

Dégradation dans le rumen de la luzerne et du trèfle violet, récoltés en vert ou conservés sous forme d'ensilage

J. Aufrère, D. Graviou, B. Michalet-Doreau

Les légumineuses fourragères en vert ou conservées représentent un apport important et de qualité dans la ration des ruminants. Pour optimiser cette forme d'apport, il convient de mieux connaître la nature de cet azote et son devenir au cours de la conservation du fourrage et de la digestion dans le rumen.

RESUME

La dégradabilité effective de l'azote (DTN) de la luzerne récoltée en vert (0,761) ou ensilée (0,804) est plus élevée que celle du trèfle violet (respectivement 0,694 et 0,735). En revanche, les teneurs en azote total (Nt) et ammoniacal (N-NH₃) sont très faibles dans le jus de rumen de moutons ayant reçu du fourrage vert ou de l'ensilage de trèfle violet. Cette faible teneur en N-NH₃ peut être expliquée par une meilleure utilisation de l'azote par les microbes du rumen, une moindre ingestibilité, mais aussi par la présence d'une enzyme, la polyphénol oxydase, capable de diminuer la protéolyse de ce fourrage.

MOTS CLES

Azote, digestibilité, ensilage, évolution, luzerne, protéines, trèfle violet, valeur azotée, valeur alimentaire.

KEY-WORDS

Digestibility, evolution, feeding value, luzerne, nitrogen, nitrogen value, protein, red clover, silage.

AUTEURS

INRA, URH, Equipe DVA, Clermont-Ferrand Theix, F-63122 Saint-Genès-Champanelle ;
aufrere@clermont.inra.fr

La luzerne et le trèfle violet, deux légumineuses à teneur élevée en azote, peuvent contribuer de façon importante à la couverture des besoins azotés chez le ruminant. Ce travail a pour but d'étudier la dégradation des protéines de ces deux fourrages dans le rumen i) par la technique des sachets de nylon, ii) en mesurant en cinétique les produits de dégradation des protéines dans le rumen : Ntotal (Nt), N-NH₃ et N-protéique.

1. Matériel et méthodes

* Fourrages

L'étude a été effectuée sur une luzerne verte récoltée au 1er cycle au stade bourgeonnement et un trèfle violet récolté en vert au 1er cycle début floraison. Un ensilage conservé avec de l'acide formique (5 l/t) a été réalisé au même stade que le fourrage vert pour chacun de ces fourrages.

Les fourrages de luzerne ont été récoltés en 1997 et ceux de trèfle violet en 2000 à l'INRA de Clermont-Ferrand Theix (800 m d'altitude). L'étude de ces deux fourrages a été réalisée dans les mêmes conditions expérimentales.

* Animaux et dispositif expérimental

Quatre moutons de 60 kg environ, de race Texel, munis d'une canule du rumen, recevaient le fourrage vert ou conservé, distribué *ad libitum* (10% de refus) en 2 repas par jour, à 9 h et 17 h.

Chaque période de mesure comprenait 2 semaines de mise en régime suivies d'une semaine de mesures pour les prélèvements de jus de rumen et une semaine pour la mesure de dégradation en sachets de nylon.

La dégradabilité effective de l'azote a été déterminée par la technique des sachets de nylon. (Michalet-Doreau *et al.*, 1987, modifiée par Dulphy *et al.*, 1999). La dégradation *in situ* de l'azote (DTN) a été ajustée au modèle d'Ørskov et Mc Donald (1979) :

$$DTN = a + (bc) / (c + kp)$$

avec : a : fraction immédiatement soluble, b: fraction potentiellement dégradable, c : vitesse de dégradation, kp : taux de sortie des particules alimentaires (kp = 0,06 par heure).

De plus, des mesures en cinétique dans le jus de rumen ont été réalisées deux jours de suite aux temps 0 h (avant le repas du matin), 1 h, 2 h, 4 h, 7 h après le repas. Le jus de rumen a été filtré sur de la gaze puis centrifugé (120g, 5 min) pour éliminer les particules alimentaires et les protozoaires. Le surnageant a été ensuite centrifugé (27 000g, 20 min à 4°C pour éliminer les particules alimentaires restantes et les bactéries).

Parallèlement, la digestibilité de la matière organique (DMO) a été déterminée *in vivo* sur un autre lot de 6 moutons intacts, maintenus en cages à métabolisme, selon la méthode de Demarquilly et Weiss (1970).

* Analyses chimiques

Les teneurs en azote total (Nt) des fourrages, des résidus de sachets de nylon et du jus de rumen ont été déterminées. La teneur en azote soluble du jus de rumen avant et après précipitation des protéines avec l'acide sulfosalicylique (400 g/l) a été mesurée et la teneur en N-protéique a été déterminée par différence de Nt avant et après précipitation. L'azote ammoniacal (N-NH₃) a été déterminé sur le surnageant acide par la méthode de Conway (1957).

* Calculs et analyses statistiques

Chaque fourrage vert a été comparé à l'ensilage correspondant. Les paramètres de la dégradation *in situ* et ceux de la cinétique du jus de rumen ont été comparés en utilisant une analyse de variance (SAS GLM, procédure 1985).

2. Résultats et discussion

* Composition chimique et dégradabilité

La DMO mesurée, plus faible pour la luzerne que pour le trèfle violet (tableau 1), s'explique par une proportion plus élevée de tiges pour la luzerne (Coblentz *et al.*, 1998) et une teneur plus élevée en lignine (Waghorn, 1986). En revanche, la dégradabilité effective (DTN) de la luzerne est supérieure à celle du

trèfle violet. La fraction azotée rapidement dégradable 'a' est plus importante chez la luzerne en relation avec un pourcentage élevé d'azote non protéique et d'acides aminés libres (Le Goffe *et al.*, 1993). La fraction 'a' augmente dans les ensilages comparativement aux fourrages verts sous l'effet des fermentations de l'ensilage. Elle est plus faible pour l'ensilage de trèfle violet à cause d'une moindre protéolyse (N soluble / Nt : 37,7 contre 54,9 pour la luzerne). A l'opposé, la fraction 'b' est plus faible chez la luzerne que le fourrage soit vert ou conservé. Ces résultats sont en accord avec ceux de Hvelplund et Weisbjerg (1999).

Tableau 1 : Teneur en azote total (N), digestibilité de la matière organique mesurée (DMO), matière sèche ingérée (MSI), paramètres de la dégradation de l'azote (a : fraction immédiatement soluble, b : fraction lentement dégradabile, c : vitesse de dégradation), dégradabilité effective de l'azote (DTN) pour les fourrages étudiés.

Table 1 : Total nitrogen content (N), measured digestibility of the organic matter (DMO), ingested dry matter (MSI), parameters of protein degradation (a : immediately soluble fraction, b : slowly degradable fraction, c : rate of degradation), actual degradability of protein (DTN) in the forages studied.

	N (% MS)	DMO (%)	MSI (kg/j)	a (%)	b (%)	c (/h)	DTN (%)
Luzerne							
Fourrage vert (stade bourgeonnement)	2,76	60,00	2,21	0,410 ^a	0,421 ^a	0,304 ^a	0,761 ^a
Ensilage	2,88	61,70	1,95	0,601 ^b	0,261 ^b	0,214 ^b	0,804 ^b
Trèfle violet							
Fourrage vert (début floraison)	2,43	69,90	1,68	0,249 ^a	0,532 ^a	0,355	0,694 ^a
Ensilage	2,34	65,00	1,90	0,421 ^b	0,410 ^b	0,223	0,735 ^b

Pour un même fourrage, des lettres différentes sur une même colonne correspondent à des différences significatives (p<0,05)

* Formes azotées dans le jus de rumen

Pour la luzerne et le trèfle violet conservés ou non, les teneurs en Nt, N-NH₃ dans le jus de rumen sont maximales 1 h ou 2 h après le repas et diminuent jusqu'à 7 h après le repas (figure 1). Ces teneurs importantes mesurées après le repas sont en étroite liaison avec la fraction immédiatement soluble 'a' observée avec la méthode *in situ*. Les teneurs en Nt et N-NH₃ sont environ 2 fois plus faibles dans le jus de rumen des moutons ayant reçu du trèfle violet que avec la luzerne. Une partie des matières azotées solubilisées reste sous forme de protéines 1 h ou 2 h après le repas pour le fourrage vert alors que l'on n'observe pas de protéines dans le jus de rumen des moutons ayant consommé de l'ensilage (Aufrère *et al.*, 2000 et 2002), ces dernières ayant été hydrolysées dans le silo. La part des matières azotées solubilisées (obtenues par différence) jusqu'au stade peptides et acides aminés est en moyenne plus importante pour les fourrages de trèfle violet (38% Nt) que pour ceux de luzerne (32% Nt). En revanche, le pourcentage de N-NH₃/Nt est plus faible pour les fourrages de trèfle violet (43% Nt contre 55% Nt pour la luzerne).

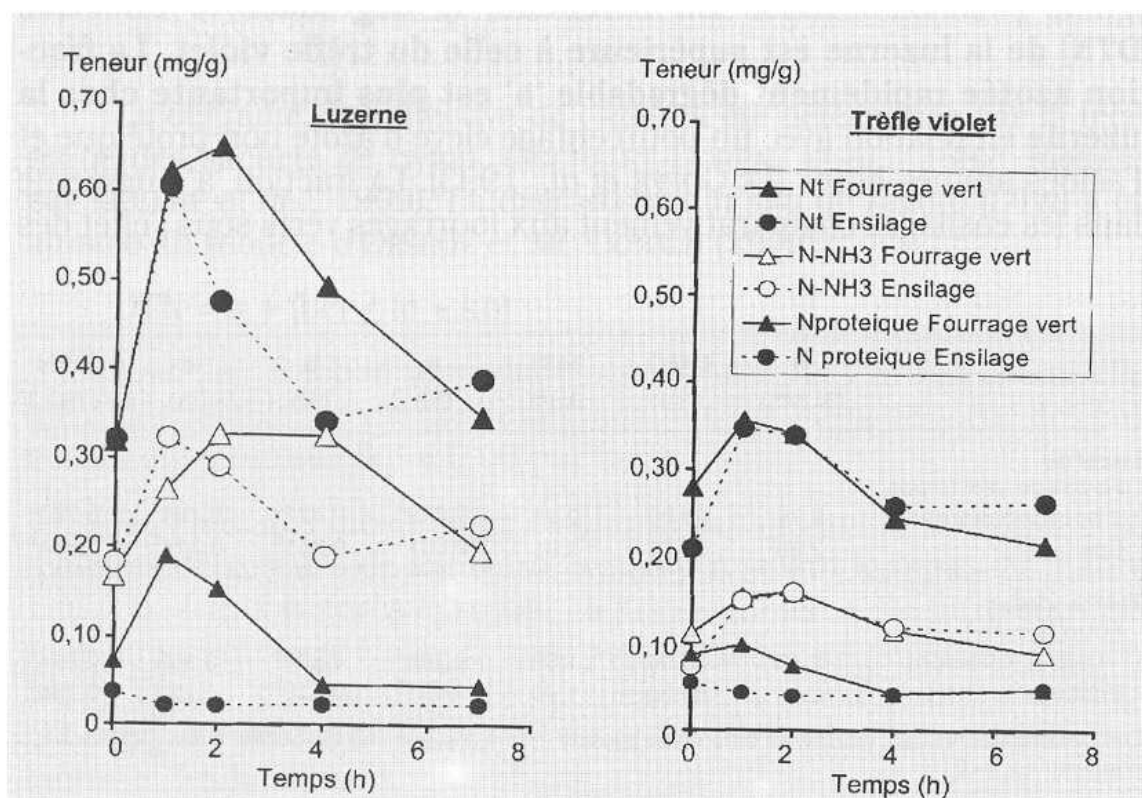
Bien que les teneurs en Nt et les quantités de matière sèche ingérées soient plus faibles pour le trèfle violet, la faible teneur en N-NH₃ observée dans le jus de rumen d'animaux ayant reçu du trèfle violet peut aussi être expliquée :

- par une meilleure utilisation de l'azote par les micro-organismes du rumen en raison d'une digestibilité de la matière organique et de la teneur en sucres solubles plus élevées que pour la luzerne (Lindberg *et al.*, 1982) ;

- la présence d'une enzyme, la polyphénol oxydase (Jones *et al.*, 1993) ; capable de diminuer la protéolyse et le pool d'azote non protéique, elle contribue à une moindre part au pool de NH_3 et empêche la dégradation des matières azotées, notamment dans l'ensilage, comme le confirment nos résultats.

Figure 1 : Evolution en fonction du temps (avant le repas, 1 h, 2 h, 4 h et 7 h après le repas) des teneurs en azote total (Nt), ammoniacal (N-NH₃), et protéique dans le jus de rumen pour le fourrage vert et l'ensilage de luzerne et de trèfle violet.

Figure 1 : Changes during time (before feeding-time, 1 h, 2 h, 4 h, and 7 h after feeding time) of the total nitrogen (Nt), ammonia nitrogen (N-NH₃), and proteic nitrogen contents in the rumen juice for green-fed and ensiled Lucerne and Red Clover.



Conclusion

Bien que les 2 expérimentations n'aient pas été conduites la même année, la "convergence" des résultats des mesures de DTN et des teneurs en Nt et N-NH₃ mesurées dans le rumen, montrent que les matières azotées du trèfle violet, récolté en vert ou conservé sous forme d'ensilage, sont moins dégradées que celles de la luzerne.

Travail présenté aux Journées d'information de l'A.F.P.F.

"Fourrages, protéines et environnement : de nouveaux équilibres à construire",
les 27 et 28 mars 2003.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aufrère J., Graviou D., Baumont R., Detour A., Demarquilly C. (2000) : "Degradation in the rumen of proteins from fresh lucerne forage in various stages of growth and conserved as silage or hay", *Ann. Zootech.*, 49: 461-474.
- Aufrère J., Graviou D., Demarquilly C. (2002) : "Protein Degradation in the rumen of red clover forage at various stages of growth And conserved as silage or wrapped big bales", *Reproduction Nutrition Development*, 42, 1-14.
- Coblentz W.K., Fritz J.O., Fick W.H., Cochran R.C., Shirley J.E. (1998) : "In situ dry matter, nitrogen and fiber degradation of alfalfa, red clover, and eastern gamagrass at four maturities", *J. Dairy Sci.*, 81, 150-161.
- Conway E.J. (1957) : *Microdiffusion analysis and volumetric analysis error*, Crosby Lockwood and Son, London.
- Demarquilly C., Weiss P. (1970) : *Tableaux de la valeur alimentaire des fourrages, INRA-Etude SEI, n°42*.
- Dulphy J.P., Demarquilly C., Baumont R., Jailler M., L'Hotelier L., Dragomir C. (1999) : "Study of modes of preparation of fresh and conserved forages for measurement of their dry matter and nitrogen degradations in the rumen", *Ann. Zootech.*, 48, 275-287.
- Hvelplund T., Weisbjerg M.R. (1999) : "In situ techniques for the estimation of protein degradability and postrumen availability", *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*, Ed by Givens D.I., Owen E., Axford R.F.E. and Omed H.M., 215-258.
- Jones B.A., Hatfield R.D., Muck R.E. (1993) : "Characterizing proteolytic inhibition in red clover silage", *XIIIth Int. Silage Conference, Silage production in relation to animal performance, animal health, meat and milk quality*, July 5-7 Uppsala, Proc. X Int. Silage Conf. Dublin, 106-107.
- Le Goffe P., Vérité R., Peyraud J.L. (1993) : "Influence de l'espèce et de la saison sur la dégradabilité de l'azote des fourrages verts dans le rumen", *Ann. Zootech.*, 42, 3-15.
- Lindberg J.E., Clason C., Ciszuk P., Den Braver E. (1982) : "Buffer-soluble and short-term in sacco degradable crude protein in relation to ruminal ammonia concentration in sheep", *Swedish J. Agric. Res.*, 12, 77-82.
- Michalet-Doreau B., Vérité R., Chapoutot P. (1987) : "Méthodologie de mesure de la dégradabilité in sacco de l'azote des aliments dans le rumen", *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA*, 69, 5-7.
- Ørskov E.R., Mc Donald I. (1979) : "The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage", *J. Agric. Sci. Camb.*, 92, 499-503.
- Statistical Analysis Systems Institute Inc. (1985) : SAS Stat Software, General Linear Model, SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Waghorn G.C. (1986) : "Changes in rumen digesta of cows during a restricted feeding period when offered fresh red clover, lucerne, or lucerne hay", *New Zealand J of Agric. Res.*, 29,233-241.

SUMMARY

Degradation in the rumen of green-fed or ensiled Lucerne and Red Clover

Forage legumes contribute much, quantitatively and qualitatively, to the diet of ruminants, be they green-fed or conserved. In order to optimize this sort of feed source, a better knowledge should be obtained of the nature of the protein thus supplied and of the changes it undergoes during conservation and during digestion in the rumen.

The actual degradability of protein (DTN) is larger with Lucerne (0.761 when green-fed, 0.804 when ensiled) than with Red Clover (respectively 0.694 and 0.735). On the other hand, the rumen juices of sheep fed green or ensiled Red Clover contain very little total nitrogen (Nt) and ammonia-nitrogen (N-NH₃). The latter very low N-NH₃ content may be explained by a better utilization of nitrogen by the micro-organisms of the rumen and by a smaller voluntary intake, but also by the presence of polyphenol oxydase, an enzyme that is able to diminish the proteolysis of this forage.