations 5, 6, 9 et 10 font intervenir les DIV. Bien que les corrélations ne soient pas très élevées, elles pourraient s'avérer utiles pour l'étude des bols oesophagiens et des récoltes du berger.

Remarque : Pour les digestibilités avec concentré, la dMS vivo dont il a été tenu compte est celle du fourrage seul calculée par différence ; de même l'analyse chimique est celle du fourrage offert.

B - Résultats obtenus sur les fourrages cultivés

N°	Equation de régression	N	r	SE
1	$dMS_{vivo} = 0,462 dMS_{vitro} - 0,0319 ENA + 46,7$	54	0,649	4,3
2	$dMS_{vivo} = 0,509 dMS_{vitro} + 31,3$	54	0,612	4,4
3	$dMO_{vivo} = 0,490 dMS_{vitro} + 35,3$	54	0,623	4,1
4	$dMS_{vivo} = 0,0742 MA + 50,8$	54	0,479	4,9
5	$dMO_{vivo} = 0,446 dMO_{vitro} + 38,7$	31	0,563	4,7
6	$dMO_{vivo} = 0,0812 MA + 52,3$	31	0,539	4,8

L'équation 1 est la meilleure ; l'apparition de l'extractif non azoté semble curieuse bien que ce composant de l'analyse bromatologique se retrouve assez souvent dans les équations de régression. L'équation 2 ne fait intervenir que la dMS vitro et la perte de précision par rapport à l'équation 1 est très faible ; même remarque pour l'équation 3. Il serait donc judicieux d'utiliser les équations 2 et 3 pour prévoir les dMS vivo et dMO vivo des cultures fourragères.

C - Résultats obtenus sur des pailles

Le vocable pailles recouvre un ensemble assez disparate comprenant :

- des pailles de riz, de maïs ou de mil, avec ou sans concentré
- des pailles de maïs traitées à l'urée
- des pailles de mil traitées à la soude, avec ou sans concentré.

22 résultats de digestibilités vivo et vitro étant disponibles, il était difficile de faire les calculs statistiques sur des sous-groupes dont le nombre des données aurait été insuffisant.

Dans un premier temps, les calculs ont été effectués sur l'ensemble des 22 digestibilités ; les résultats sont les suivants.:

N°	Equation de régression	N	r	SE
1	$dMS_{vivo} = 0,901 dMS_{vitro} + 10,5$	22	0,701	7,5
2	$dMO_{vivo} = 1,358 dMS_{vitro} - 4,9$	15	0,663	8,8
3	$dMO_{vivo} = -0,516 Li + 80,2$	12	0,637	9,7

Ces équations ne sont pas satisfaisantes, l'erreur standard étant très élevée. La première équation est malgré tout la plus intéressante. Il faudrait pouvoir la confirmer en augmentant le nombre des données.

Dans un deuxième temps, les digestibilités avec concentré ont été éliminées pour ne garder que celles comprenant les pailles seules, ou les pailles traitées à la soude ou à l'urée ; les résultats sont rassemblés dans le tableau ci-dessous :

N°	Equation de régression	N	r	SE
1	$dMS_{vivo} = 1,070 dMS_{vitro} + 4,9$	13	0,693	7,6
2	$dMO_{vivo} = 1,13 dMS_{vitro} + 3,8$	13	0,645	7,8

Les équations obtenues sont peu différentes des équations 1 et 2 du tableau précédent ; les erreurs types sont similaires.

D - Résultats obtenus sur des aliments composés

Aucune corrélation significative n'a été décelée sur les aliments composés. Ce fait est peut-être dû à l'hétérogénéité de ce type d'aliment et à la difficulté de travailler sur des échantillons représentatifs.

Seules sont sorties deux équations reliant la **dMO vivo** à la cellulose dans un cas, et à l'extractif non azoté dans un autre cas.

N°	Equation de régression	N	r	SE
1	$dMO_{vivo} = -0,0418 \text{ Cell} + 69,2$	27	0,594	6,3
2	$dMO_{vivo} = 0,0381 \text{ ENA} + 39,4$	27	0,422	7,1

Ces Equations ne semblent pas appelées à révolutionner la nutrition des ruminants tropicaux.

E - Résultats obtenus sur des fanes d'arachide

Aucune corrélation significative en ce qui concerne les fanes, mais les résultats ne portaient que sur 5 digestibilités.

F - Résultats obtenus sur des ensilages

N°	Equation de régression	N	r	SE
1	$dMO_{vivo} = -0,0802 \text{ NDF} + 29,7$	9	0,671	6,1

Il n'existe pas d'équation prédictrice des **dMS vivo** ou **dMO vivo** incluant les résultats du vitro pour les ensilages. Seule l'équation ci-dessus faisant intervenir NDF est significative,

.../...

CONCLUSION

Les équations établies dans les lignes ci-dessus ne peuvent être que provisoires. Elles devront être recalculées au fur et à mesure que de nouveaux résultats seront disponibles. Il semble que la méthode in vitro de Tilley et Terry soit un bon moyen de prévoir les coefficients de digestibilité de la matière sèche et de la matière organique pour les pâturages naturels, les cultures fourragères et les pailles, Cette méthode ne, semble pas satisfaisante pour prédire les coefficients de digestibilité des aliments composés et des ensilages.

Quelquefois, comme il est montré dans les tableaux, certains paramètres de l'analyse chimique sont de meilleurs prédicteurs des coefficients de digestibilité que les résultats des DIV selon Tilley et Terry.

(-) N N E X E

. LISTE DES ABREVIATIONS ET DES UNITES UTILISEES

DIV = digestibilité in vitro selon Tilley et Terry

dMS vitro et dMO vitro = coefficients de digestibilité de la matière sèche et de la matière organique in vitro (en %)

dMS vivo et dMO vivo = coefficients de la digestibilité de la matière sèche et de la matière organique in vivo (en %)

MS = Matières sèches

MO = Matières organiques

MA = Matières azotées

Cell = Cellulose brute (méthode de Weende)

ENA = Extractif non azoté

NDF = Neutral detergent fiber

ADF = Acid detergent fiber

Li = Lignine

N = Nombre de données

r = Coefficients de corrélation

SE = Standard error (= erreur-type = $\frac{\text{écart-type}}{\sqrt{\text{nombre de données}}}$)

on g/kg de matière sèche

DIGESTIBILITE IN VITRO SELON TILLEY ET TERRY

La méthode de digestibilité in vitro utilisée au Laboratoire national de l'Élevage de Dakar est celle de TILLEY et TERRY. Cette méthode a été modifiée pour la rendre plus rapide et pour mieux suivre la reproductibilité des résultats.

PRINCIPE

La méthode de TILLEY et TERRY a été mise au point en Angleterre au GRASSLAND RESEARCH INSTITUTE. Elle comprend 2 étapes : digestion par les microorganismes du rumen suivie d'une digestion par la pepsine en milieu acide ; cette digestion pepsique complète la digestion par les microorganismes du rumen.

MATERIEL

- 2 fioles jaugées de 2 litres
- 1 éprouvette graduée de 2 litres
- 1 système d'aspiration du jus de rumen (pompe, crépine, tube d'aspiration)
- 2 bacs + 8 portoirs en altuglas
- 2 agitateurs thermostatés
- 1 thermomètre
- Béchers gradués de 50 ou 100 cm³
- 64 tubes de digestion (hauteur : 120 mm ; diamètre : 52 mm)
- 64 bouchons un trou par tube ci-dessus (avec tube en verre et tuyau plastique fendu à la lame de rasoir)
- 1 bouteille de gaz carbonique
- 1 balance au 1/10 mg
- 28 capsules en silice (diamètre : 55 mm ; hauteur : 27 mm)
- 1 étuve,
- 1 four à calcination,
- 64 creusets en alundum porosité large (diamètre : 41 mm ; hauteur : 45 mm)
- 1 pince à creuset
- 1 pinceau à balance
- 1 main pour pesée
- 2 dessicateurs
- 8 fioles à vide avec bouchon, allonge et collerette en caoutchouc!
- 1 pompe à vide,

REACTIFS ET PRODUITS CHIMIQUES

1) Solution tampon de MAC DOUGALL (salive artificielle)

- Préparation de la solution A

Dissoudre dans environ 6 litres d'eau :

. monohydrogénécarbonate de sodium (Na HCO ₃)	98 g
. monohydrogénéphosphate de sodium :	
Na ₂ HPO ₄	37,1 g
ou Na ₂ HPO ₄ , 2 H ₂ O	46,5 g
ou Na ₂ HPO ₄ , 7 H ₂ O	70,0 g
ou Na ₂ HPO ₄ , 12 H ₂ O	93,5 g
. chlorure de potassium (KCL)	5,7 g
. chlorure de sodium (Na Cl).....	4,7 g
. chlorure ou sulfate de magnésium :	
Mg Cl ₂ , 7 H ₂ O	1,2 g
ou Mg SO ₄ , 7 H ₂ O	1,2 g

Compléter à 10 litres avec de l'eau bi-distillée.

- Préparation de la solution B

Chlorure de calcium :

Ca Cl ₂	4 g
Ca Cl ₂ , 2 H ₂ O	5,3 g

compléter à 100 cm³ avec de l'eau bi-distillée.

Le jour de l'emploi, il faut ajouter 1 cm³ de la solution B à 1.000 cm³ de la solution A.

Vérifier le pH qui doit être situé entre 6,8 et 7,0.

2) Solution de pepsine

Cette solution doit être préparée au moment de l'emploi :

Pepsine 1 : 10.000	3.2 g
--------------------------	-------

compléter à 500 cm³ avec de l'eau distillée.

.../...

3) Solution d'acide chlorhydrique diluée

- Acide chlorhydrique concentré à 37 % : 200 cm³
- Compléter à 1.000 cm³ avec de l'eau bi-distillée.

MODE OPERATOIRE

1) Faire barbotter un volume légèrement supérieur à 4 litres de la solution A précédente avec du gaz carbonique pendant au moins 30 minutes à 39°C.

2) Prélèvement de jus de rumen

Sur 2 ou 3 bovins fistulés du rumen, prélever environ 1 litre de jus de rumen. Les bovins fistulés doivent recevoir une ration constante (aliment ID du moulin), L'abreuvement et l'alimentation des donneurs doivent être interrompus au moins 1 heure avant le prélèvement de jus de rumen. Le jus de rumen ne doit pas être prélevé trop bas dans le rumen. Le jus de rumen prélevé est filtré sur 4 couches de gaze. Dans 2 fioles de 2 litres, placer 400 cm³ de jus de rumen dans chaque fiole ; ajouter 2 ml de la solution B à chacune des fioles et compléter à 2 litres avec la solution A. Faire barbotter le contenu des 2 fioles avec du gaz carbonique pendant un minimum de 30 minutes à 39°C. Vérifier le pH qui doit se situer entre 6,8 et 7,0.

REMARQUE : s'il est impossible d'utiliser immédiatement le jus de rumen, il faut conserver ce jus à 39°C dans un flacon bouché.

3) Digestion avec le jus de rumen

Après séchage, les échantillons à tester sont broyés au broyeur GONDARD (grille de 1 mm). Les déterminations de la matière sèche et de la matière organique sont effectuées sur ces échantillons.

Placer environ 0,5 g exactement pesés dans les tubes à digestion. Ajouter rapidement 50 ml du mélange salive + jus de rumen, boucher et mettre à incuber pendant 48 heures à 39°C, 8 tubes ne contenant pas d'échantillon mais seulement le mélange jus de rumen + salive artificielle sont répartis dans les 2 bacs thermostatés. Veiller, pendant ces 48 heures, à ce que des particules d'échantillons ne se collent pas aux parois. Agiter douce-

ment chaque tube deux fois par jour (une fois le matin. une fois le soir). Vérifier régulièrement la température qui doit rester fixée à $39^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$.

4) Digestion par la pepsine en solution acide

Après les 48 heures de digestion par le mélange salive + jus de rumen, ajouter directement dans chaque tube 4 cm^3 de la solution d'acide chlorhydrique dilué pour bloquer l'activité bactérienne (laisser couler le long du tube pour nettoyer les parois). Ajouter ensuite 5 ml de solution de pepsine par tube. Reboucher les tubes et laisser à 39°C pendant 48 heures. Agiter doucement chaque tube deux fois par jour (une fois le matin et une fois le soir),

5) Filtration

Après les 48 heures de digestion pepsique, filtrer le contenu des tubes sur des creusets en alundum montés sur des fioles à vide reliées à une pompe à vide (les creusets auront préalablement été tarés après calcination et refroidissement dans un dessiccateur).

Les creusets + résidu sec sont séchés une nuit à 103°C . Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser. Calciner le creuset + résidu sec pendant au moins deux heures. Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser.

CALCULS

- M S : matière sèche de l'échantillon en g/kg brut
M O : matière organique de l'échantillon en g/kg sec
P E : prise d'essai en g brut (= (capsule + échantillon) - capsule vide)
R S : résidu sec en g = (creuset + résidu sec) - (creuset + résidu sec témoin)
R S T : résidu sec témoin en g (identique à R S mais concerne les tubes ne contenant que le mélange jus de rumen + salive artificielle)
R O : résidu organique en g = (creuset + résidu sec) - (creuset + cendres)
R O T : résidu organique témoin en g (identique à R O mais concerne les tubes ne contenant que le mélange jus de rumen + salive artificielle)
d M S : digestibilité de la matière sèche en %
d M O : digestibilité de la matière organique en %

.../...

$$dMS = \frac{PE \times \frac{MS}{1000} - RS + RST}{PE \times \frac{MS}{1000}} \times 100$$

$$dMO = \frac{PE \times \frac{MS}{1000} \times \frac{MO}{1000} - RO + ROT}{PE \times \frac{MS}{1000} \times \frac{MO}{1000}} \times 100$$

REMARQUES :

1) Calendrier des opérations

- Lundi : 8 h 30 : pH de la salive : barbottage à 39°C sous CO₂ de la salive .
9 h 30 : prélèvement du jus de rumen : pH de ce jus .
préparation du mélange salive + jus de rumen ;
10 h - 10 h 30 : préparation des tubes expérimentaux et mise en incubation à 39°C ;
vérification de la température (matin et soir) ;
agitation des tubes (une fois le matin, une fois le soir) ;
peser les creusets + résidus calcinés de la semaine précédente ,
- Mardi : Vérification de la température (matin et soir) ;
agitation des tubes (une fois le matin, une fois le soir) .;
- Mercredi : Ajouter HCl + pepsine ;
vérification de la température et agitation des tubes
(cf.ci-dessus)
- Jeudi : Vérification de la température et agitation des tubes ,
- Vendredi : Filtration des creusets et mise à l'étuve de ces creusets ;
détermination des matières sèches et organiques des échantillons de la prochaine série.

.../...

- ~ Samedi : Pesée des creusets + résidu sec ;
pesée des échantillons de la prochaine série ;
calcination des creusets + résidu sec.

2) Echantillons-répétitions

Chaque série comprend 64 tubes répartis en 2 bacs thermostatés soit 32 tubes par bac se répartissant de la manière suivante :

- .. 4 tubes témoins (salive + jus de rumen)
- .. 28 tubes expérimentaux pour 14 échantillons (soit 2 tubes/échantillon/bac).

Sur les 14 échantillons, il est fortement souhaitable d'inclure un échantillon témoin qu'on placera dans chaque série, tout au long de l'année ; ceci permet de vérifier la reproductibilité des résultats d'une série à une autre ; on peut ainsi éliminer les skies dont les résultats du fourrage témoin s'éloignent des résultats habituels.

Les 14 échantillons ci-dessus sont testés in vitro sur au moins 2 semaines consécutives ; un échantillon est ainsi testé sur 8 tubes (2 tubes x 2 bacs x 2 semaines).