

ZV0000 795

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES
AGRI COLES (I.S.R.A.)

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES

DAKAR-HANN

ETUDE DE LA VALEUR NUTRITIVE DES ALIMENTS DU BETAIL :
METHODE DES SACHETS DE NYLON ET ECOSYSTEME DU RUMEN

NOTE BIBLIOGRAPHIQUE

PAR SAFIETOU T. FALL

REF, N° 113/AL.-NUT.
NOVEMBRE 1985

S O M M A I R E

	<u>PAGES</u>
CHAPITRE I - INTRODUCTION	1
I.1 - Définition	1
I.2 - Historique	1
I.3 - Applications	3
 CHAPITRE II - ECOSYSTEME DU RUMEN ET FERMENTATION MICROBIENNE	 3
II.1 - La population microbienne du réticulo-rumen.....	4
II.2 - La fermentation microbienne	12
II.3 - Manipulation de l'écosystème du rumen	19
 CHAPITRE III - DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE DES SACHETS DE NYLON	 20
III.1 - Le matériel	20
III.2 - Le mode opératoire	20
III.3 - Expression des résultats	22
 CHAPITRE IV - FACTEURS DE VARIATION ET PRECISION DE LA TECHNIQUE DES SACHETS DE NYLON	 24
IV.1 - Variations liées au matériel	24
IV.2 - Variations liées au mode opératoire.....	30
 CHAPITRE V - CONCLUSION GENERALE	 32

I - INTRODUCTION

Cette note bibliographique sur la technique des sachets de nylon et l'environnement du rumen a pour objectif, après une définition et une étude historique de la méthode, de faire une revue sommaire de l'écosystème du rumen siège de l'opération avant de décrire la technique et d'examiner les différents facteurs de variation qui influent sur sa précision.

1.1 - Définition

L'étape ruminale est sans doute l'une des plus importantes dans le processus digestif chez les polygastriques.

L'écosystème du rumen a, en effet, des particularités physiques, chimiques et biologiques, qui permettent d'une part la dégradation des aliments ingérés et d'autre part la synthèse de nutriments utilisables par l'organisme. La possibilité d'évaluer en quantité et en qualité les produits terminaux de cette digestion ruminale permet de déterminer la valeur nutritive des aliments.

Parmi les méthodes connues, celles des sachets de nylon est l'une des plus simples. Elle utilise les conditions physiologiques "in situ" pour estimer la digestibilité des aliments dans le rumen.

Une étude concomitante de l'écosystème du rumen permet de manipuler son environnement en vue d'en optimiser le fonctionnement au profit de l'animal.

Moins chère et plus rapide que les techniques in vivo, elle offre l'avantage d'opérer directement sur l'animal et contourne le problème de reproduction des conditions physiologiques réelles qui se pose aux techniques in vitro.

1.2 - Historique

La technique des sachets de nylon dérive des poches de poche naturelles décrites en 1938 par Quin et al. Erwin et Elliston en 1959, Johnson en 1966 et Rodriguez en 1968 ont utilisé des sachets artificiels en nylon pour étudier la digestibilité des aliments dans le rumen.

Chenost et al., 1970, Mehrez et Orzkov, 1977 ont affiné la technique qui aujourd'hui a beaucoup évolué. Les nombreuses équipes de recherche qui l'ont appliqué, ont aussi étudié ses facteurs de variation et reconnaissent son utilité et les possibilités qu'elle offre.

1.3 Applications

Le domaine d'application de la technique des sachets de nylon est étendu :

1.3.1 Etude de la valeur alimentaire des aliments

La technique des sachets de nylon permet d'évaluer la valeur nutritive des fourrages et des sous-produits industriels en décrivant la dégradation qu'il subissent dans le rumen. Elle permet d'apprécier la cellulolyse, et la protéolyse en rapport avec la synthèse des protéines bactériennes et la formation d'acides gras volatils destinés à l'absorption intestinale. Elle complète ainsi les informations intrinsèques à l'aliment données par l'analyse bromatologique.

1.3.2 Etude de l'écosystème du rumen d'animaux recevant un type d'alimentation donné.

Les résultats obtenus avec les sachets de nylon sont en relation avec la vitesse de transit des aliments (Orzkov et Mc Donald, 1977) et leur vitesse de dégradation dans le rumen. L'on sait que ces paramètres déterminent en partie l'ingestion d'aliments par l'animal (Preston et Leng, 1984).

L'étude de la dégradation de la cellulose et des protéines donne une idée du type de micro-organisme en présence dans le rumen.

L'exploration fonctionnelle doit être complétée par un dénombrement microbien et la détermination du taux d'ammoniac et d'acides gras volatils. Le contrôle de l'activité du rumen sera discuté plus loin.

1.3.3 Contrôle de l'efficacité des traitements des aliments du bétail.

1.3.3.1 Le traitement chimique des pailles

Les sachets de nylon permettent de vérifier l'amélioration de la digestion des tissus pariétaux.

1.3.3.2 -- La protection des protéines de haute valeur biologique

Les suppléments **protéiques** contiennent des acides aminés qui doivent échapper à la **protéolyse** microbienne du rume : pour être directement absorbés dans l'intestin, Différents réactifs chimiques (Van Der Aar et al. 1984) permettent d'obtenir cette protection. La technique des sachets de nylon permet de vérifier son efficacité.

Ces multiples applications avantageuses expliquent l'intérêt que beaucoup de nutritionnistes portent à la technique des sachets de nylon.

Cependant: des inconvénients peuvent lui être reconnus :

- les nombreux facteurs de variations que nous allons discuter limitent sa précision (cf. chapitre IV),

- l'étape de la mastication est sautée ; notons que cette difficulté est contournée par le traitement (hachage ou broyage) des échantillons,

- la contamination de la prise d'essai par les micro-organismes du rumen ou des particules alimentaires qui traversent les pores du sachet.

Cette contamination peut être minimisée par un lavage du sachet (Orzkov, 1977, Kempton, 1980). Chenost et Demarquilly, 1970, suggèrent un traitement à la pepsine acide après incubation dans le rumen, tandis qu'Uden et Van Soest (1984) recommandent le traitement au détergent neutre (N.D.F.).

CHAPITRE II -- ECOSYSTEME DU RUMEN ET FERMENTATION MICROBIENNE

La technique des sachets de nylon a pour siège le réticulo-rumen. Les facteurs de variation qui limitent sa précision sont étroitement associés à l'écosystème du réticulo-rumen.

Une étude de cet écosystème est un préalable indispensable à la compréhension des variations liées à la technique.

Le réticulo-rumen est une grande cuve à fermentation qui contient des aliments ingérés, de l'eau, une population microbienne variée et très active et de l'urée salivaire recyclée. L'ensemble est tamponné par la salive qui maintient un pH voisin de 6,5 à une température de 39°.

2.1 - La population microbienne du réticulo-rumen

La présence d'une population microbienne dans le réticulo-rumen est la particularité majeure qui caractérise les Ruminants. Il s'agit principalement de bactéries, de protozoaires et de champignons, et secondairement de bactériophages, virus et mycoplasmes.

Ces micro-organismes ont la propriété essentielle de dégrader la cellulose et les protéines alimentaires, en vue de synthétiser leur propre corps, et de transformer les carbohydrates en acides gras volatils (AGV). L'animal absorbe ainsi la biomasse microbienne et les AGV qui représentent respectivement des ressources protéiques et énergétiques.

En 1966, Hungate a fait une étude assez exhaustive des microbes du rumen. Ces investigations se poursuivent actuellement et si le rôle des bactéries paraît clair, celui des protozoaires commence seulement à être élucidé (Leng, 1982, Demeyer, 1979, Jouany et Sansud, 1979) et pour les champignons des études plus poussées s'avèrent nécessaires (Orpin, 1975, Baachop 1979).

2.1.1 - Les bactéries

Les bactéries du rumen sont anaérobies en majorité ; un petit nombre de bactéries sont des anaérobies facultatives.

Les bactéries sont les principaux responsables de la dégradation des nutriments dans le rumen. Elles atteignent un nombre de 10^{10} par millilitre de jus de rumen. 70 pour cent des bactéries vivent attachées aux particules alimentaires fibreuses entamées par la mastication (Chesson et Orskov, 1984, Van Soest, 1982, Leng et Preston, 1984), 33 pour cent seulement flottent dans le jus de rumen. La fixation des bactéries au niveau de la surface des particules végétales se fait par un glyco-callyn .

.../...

TABLEAU 1 : VOLUME ET NOMBRE DES MICRO-ORGANISMES DANS LE RUMEN

Groupe et Espèce	Nombre $\times 10^6/m$	Volume cellu- laire moyen $\frac{\mu^3}{11}$	Masse mg/100 m
Bactéries	16 000	1	1 600
Selenomonas	100	30	300
Oscillospera			
Flagelles	1	250	25
Protozoaires			
Entodinium	0,3	10 000	300
Dasytriche			
Diplodinium	0,03	100 300	300
Isotriche			
Epidinium	0,11	1 000 000	1 100

Source : Warner 1362 cité par Van Soest 1982.

TABEAU 2 : PRINCIPALES ESPECES DE BACTERIES DU RUMEN, SUBSTRATS DIGERES ET PRODUITS FINAUX ET BESOINS

Source : Hungate 1966

Centres Espèces	Principaux Substrats	Produits finaux	Besoins nutritifs
Bacteroides			
- Amilophilus	Amidon	F, A, S	CO ₂ , NH ₃ , AGV
- Succinogenes	Cellulose	F, A, S	CO ₂ , NH ₃ , AGV, Vit
Ruminococcus			
- Albus	Cellulose, xylane	F, A, E, H ₂ , CO ₂	AGV, CO ₂ , NH ₃ , (Vit A)
- Flavofaciens	Cellulose, xylane	F, A, S, H ₂	
Butyrivibrio			
- Fibrosolvans	Xylane, Amidon	F, A, B, L, H ₂ , CO ₂	
Lachnospira			
- Multiparus	Pectine	F, A, L, E, H ₂ , CO ₂	A, Vit
Selenomonas			
- Ruminantium	Lactate, Amidon	A, P, L, CO ₂ , H ₂	A, (CO ₂)
Methanobacterium			
- Ruminantium	Formate, H ₂	Methane	A, AGV, Heme, CO ₂ , NH ₃

F = Formate

A = Acetate

P = Propionate

B = Butyrate

AGV = Chaines d'acides gras

E = Ethanol

S = Surcinate

L = Lactate

Br VFA : Chaine d'acides

Vit : Vitamine 3

Les parenthèses indiquent les produits mineurs

Le **prélèvement de jus** de rumen par **pompage** de la phase liquide donne un **échantillon** non représentatif de la **population bactérienne**. Le **broyage à 39"** des **phases liquides et solides** du **digesta** donne après filtration un **jus plus riche** en microbes,

Les **différentes espèces** en présence sont **caractérisées** par les **besoins nutritifs**, les **substrats attaqués** et les **produits finaux** (cf Tableaux 1 et 2).

Les **genres bactéroïdes** et **ruminococcus** sont plus **spécialisés** dans la **cellulolyse**. Cette **transformation** des polysaccharides se fait par **libération d'enzymes** (Chesson et Orekov, 1984).

Butyrivibrio et **Selenomonas** dégradent surtout l'**amidon**. Les **bactéries méthanogènes**, **synthétisent** le **méthane** à partir de l'**hydrogène** et des **radicaux carbonés libres**.

Le **régime alimentaire** offert **détermine** la **prédominance** numérique d'une **espèce** sur une autre.

Les **bactéries** mènent une **protéolyse** et une **cellulolyse** actives dans le **rumen**. De cette **dégradation**, elles tirent l'**ATP** et l'**ammoniac** indispensables à leur **croissance**. Elles sont ensuite **évacuées** vers l'**intestin grêle** où elles sont **digérées** par l'**hôte**.

2.1.2 " Les protozoaires

Les **protozoaires** sont **moins nombreux** que les **bactéries** dans le rumen 10^6 par millilitre (Hungate, 1966, Harrison et al 1979, Jarrige 1978).

.../...

TABLEAU 3 : CLASSIFICATION ET CARACTERISTIQUE DES PROTOZOAIRES DU RUMEN

Groupe et Genre	Principal substrat	Digestion de la cellulose	Produits	Durée de vie approximative (H)
Holotriches				
- Isotricha	Amidon, sucre	0	A, B, L, H ₂	48
- Dasytricha	Amidon, sucre	0	A, B, L, H ₂	24
Entodiniomorphes				
- Entodinia	Amidon	0 (+)	F, A, P, B, (L)	6 - 15
- Epidinium	Amidon Hemicellulose	0	A, B, H ₂ (F, P, L)	
Ophioscolex	Amidon		A, B, H ₂ , (P)	24 - 48
- Diplodinium		+		
- Euplodinium		+	H ₂ Acides gras	
- Polysplastron		+		48

Abreviations : F, formate ; A, acétate ; P, propionate ; B, butyrate ; L, lactate ; H₂, hydrogène.

Les parenthèses indiquent les produits mineurs.

Sources : Hungate 1966 cité par Van Soest 1982.

Par contre, leur volume est plus élevé que celui des bactéries.

Plus lourds, ils vivent dans le sac ventral du rumen attachés aux particules alimentaires, ou à la paroi du rumen.

Mal connu jusqu'à une période encore récente (Harrison et al. 1979) leur rôle fait aujourd'hui l'objet d'études très intéressantes (Jouany et Senaud 1979, Demeyer et Van Nevel 1979, Long 1984). On sait que les protozoaires participent d'une manière significative à la digestion des carbohydrates membranaires. Ils transforment en préférence les amidons (Hungate 1966). A l'instar des bactéries, les protozoaires utilisent l'ammoniac et synthétisent leurs propres protéines.

Les protozoaires accomplissent en permanence ce travail métabolique dans le rumen. Ils ne sont pas évacués vers le feuillet. Leur lyse s'effectue dans le rumen et il y a un recyclage de l'ammoniac "in situ".

2.1.3 - Les champignons

Ce sont des **phycomycetes** dont le mycelium est associé à la fraction solide du digesta. Les zoospores nagent dans le jus de rumen (Bauchop, 1979).

Les champignons s'attaquent les fibres. Selon Orpin 1975, ils sont chimiquement attirés par les végétaux nouvellement ingérés. Ils digèrent principalement la cellulose, les hemicelluloses, et secondairement attaquent la pectine et la lignine sans la digérer. Ils provoquent ainsi une rupture de la barrière lignifiée permettant aux bactéries de se fixer sur les surfaces entamées.

Il reste beaucoup à faire pour une meilleure connaissance du rôle et de l'importance des champignons dans la digestion ruminale. L'adhésion très intime avec les particules alimentaires rend difficile leur numération. L'importance de leur activité enzymatique doit être étudiée pour cerner plus précisément leur rôle dans la digestion des parois cellulaires.

2.1.4 - Interactions entre micro-organismes du rumen

.../...

2.1.4.1 - Relations entre bactéries du rumen

Les bactéries ont des relations symbiotiques. Il y a des espèces qui transforment des produits déjà prédigérés par d'autres (cf. schéma).

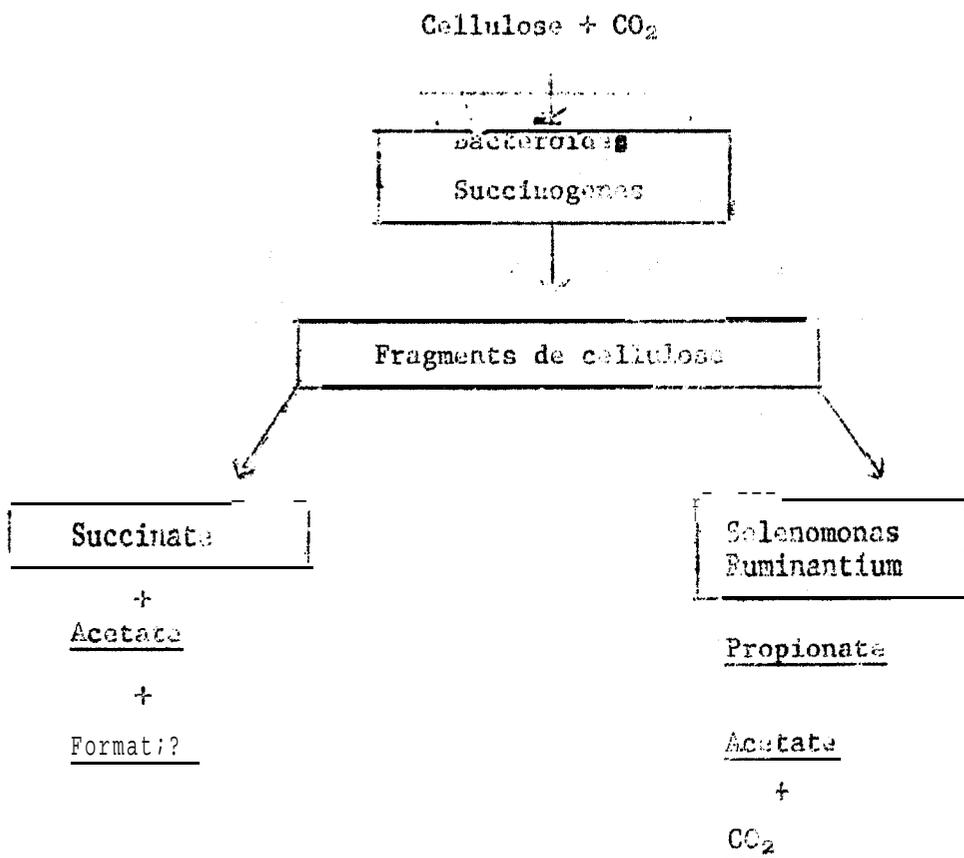
Ces interactions profitent à l'hôte.

2.1.4.2 - Relations entre bactéries et protozoaires

Dans le rumen, protozoaires et bactéries sont en compétition pour l'utilisation de l'ammoniac et de l'énergie sous forme d'ATP indispensables à leur croissance.

Les protozoaires ingèrent un grand nombre de bactéries (Jarrige 1973, Demeyer et al. 1979, Preston et Leng 1984), et ne sont pas absorbés par l'hôte. En effet 50 à 35 pour cent des protozoaires sont recyclés dans le rumen (Leng 1984).

SCHEMA 1 : ASSOCIATION BACTEROIDES - SELENOMONAS POUR LA DEGRADATION DE LA CELLULOSE.



Source : Van Soest 1982

Ce double rôle négatif de compétition et de prédation que jouent les protozoaires sur les bactéries explique leur contribution négative à la digestion ruminale.

Des expériences de défaunation par élimination des protozoaires,, tentées par Van Nevel et Demeyer en 1981 ont abouti à l'amélioration de la production des viandes et de laine par amélioration du bilan azoté des rations.

2.1.4.3 - Interactions entre bactéries - protozoaires et champignons

Les études concernant les interactions entre les champignons et les micro-organismes du rumen sont récentes (Bauchop 1979, Orpin 1975).

Tout en étant en compétition avec les bactéries, pour la colonisation des particules alimentaires, les champignons attaquent les premiers substrats et les bactéries les colonisent ensuite.

En 1975, Orpin trouve que les protozoaires limitent la croissance des champignons en ingérant leurs zoospores.

Les interactions entre micro-organismes sont complexes et pas encore bien connues.

Ils doivent guider toute manipulation de l'écosystème du rumen.

2.1.5 - Conclusion

Les différents micro-organismes présents dans le rumen sont les véritables responsables de la digestion ruminale. Ils constituent une population variée, très instable et très sensible à l'influence du régime alimentaire.

Il y a des variations liées au site de prélèvement, aux individus recevant un même type de ration, au jour et à l'heure du prélèvement.

Cela explique la complexité de ces études sur l'écosystème du rumen et la nécessité de décrire en détail les conditions opératoires.

.../...

2.2 - La fermentation microbienne

2.2.1 - Les substrats (cf. Tableaux 2 et 3).

Après mastication, les fragments de végétaux dans le rumen sont colonisés par les micro-organismes dans l'heure qui suit leur ingestion. Les carbohydrates et protéines sont dégradés. La quantité et la qualité du régime alimentaire et la vitesse de transit déterminent le type de fermentation.

Protéolyse, protéosynthèse, cellulolyse, et formation d'acide gras volatil et d'ATP se font par des réactions biochimiques complexes (Hungate 1966, Van Soest 1982, Cheeson et Orskov 1984, Preston et Leng 1984) mais dont la stéochimétrie est bien connue aujourd'hui,

Ces fermentations mettent à la disposition de l'hôte des produits finaux destinés à l'absorption gastrique et intestinale.

2.2.2 - Les produits finaux de la digestion microbienne

Le faciès microbien est d'une stabilité fragile, mais les produits finaux sont d'un type constant. Ce sont :

- l'ammoniac
- les acides gras volatils
- les gaz : le méthane et le gaz carbonique
- les corps microbiens.

2.2.2.1 - L'ammoniac

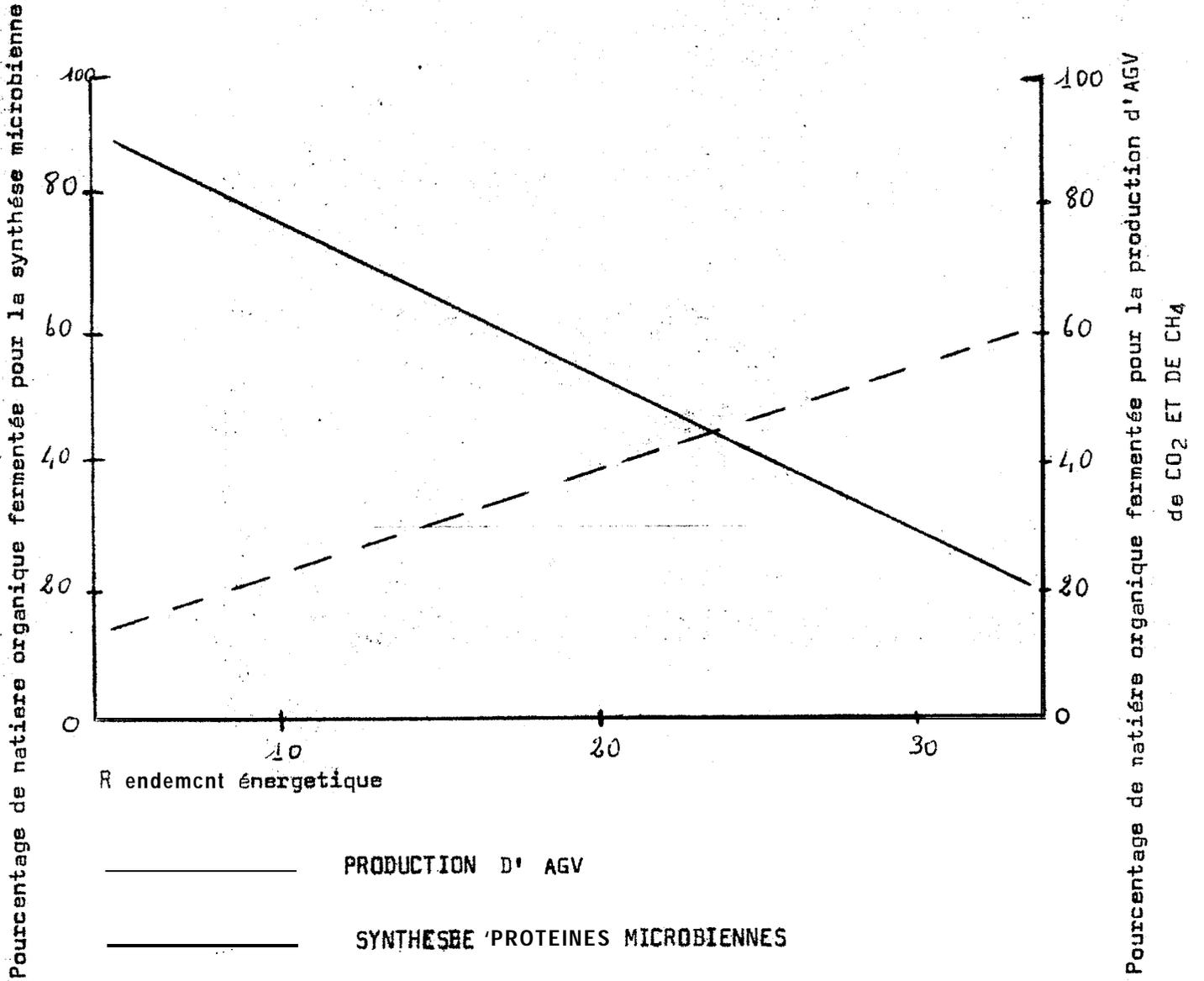
L'ammoniac est le produit final de la dégradation des matières protéiques du régime alimentaire,

Les chaînes polypeptidiques sont cassées. Les acides aminés qui en dérivent sont désaminés. Il y a ainsi libération de chaînes carbonées et d'ammoniac dans le rumen. Les micro-organismes utilisent l'ammoniac dans le rumen, pour synthétiser leurs propres protéines.

La concentration en ammoniac du jus de rumen est un facteur limitant de la synthèse des protéines microbiennes. La concentration limite inférieure conseillée par beaucoup d'auteurs est de 7 mg/100 ml de jus de rumen (Harrison et Mc Allan 1979,

Courbe

RELATION ENTRE LA PRODUCTION D'AGV ET LA SYNTHÈSE MICROBIENNE



Source : Preston 1984

TABEAU 4 : INFLUENCE DU REGIME ALIMENTAIRE SUR LA COMPOSITION DU MELANGE D'ACIDES GRAS VOLATILS PRESENTS DANS LE RUMEN DES VACHES LAITIERES,

D'après M. JOUNET, A, HODEN, B. REMOND, R. VERITE « Manuel d'alimentation des Ruminants, IN

Nature du régime	Composition du mélange d'acides gras volatils				pH
	Acide acétique	Acide propionique	Acide butyrique	Autres acides	
Herbe de prairie naturel : début 1 ^{er} cycle	62,5	21,5	13,4	2,6	
Barbe de prairie naturel : repousse d'automne	68,0	20,5	7,7	3,8	6,6
Regain de ray gras d'Italie	66,2	20,4	10,9	2,5	
Foin de luzerne en bourgeons	70,2	17,9	7,7	4,2	6,5
Paille d'orge	74,8	16,3	7,5	1,4	6,8
Luzerne deshydratée condensée	67,8	20,5	10,0	1,7	
Ray gras deshydrate condensé	57,0	24,4	16,5	2,1	
Ensilage d'herbe de prairie naturelle	71,2	18,2	6,4	4,2	
Ensilage de maïs stade laitoux à 20 % de MS	68,8	18,3	9,6	3,3	
Ensilage de maïs riche en grain 34 à 37 % de MS	61,8	20,6	12,9	4,7	
		23,7	12,0	4,2	
Foin de luzerne très bon 3 battraves à 21 % de MS	67,2	18,0	11,2	3,6	7,0
		18,4	18,1	2,6	6,8
Foin de graminées+ pulpes de battraves deshydratées	70,5	17,8	10,3	1,4	
		21,3	9,6	1,5	
Ration agglomérée ad libitum(+ 1,5 kg foin normal	66,2	21,8	10,2	1,8	6,2
Aliment concentré (Orge) ad libitum + foin	57,5	19,7	15,0	7,2	6,1
Aliment concentré (Orge+tourteau) ad libitum + foin	46,7	27,6	17,9	5,2	6,1

TABLEAU 5 : VARIATION DU TYPE DE FERMENTATION EN FONCTION DU REGIME ALIMENTAIRE

	Céréales 1 0 0 %	Fourrages pauvres 100 %	Mélasse 80 % Fourrage sec 15%
Nombre d'animaux	4	3	4
pH	6,1	7,1	6,6
AGV totaux m Eq/litre	157	32	132
Pourcentage molaire d'acides gras volatils			
Acide acétique	44,9	76,2	49,7
" propionique	42,7	15,2	21,3
" butyrique	5,8	7,4	25,7
" isobutyriques	1,3	0,4	0,3
" valérique	2,2	0,2	2,8
" isovalérique	2,0	0,3	0,2
" caproïque	0,7		0,7

Source : Preston 1975.

Des concentrations élevées en acide acétique correspondant à des teneurs faibles en acide butyrique et propionique sont la marque d'une faible digestibilité. De telles rations peuvent seulement assurer l'entretien des animaux. Inversement, de fortes teneurs en acides butyrique et propionique résultent d'une digestibilité élevée et permettent d'assurer une production élevée essentiellement de viande et de graisse. Calvet et al. 1971.

2.2.2.3 - Les corps microbiens

Bactéries, protozoaires et champignons, utilisent l'énergie et l'ammoniac du digesta pour synthétiser leur propre corps. Ces protéines microbiennes, les bactéries essentiellement sont entraînées par le flot de matière liquide et indigeste vers l'intestin où elles sont absorbées.

Les protozoaires qui sont de gros consommateurs d'ammoniac et d'énergie (ATP) sont recyclés dans le rumen baissant ainsi fortement le rendement microbien, et par conséquent la digestion des matières protéiques.

De nombreux auteurs ont essayé de déterminer la quantité de protéines microbiennes réellement digérées dans le duodenum.

Les techniques proposées reposent sur un marquage sélectif des micro-organismes et leur séparation des autres particules du digesta par centrifugation différentielle (Hutton et al 1971 cité par Van Der Aar et al 1984).

Divers marqueurs ont été testés. Van Navel et Demeyer ont utilisé le ³²P. Lang en 1984 marque sélectivement les protozoaires à l'aide de ¹⁴C Harrison et Mc ALLAN en 1979 comparent différents marqueurs : ADN, ARN, ³²P, ³⁵S, ¹⁵N AEP*. Ils trouvent des différences significatives d'un marqueur à l'autre.

La détermination de la contribution microbienne au digesta comporte des difficultés liées à la représentativité de l'échantillon duodécal et à l'isolement complet des micro-organismes. Les méthodes proposées sont complexes et d'une fiabilité douteuse (Siddon et al 1979). La mise au point de méthodes simples et fiables reste à faire (Lang 1984).

2.2.2.4 - Méthane et gaz carbonique

Le méthane est synthétisé par les bactéries méthanogènes à partir des chaînes carbonées libres résultant de la dégradation des carbohydrates membranaires. Il représente une perte énergétique éliminée par éructation.

* ADN : Acide desoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

³²P : Phosphore 32

¹⁵S : Soufre 15

¹⁵NAEP : Acide Amino ethyl phosphorique

DAPA : Acide diamino pipéridique.

Produit final ou métabolite intermédiaire de la dégradation des carbohydrates et protéines alimentaires, le CO₂ provient aussi des bicarbonates salivaires.

Il est réduit à l'état de méthane par les bactéries méthanogènes et éliminé dans le milieu extérieur par éructation.

2.2.3 - Facteurs limitant et contrôle de la fermentation microbienne

La croissance microbienne est globalement inefficace comparée à la production d'AGV, elle est deux fois moins rentable (Demeyer et al 1979). Leng en 1984 avançait un rendement inférieur à 50 pour cent.

La croissance microbienne est sous l'influence de facteurs limitants liés au régime alimentaire, au faciés microbien ou à l'hôte.

- Le régime alimentaire est un important facteur limitant. La quantité et la qualité des aliments ingérés déterminent largement la transformation qu'ils subissent dans le rumen.

- Les protéines, l'énergie, le soufre, le phosphore et les vitamines doivent être sous une forme disponible et en quantité suffisante pour permettre aux micro-organismes de synthétiser leur corps et de dégrader les carbohydrates.

- La vitesse d'écoulement et une augmentation de la vitesse de vidange du rumen favorise la croissance microbienne.

- Le faciés microbien : les besoins en énergie et ammoniac et le temps de séjour des micro-organismes dans le rumen influent sur l'efficacité de la fermentation.

Les protozoaires ont un bilan global négatif.

- L'ingestibilité, les préférences alimentaires, et la taille du rumen influent sur la fermentation.

Le protocole de contrôle de l'activité du rumen comporte les mesures suivantes :

- . pH du jus de rumen
- . Teneur en ammoniac du jus de rumen
- . Teneur en matière sèche du jus de rumen
- . Dénombrement microbien
- . AGV : AGV totaux
proportions d'acide propionique, butyrique et acétique.
- . Uremie.

Ces données doivent être mises en rapport avec la composition chimique de l'aliment.

L'ammoniac, le pH et les ACV sont les déterminations les plus importantes de ce protocole, complété par la mesure de la cellulolyse et de la protéolyse par la méthode des sachets de nylon.

2.3.- Manipulation de l'écosystème du ruminant

Application pratique de l'étude de la physiologie digestive du ruminant, la manipulation de son écosystème a pour but de créer les conditions optimales de son fonctionnement, en vue d'améliorer le rendement microbien et d'augmenter la productivité du bétail (Bird et al 1978, Demeyer et al 1971, Leng 1984).

Après un contrôle de l'activité du ruminant, on utilise des agents chimiques et biologiques capables de neutraliser les facteurs négatifs qui influent sur la fermentation.

L'urée par exemple fournit de l'azote non protéique au ruminant ; elle augmente ainsi la concentration en ammoniac et contribue à une régulation du pH.

Son administration doit être liée à la supplémentation en une source énergétique facilement fermentescible et en protéines alimentaires.

Selon Harrison et Mc Allan 1979, les produits halogénés dépriment la méthanogénèse.

La défaunation par suppression des protozoaires améliore la digestion des matières azotées.

Certains agents anabolisants ont pour site d'action le ruminant. Le monensin par exemple oriente la production d'ACV vers une prédominance propionique aux dépens des acétates et butyrates. Il inhibe la méthanogénèse et élimine les protozoaires en masse. Il favorise ainsi l'engraissement (Harrison et Mc Allan 1979). Le monensin déprime en même temps la cellulolyse. C'est pourquoi on n'obtient une réponse significative qu'avec des ruminants d'erbouche riches en céréales et pauvres en cellulose (Van Soest 1982).

.../...

CHAPITRE III - DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE DES SACHETS DE NYLON (Chenost et al 1976, Mehrez et Orskov 1977, Demarquilly et al 1981).

3.1 - Matériel

La grande variabilité du type de matériel et de la méthodologie globale, en fonction des auteurs sera discutée dans le chapitre sur les facteurs de variation. Nous présentons ici une liste du matériel conseillé par la plupart des auteurs (cf. Bibliographie).

- tissu nylon de maille connue, généralement compris entre 10 et 70 microns
- machine à souder ou appareil à souder pour sceller les sachets
- cordelette en nylon
- lest de plomb enrobé de plâstic
- animaux : lot de trois bovins ou ovins fistulés du rumen. Les fistules doivent être d'une largeur minimale de 40 mm.
- balance
- étuve ventilée thermoréglable.

3.2 - Mode opératoire

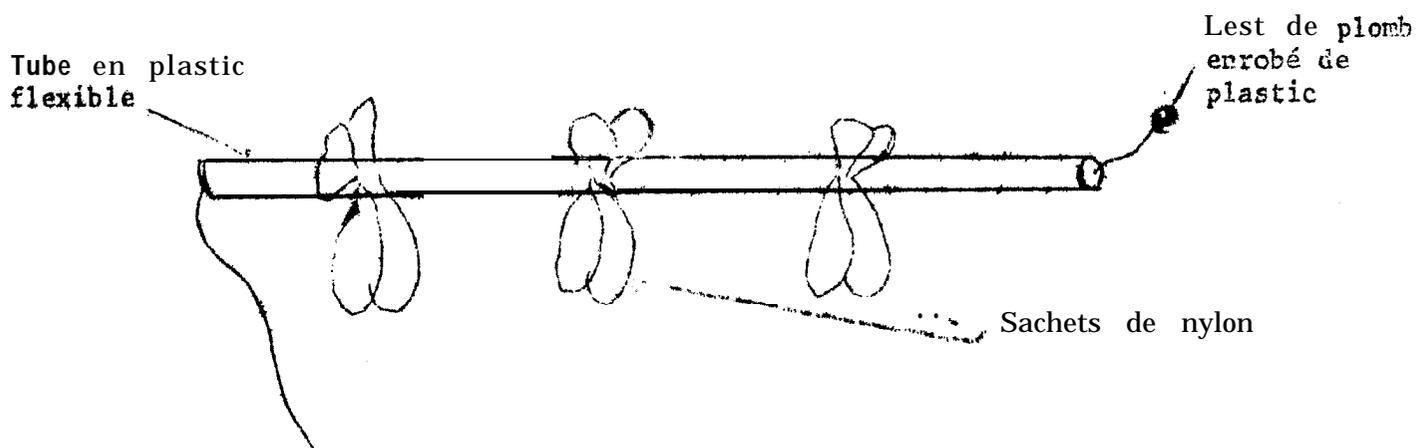
La prise d'essai d'un échantillon sec broyé au tamis 1 mm, ou hachée pour les échantillons humides, est introduite dans un sachet de nylon d'une taille et d'une porosité connues. Le sachet est scellé puis introduit à travers une fistule dans le rumen d'un animal recevant un régime alimentaire déterminé.

.../...

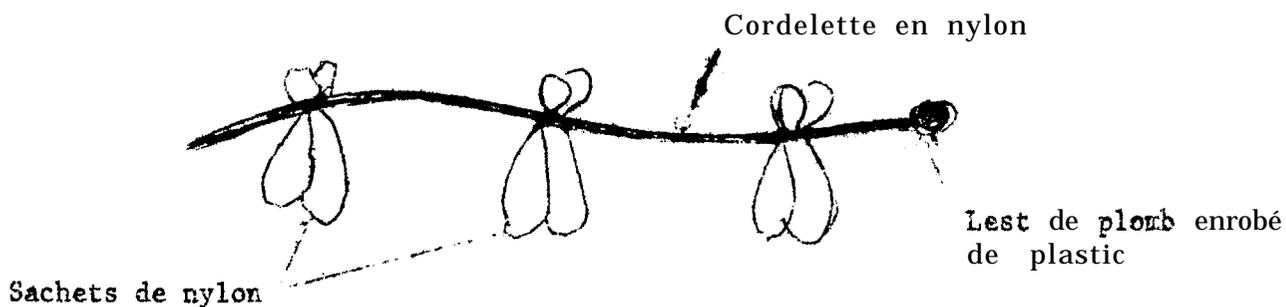
* Méthode de suspension des sachets dans le rumen.

2 méthodes au choix :

1° - Fixation des sachets de nylon sur un tuyau plastic.



2°) -- Fixation des sachets nylon le long d'une cordelette en nylon.



Ces systèmes de fixation permettent une désincubation plus facile en évitant l'agglomération des sachets.

Le sachet est **désincubé** au bout d'un **temps** choisi. Il est ensuite **lavé** sous un courant **d'eau jusqu'à** ce que l'eau de lavage soit claire, puis **séché à l'étuve à 70°** pendant 24 heures.

La **différence** de poids entre le **sachet** acellé avant et après incubation, exprime en pour cent de **matière sèche**, représente la **dégradabilité**, la **solubilité** ou la **digestibilité** de la matière sèche dans le rumen.

La **détermination** de la teneur en azote et en fibres du résidu permet d'obtenir la **dégradabilité** des protéines et des parois cellulaires.

3.3 * Expression des résultats

L'incubation de **plusieurs** sachets à la fois et leur **désincubation** à des intervalles de temps différents permet de **déterminer** la vitesse de **dégradation** de la **matière sèche**, de l'azote, ou des constituants pariétaux des aliments dans le rumen.

De **nombreux** auteurs ont fait un grand nombre de **répétitions** de ces **expériences** et ont mis au point des **équations** de **régression** qui **expriment** la digestibilité en fonction du **temps**. Jan Cizek en 1970 propose la formule :

$$Y = a + b \log X$$

ou Y est une **estimation** de la **digestibilité** de la matière **sèche** dans le rumen. et X le temps d'incubation dans le **rumen**.

Uden et Van **Soest** 1984 étudient la **cinétique** de la dégradation de la membrane cellulaire in **situ** et in vitro. Ils **adoptent** l'**équation** de Smith et al 1972 :

$$R = Ae^{-kt} + B$$

ou R = **Résidu** membranaire

A = Fraction membranaire **potentiellement** digestible

K = **Vitesse** de dégradation de la paroi cellulaire

B = Fraction membranaire indigestible.

Mehrez et **Orskov** en 1977 proposent la formule suivante :

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

.../...

où P = dégradabilité potentielle

a = dégradabilité immédiate, obtenue par lavage d'un sachet scellé et contenant une prise d'essai sans incubation dans le rumen.

b = dégradabilité au temps t

c = vitesse de dégradation

Pour un aliment donné, cette formule est applicable à la matière sèche et aux matières protéiques.

Orskov et Mc Donald en 1979 trouvent que cette formule empirique surestime la dégradabilité des aliments. Ils proposent une nouvelle formule qui intègre le temps de séjour des aliments dans le rumen :

$$P = A + \frac{Bc}{C + k} (1 - e^{-(c + k)t})$$

où P = dégradation effective au temps t

A = proportion de rourrage présent dans le sachet au temps 0

B = proportion de fourrage dégradable immédiatement

k = vitesse d'écoulement du digesta mesuré à l'aide de marqueurs

c = vitesse de dégradation des aliments.

Beaucoup de chercheurs s'inspirent de cette formule (Demeyer 1979, Preston et Leng 1984, Kempton 1980, Oketa 1983). En pratique, il appartient à chaque laboratoire de mettre au point la technique, de la standardiser et surtout de vérifier dans les conditions locales, l'applicabilité des formules mathématiques proposées.

L'étude cinétique de la digestibilité de la matière sèche et des nutriments dans le rumen, et l'expression des résultats par une représentation graphique et des équations de régression procurant déjà des informations très utiles.

.../...

CHAPITRE IV -- FACTEURS DE VARIATION ET PRECISION DE LA TECHNIQUE DES SACHETS DE NYLON.

Si pour l'essentiel des auteurs s'accordent sur les domaines d'application de la technique des sachets de nylon, il en est autrement du matériel utilisé et des modes opératoires proposés. Il y a une grande disparité des données disponibles et chaque laboratoire a sa propre technique.

4.1 - Variations liées au matériel.

E.1.1 - Le tissu utilisé pour la confection des sachets est en fibre polyester qui a la propriété d'être indigestible. Il est caractérisé par la taille des mailles. Le tableau 6 rend compte d'un grand nombre de variations d'un laboratoire à l'autre.

Constatant cette disparité, de nombreux auteurs ont fait une étude comparative de tissus à différentes mailles de 10 à 100 microns. C'est ainsi que Uden et Van Soest 1982 suggèrent un optimum de 30 microns alors que Orskov 1984 fixe un maillage compris entre 20 et 40 microns.

La taille des mailles doit être mise en rapport avec le traitement de l'échantillon avant incubation. Pour le broyage des échantillons secs différents tamis sont proposés (tableau 6). Les échantillons humides subissent un hachage grossier avec une grille approximative de 5 mm (Orskov 1981).

Le but de ce traitement préalable est d'entamer les surfaces ligneuses pour permettre aux bactéries et protozoaires de s'y fixer facilement (cf. Chapitre II)

TABLEAU 6 : TISSU NYLON DIMENSION SACHET, PRISE D'ESSAI ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS : VARIATIONS BIBLIOGRAPHIQUES

Auteurs	Source	Maille du tissu nylon µ	Quantité incubée g	Tamis de broyage des échantillons mm	Dimensions du sachet cm	Quantité incubée par unité de surface de sachet mg/cm ²
Van Keuren 1962	24	-	10	-	5,1 x 11,4	86,0
Playne 1978	24	-	3	-	6 x 6	41,7
"		-	6	-	6 x 12	41,7
"	24	-	9	-	6 x 18	41,7
Figroid 1972		-	10	-	10,2 x 17,8	47,5
Mehrez 1977	24	-	5	-	17 x 9	16,3
Bailey 1962		-	5	-	10,2 x 15,2	16,1
Demarquilly 1969	24	-	3	-	15 x 7	14,3
Aerts 1976	24	-	3	-	15 x 8	12,5
Mc Manus 1972	24	-	2	-	15 x 15	4,4
Istasse et al 1981	24	50	2	-	6 x 7	23,8
Orskov 1980	40	12	3	2,5 à 3	14 x 9	11,9
Loerch 1983	34	20 à 70	*	-	8 x 14	
Chenostetcoill 1970	8	<50	3	-	15 x 7	14,2
Master et coll 1983	21	43	2	-	3 x 21	15,8
Okake et coll 1983	38	10	5	-	9 x 16	17,3
Kempton 1981	28	-	3 à 5	1	15 x 8	12,5 à 20,8
Mehrez et Orskov 1977	28	-	4 à 5	-	20 x 9	11,1 à 13,3
Demarquilly et Jarrige 1981	14	50	3	1	15 x 7	14,2
Orskov 1984	39	20 à 40	3 à 5	2,5 à 3	14, x 9	11,9 à 19,8
De Faria 1984	11	35	2	-	12,5 x 9	17,7
Uden et al 1984	51	37	-	2	5 x 12	6 à 7
Stern et al 1984	47	52 ± 16	0,5	1	6 x 10	4,1
Anderson et al 1981	3	150	0,5	-	6 x 15	2,7
Van Der Aar 1982	52	20 à 70	*	-	8 x 14	-
Van Soest 1982	54	30	-	-	-	-

* : Quantité équivalente à 250 mg de protéines brutes.

Le choix de la taille des mailles du tissu doit être guidé d'une part par la nécessité de permettre la pénétration du jus ruminal et des micro-organismes dans le sachet et d'autre part d'empêcher la pénétration de particules extérieures et la perte de la prise d'essai.

L'incubation concomitante d'un sachet vide dit sachet "blanc" permet d'évaluer la quantité des particules qui pénètrent le sachet et d'apporter une correction aux résultats.

Ces conditions réalisées, les différences observées sont significatives pour les premières heures d'incubation, mais ne sont pas pour le terme final de la dégradation avec les mailles habituellement utilisées comprises, en 20 et 70 microns (Kempton 1980, Orskov 1981).

4.1.2 - Taille du sachet et prise d'essai

Diverses tailles de sachet sont indiquées par les auteurs. La prise d'essai aussi varie d'une publication à une autre (Tableau 6). Il est plus pratique de considérer le rapport prise d'essai sur surface tissulaire disponible.

Uden et Van Soest 1984 suggèrent un optimum de 6 à 7 mg/cm².

Mesurant la dégradabilité des protéines de différents suppléments, Van Der Lee et Loerch en 1983 prennent des quantités d'aliment équivalentes à 250 mg de protéines brutes.

Pour Orskov 1984, la prise d'essai doit être choisie en fonction des analyses à faire sur le résidu. L'essentiel est que l'aliment puisse être imprégné de jus de rumen et bouger librement dans le sachet.

4.1.3 - Le mode de fermeture des sachets

Kempton 1980 et Mehrez 1977 préconisent une double couture, tandis que l'équipe de l'INRA, Chenost et al 1970 parle d'une fermeture à la chaleur.

Dans tous les cas, il faut contrôler l'étanchéité du sachet aux points de fermeture, pour prévenir les pertes.

.../...

4.1.4 - Le lest

Pour incuber les sachets dans le sac ventral du rumen, Demarquilly 1981, Berger et al 1981, Istasse et al 1981, Uden et al 1984, préconisent des lest d'un poids variant de 500 grs à 2,5 kg pour les bovins.

Kempton 1980, Orskov 1980, Preston et Leng 1984 n'utilisent pas de lest.

Le rumen est un milieu hétérogène et instable (cf. Chapitre II). Cela explique les facteurs de variations entre sachets au sein d'un animal et entre animaux recevant une même alimentation.

L'idéal est de parvenir à faire prendre en masse les sachets par le digesta. Ils subissent ainsi les mouvements, péristaltiques en contact intime avec les aliments ingérés.

4.1.5 - Régime alimentaire

L'importance de l'aliment comme facteur de variation de la technique des sachets de nylon, est lié au caractère déterminant du régime alimentaire sur l'écosystème du rumen (cf. Chapitre II).

Le choix du régime doit être méticuleux ; il doit être constant après adaptation.

Pour caractériser un régime alimentaire choisi à des fins de production, l'estimation de la cellulolyse et de la protéolyse par la méthode de sachets de nylon donne des renseignements utiles.

Pour étudier la valeur nutritive d'un supplément protéique, le choix du régime doit être guidé par les conditions pratiques d'utilisation,

Le régime alimentaire doit apporter aux micro-organismes les nutriments nécessaires. Orskov 1980 préconise un bon fourrage d'une digestibilité de la matière sèche supérieure ou égale à 70 p 100, titrant au moins 3 p 200 d'azote pour engendrer dans le rumen une teneur en ammoniac supérieure ou égale à 20 mg par 100 ml de jus,

Le niveau d'ingestion minimal est de 50 g de matière sèche par kg de poids métabolique.

La distribution se fait deux fois par jour à des heures fixes.

4.1.6 - Les animaux

L'animal représente un facteur de variation important.

- Différences liées à l'espèce

Uden en 1984 rapporte des différences non significatives entre ovins et caprins.

Au cours de la même année Orskov constate qu'il y a peu ou pas de différence entre ovins et bovins recevant une même alimentation.

Les choix sont dictés par les facilités de manipulation liée aux ovins, ou par la grande quantité de sachets susceptible d'être incubée chez les bovins.

Au Sénégal, les bovins qui supportent le mieux les fistules du rumen sont plus indiqués.

- Différences entre animaux d'une même espèce

Au sein d'une même espèce de ruminants recevant la même alimentation, des différences entre sujets peuvent rendre difficile l'interprétation, des résultats.

Uden 1984 travaille avec différents lots pour comparer les espèces : 4 bovins, 2 chèvres et 2 ovins,

Pour Kempton 1980 et Istasse 1981, il faut travailler avec un lot minimal de trois sujets,

En étudiant ces types de variation, Mehrez et Orskov en 1977 (tableau 8) identifient la combinaison optimale suivante :

1 sachet x 2 répétitions x 3 animaux.

Cela donne un nombre d'incubation de 6 sachets par échantillon et une variance moyenne de 3 pour cent.

TABLEAU 7 : VARIATION DE LA DIGESTIBILITE DE LA MATIERE SECHE ET DE L'AZOTE EN FONCTION DES ANIMAUX, DU JOUR D'EXPERIENCE ET DES SACHETS.

Variance	Dégradabilité de la matière sèche p 100	Dégradabilité de l'azote p 100
Entre animaux	6,2	14,7
D'un jour à l'autre chez un même animal	4,9	4,5
Entre sachets incubés ensemble	3,3	6,5

TABLEAU 8 : COMPARAISON DES VARIANCES DE DIFFERENTES COMBINAISONS : jours x sachet x animaux.

Nombre de sachets S	Nombre de jours J	Nombre d'animaux A	Nombre d'incubation par essai S x J x A	Variations des moyennes p 100
1	2	3	6	3,43
2	1	3	6	4,25
4	1	2	8	5,96
2	2	2	8	4,74
1	2	4	8	3,19
4	2	2	16	4,53

Source : Behrez et Orskov 1977

4.2 - Variations liées au mode opératoire

4.2.1 - Le temps d'incubation

Il y a une dégradabilité linéaire de la matière sèche et des nutriments en fonction du temps d'incubation dans le rumen.

En pratique, on constate que les céréales et suppléments protéiques sont dégradés plus vite que les fourrages. De même les légumineuses ont une vitesse de dégradation supérieure aux graminées (Chenost 1970, Cizek 1970).

Pour les fourrages, l'incubation pendant 48 heures, suivie d'un traitement à la pepsine acide pendant 48 heures donne des valeurs très proches de la digestibilité de la matière sèche in vivo.

Etudiant la cinétique de la dégradation des aliments du bétail, Orskov propose les temps suivants :

- 2, 6, 12, 24 et 36 heures pour les céréales et suppléments protéiques ;
- 12, 24, 48 et 72 heures pour les fourrages.

4.2.2 - Nombre de sachets à incuber par essai

L'équipe de l'INRA, Chenost et al 1970 a pu incuber jusqu'à 50 sachets dans un bovin. Celle du Rowett Research Institute, (Orskov et al 1981) indique un maximum de 9 sachets par ovin.

Ce nombre doit être fixé au sein de chaque laboratoire en fonction de la taille des fistules disponibles et de celle du rumen des animaux à supporter un grand nombre de sachets.

4.2.3 - Traitement des sachets après incubation

- Le lavage

Certains auteurs préconisent le lavage sous le courant du robinet jusqu'à ce que l'eau d'écoulement soit clair (Mehrez et Orskov 1977, Demarquilly et Chenost 1969, Figroid et coll 1979). Kempton 1981 et Weakley 1983 utilisent de l'eau tiède. Cizek 1970 rince les sachets à l'eau puis à l'éthanol. Mehrez et

Orskov en 1977 n'ont pas trouvé de différences significatives entre sachets lavés ou simplement nettoyés (Istasse 1981).

• Le traitement chimique

Il est motivé par des suspicions de contamination bactérienne des sachets.

Certains auteurs (Mehrez et Orskov 1977, Kempton 1981) après mesure de cette contamination par des marqueurs l'ont considérée comme négligeable.

En revanche, les équipes de l'INRA et de Cornell University, imputent les facteurs de variations liées aux sachets et aux animaux, en partie à cette contamination bactérienne.

Comme solution, ils préconisent le traitement à la pepsine acide selon Tilley-Terry (Chenost et al 1970) ou au détergent neutre NDF (Uden et Van Soest 1984).

Ces traitements améliorent considérablement la reproductibilité de la méthode.

.../...

V - CONCLUSION GENERALE

Dans le cadre d'une évaluation de la valeur alimentaire des aliments, qui tient compte de la physiologie digestive des ruminants, la technique des sachets de nylon est un outil très intéressant.

- Assez rapide, elle donne des renseignements sur :

- . la fraction potentiellement dégradable des aliments dans le rumen
- . la vitesse à laquelle cette fraction est dégradée
- . elle est corrélée au temps de séjour de l'aliment dans le rumen.

- Élément de choix dans le contrôle de l'activité du rumen, la méthode des sachets de nylon joue un rôle important dans l'identification d'un système optimal de supplémentation.

- Les techniques de transformation des aliments du bétail, par traitement chimique des pailles ou protection des protéines de haute valeur biologique, doivent être contrôlées par la méthode des sachets de nylon.

- Les multiples facteurs de variation décrits sont le reflet de l'hétérogénéité et de l'instabilité du milieu ruminal et expliquent les difficultés de la mise au point de la méthode.

Ce travail de mise au point est très important dans un laboratoire. Il faut vérifier les informations et disparités bibliographiques pour déterminer les conditions opératoires optimales locales.

Il faut étudier en particulier :

- l'effet espèce
- l'effet animal
- la taille optimale des sachets
- la taille optimale des mailles du tissu nylon
- l'effet lest
- le temps d'incubation
- l'effet régime alimentaire
- les traitements chimiques post-incubation.

- Des contacts entre laboratoires doivent être établis pour standardisation de la méthode.

S'il est difficile de fixer les conditions liées à l'animal et au régime alimentaire, celles liées au matériel expérimental et au mode opératoire devraient pouvoir être uniformisées pour que les résultats puissent être comparables d'un laboratoire à un autre.



B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ADAM, D.C., KARTCHNER, R.J. - Effet of level of forage intake on rumen ammonia pH, liquid volume and liquid dilution rate in beef cattle.
Journal of Animal Science, Vol. 58, n° 3, 1984 - pp 708-713.
- 2 - AKIN, E.D., FRANKLIN, E., BARTON, H., COLEMAN, S.W. - Structural factors affecting leaf degradation of old world bluestem and weeping love grass.
Journal of Animal Science, Vol. 56, n° 6, 1983. pp. 1434-1446.
- 3 - ANDERSON, G.D., BERGER, L.L., BAHEY, Jr. G.C. - Alkali Treatment of cereal grains. II - Digestion, Ruminant measurements and feed lot performance.
Journal of An. Sci. Vol. 52, n° 1, 1981 - pp 144-149.
- 4 - BAUCHOP, T.T. - The rumen anaerobic fungi : colonizers of plant fibre,
Ann. Rech. Vet. 1979, 10 (2/3) 246-248.
- 5 - BERGER, L.L., ANDERSON, G.D., FAHER, Jr. G.C. - Alkali treatment of cereal grain. I - *In situ* and *in vitro* evaluation.
Journal of An. Sci., Vol. 52, n° 1, 1981 - pp 138-143.
- 6 - CALVET, H., BOUDERGUES, R., REMESY, C., ARCHAMBAULT de VENCAY, J. - Recherches sur le métabolisme du rumen chez les bovins tropicaux (Première partie).
Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1971, 24 (2) : 287-296.
- 7 - CALVET, H. ; DIALLO, S. - Influence de la valeur de l'azote sur la valeur alimentaire des rations.
Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop. 1971, 24 (1) : 69-75.
- 8 - CHENOST, M. ; GRENET E. ; DEMARQUILLY, Jarrige R. - The use of the nylon bag technique for the study of forage digestion in the ruminant and for predicting feed value,
In : Proceedings of the XI international Grassland Congress 1970.
University of Queensland press 1970 - pp 697-702
- 9 - CHESSON, A. ; ORSKOV, E.R. - Microbial degradation in the digestive tract.
In : Straw and other fibrous by product as feed.
Eds F. SUNDSTOL and E. OWEN.
Elsevier Press Amsterdam. pp 305-339.

.../...

- 10 - GRAIG, W.M. ; BRODERICK, G.A. - Amino Acids release during protein degradation by rumen microbes.
Journal of An. Sci. Vol. 58, n° 2, 1984. pp 436-443.
- 11 - De FARIA, V.P., HUBER, J.T. - Influence of dietary protein and energy on disappearance of dry matter from different forage types from dacronbags suspended in the rumen.
Journal of An. Sci., Vol, 59, n° 1, 1984 - pp 245-252
- 12 - De FARIA, V.P. ; HUBER, J.T. - Effect of dietary protein and energy levels on rumen fermentation in Holstein steers.
Journal of An. Sci., Vol. 58, n° 2, 1984. pp 452-459
- 13 - DELFOSSE - DEBUSSCHER, J. THINES - SEMPOUX, D., VANBELLE - LATTEUR, B. - Contribution of protozoa to the rumen cellulolytic activity.
Ann. Rech. Vet. , 1979 - 10 (2) : 255-257.
- 14 - DEMARQUILLY, C. et JARRIGE, R. - Panorama des méthodes de prévisions de la digestibilité et de la valeur énergétique des fourrages.
In : Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants.
INRA, Publi. 1981 - 41-59,
- 15 - DEMEYER, D. ; VAN NEVEL, C. - Protein fermentation and growth by rumen microbes.
Ann. Rech. Vet., 1979 -- 10 (2/3) : 277-279.
- 16 - FAYE, B. -- Prévision de la valeur alimentaire des fourrages tropicaux 1980.
Mémoire de DEA - IEMVT, 10, rue Pierre-Curie, Maisons-Alfort, France.
- 17 - FAO/CIPEA - Rapport de la consultation d'experts en vue d'une meilleure utilisation des résidus de récolte et des sous-produits agro-industriels en alimentation animale dans les pays en développement.
Siège du CIPEA, Addis-Abéba. 5-9 mars 1984.
- 18 - FOCANT, M. ; GALLONIN, F. ; LECLERC, H. - Volatil fatty acids and rumination in the goat.
Ann. Rech. vet. , 1979, 10 (2/3) : 226-228.
- 19 - GRAIN, J. ; GROLIERE, C.A., SENAUD, B. ; PUYTORAC, P. de ; BEGUM, Z. ; JOUANY, J.P. - Ciliate implantation in the rumen : influence of inoculated genus and type of diet.
Ann. Rech. Vet., 1979. 10 (2/3).
- 20 - HARRISON, D.G. and Mc ALLAN, A.B. - Factors affecting microbial growth yields in the reticulo rumen.
In : Digestive physiology and metabolism in ruminants. .
Proceeding of the 5th international symposium on ruminant physiology held at Clermont-Ferrand, on september 3rd - 7th 1979. pp
Ruckebush, Thivend eds MTP Press.

- 21 - HASTERT, A.A. ; OWENSBY, C.E. ; HARBERS, L.H. - Rumen microbial degradation of indian grass and big bluestems leaf blades.
Journal of An. Sci., Vol, 57, n° 6 1983. pp 1626-1636.
- 22 - HOOVER, W.H. ; KINCAID, C.R. ; VARGA, G.A. ; THAYNE, W.V. ; JUNKINS Jr L.L. - Effects of solids and liquid flow fermentation in continuous cultures. IV pH and dilution rate.
Journal of An. Sci., Vol. 58, n° 3 1984.
- 23 - INRA 1978 - Alimentation de ruminants,
INRA publication. Route de Saint-Cyr. 78000 Versailles. pp 23-36.
- 24 - ISTASSE, L. ; VAN ENAEME, C. ; LAMBOT, G. ; GIELEN, F. ; BIENFAIT, J.M. - Estimation par la technique des sachets de nylon de la digestibilité dans le rumen des foins traités ou non à la soude.
Ann. Med. Vet. , 1981. 125 : 199-205.
- 25 - JAN CIZEK - The rate of dry matter disappearance in some grasses and legumes.
Of print from proceeding of the XX International grassland congress 1970 - pp 701-702.
- 26 - JOUANY, J.P. ; SENAUD, J. - Role of rumen protozoa in the digestion of foed cellulosic materials.
Ann. Rech. Vet. 1979, 10 (2) : 261-263,
- 27 - KATO, S. ; SASAKI, Y. ; TSUDA, T. - Food intake and rumen osmolality in Sheep.
Ann, Rech. Vet., 1379, 10 (2/3) : 229-230,
- 28 - KEMPTON, T.J. - The use of nylon bags to characterize the potential degradability of feeds for ruminants.
Tropical animal production 1980. 5 : 107-116.
- 29 - KISTER, A. ; THERION, J. ; KORNELIUS, J.H. ; HUGO, A. - Effect of pH on specific growth rate of rumen bacteria.
Ann. Rech. Vet. 1979. 10 (2/3) : 268-276.
- 30 - LATHAM, M.J. ; HOBBS, D.G. ; HARRIS, P.J. - Adhesion of rumen bacteria to alkali treated plant stems.
Ann. Rech. Vet. 1979 10 (2/3) : 244-245,
- 31 - LENG, R.A. - Dynamics of protozoa in the rumen of sheep.
Br. J. Nutri. 1982, 48, 399.
- 32 - LENG, R.A. ; NOLAN, J.V. - The effect of monenzin on the pool size and turn over rate of protozoa in the rumen of sheep.
J. of Agri. Science in Press.

- 33 - LENG, R.A. - Microbial interaction in the rumen. In : Ruminant physiology : concepts and consequences 1984. Editors : S.K. BAKER, J.M. GAWTHORNE, J.B. MACKINTOSH and D.B. PUSSER.
University western Australia. PP 161-173.
- 34 - LOERCH, S.C.; GERGER, L.L., PLEGGE, S.D. y FAHEY Jr. G.C. - Digestibility and rumen escape of soybean meal, blood meal; meat and bone meal, and dehydrated alfalfa nitrogen.
Journal of An. Sci., Vol. 57, n° 4, 1983, pp 1037-1047.
- 35 - Mc NEENHAM, V. P. - The use of rumen ammonia estimations to determine when urea supplementation is necessary.
Queensland Department of primary Industries.
AGDE x $\frac{430}{64}$ N° R 11/June 1981 - ISSN 0705-8462.
- 36 - Mc DOWELL, I.R. ; COURAD, J.H. ; ELLIS, G.L. ; LOOSLI, J.K. - Mineral for grazing ruminants in tropical regions. Department of Animal Science Center for tropical Agriculture - University of Florida - Gainesville - U.S.A.I.D., 1983.
- 37 --MOREL-GARAY, G. - Etude comparative de la digestibilité des aliments chez les ruminants obtenue avec la technique classique des bilans in vivo et la technique dite des sacs. Thèse, maître es-science vétérinaire; ENV, Alfort 1980.
- 38 - OKEKE, G.C. ; BUCHANAN-SMITH, J.C. ; GROVUM, W.L. - Effets of buffers on ruminal rate of passage and degradation of soybean meal in steers.
Journal of An. Sci. Vol. 56, n° 6, 1983 ; pp. 1393-1399.
- 39 - ORSKOV, E.E. - Evaluation of crop residues and agro-industrial by product using the nylon bag method. In proceeding of FAO/ILCA Expert consultation.
ILCA Head-quarters. Addis-Abeba, Ethiopia, 5-9 march 1984.
- 40- ORSKOV, E.E. ; DEBHOWELL, P.D. ; MOULD, F. - The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs.
Tropical animal production 1980. 5 : 195-213.

.../...

- 41 - ORSKOV, E.R. and Mc DONALD, I. - The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb.* 1979, 92 : 499-503
- 42 - PIGDEN, W.J. ; BALCH, C.C. ; GRAHAM, Meditors - Standardization of analytical methodology of feeds proceedings of a workshop in Ottawa, Canada, 12-14 march 1989. pp 61-71.
- 43 - PRESTON, T.R. and LENG, R.A. - Matching livestock systems to available feed resources 1985. ILCA eds Addis-Ababa. pp.180-203
- 44 - PRESTON, T.R. et LENG, R.A. - Supplementation of diets based on fibrous residues and by products. In : Straw and other fibrous by product as feed. Eds : F. SUNDSTOL and E. OWEN. pp 375-413. Elsevier Press, Amsterdam 1984.
- 45 - PRINS, R.A. ; and CLARKE, R.T.J. - Microbial ecology of the rumen. In : Digestive physiology and metabolism in ruminants proceeding of 5th International Symposium on ruminant physiology, held at Clermont-Ferrand. Sept. 3-7 1.979. Ruckbush Thiven eds, WTP Press.
- 40 - SIDDONS, R.C. ; BEEVEK, D.E. ; NOLAN, J.V. ; Mc ALLAN, A.B. ; Mc RAE, J.C. - Estimation of microbial protein in duodenal digesta. *Ann. Rech. Vet.* 1979, 10 (2/3) : 286-287.
- 47 - STERN, M.D. ; SATTTER, L.D. - Evaluation of nitrogen solubility : the Dacron bag technique as methods for estimating protein degradation in the rumen. *Journal of An. Scien.*, Vol. 55, n° 3, 1984. pp 714-724
- 48 - STORN, E. and ORSKOV, ER.- Utilization of rumen bacteria by ruminants. *Ann. Rech. Vet.* 1979. 10 (2/3) : 294-296.
- 49 - THEWIS, A. ; LEFRANCOIS, E. ; THIELEMANS, M.F. ; THILL, N. ; ANDRE, H. - Rate of passage of digesta in sheep. *Ann. Rech. Vet.* 1979. 10 (2/3) : 165-169.
- 50 - TILLEY, J.M. ; TERRY, R.A., 1963 - A two stage technique for the in vitro digestion of forage crop. *Journal of the British Grassland Society.* 18 : 104-111.

- 51 - UDÉN, P. ; VAN SOEST, P.J. - Investigations of the in situ bag technique and a comparison of the fermentation in heifers, sheep, ponies and rabbits.
Journal of An. Sci., Vol. 58, n° 1, 1984. pp 213-221.
- 52 - VAN DER AAR, P.J. ; BERGER, L.L. ; FAHEY, Jr. G.C. ; MERCHEN, N.R. - Effect of Alcohol treatment of soybean meal on ruminal escape of soybean meal protein.
Journal of An. Sci., Vol. 59, n° 2, 1984 pp 483-489.
- 53 - VAN NEVEL, C.J. ; DEMEYER, D. - Determination of microbial growth in vitro by measurement of 32 p Labatted phosphate in corporation.
38,101 - Brit. J. Nutri. 1977. pp 101-114.
- 54 - VAN SOEST, P.J. - Nutritional ecology of the ruminant.
Distributed by O & B - Book Inc. 1982 pp 90-94.
- 55 - WEAKLEY, D.C. ; STERN, M.D. ; SATTER, L.D. - Factors affecting disappearance of feed stuffs from bags suspended in the rumen.
Journal of An. Sci. , Vol. 56, n° 2, 1983 - pp 493-506.