

Fourrages sucrés et lait bio : Une combinaison durable !?!

Robert Berthiaume¹, Gaëtan Tremblay², Yves Castonguay², Annick Bertrand², Gilles Bélanger²,
Chaouki Benchaar¹, Carole Lafrenière³ et Réal Michaud²

¹AAC, Lennoxville, Québec, mberthiaumer@agr.gc.ca

²AAC, Ste-Foy, Québec

³AAC, Rouyn-Noranda, Québec

Sommaire de la présentation

Les fourrages constituent la pierre angulaire de tout système de production laitière durable. Or, des études récentes ont démontré que les bovins en croissance préfèrent les foins préparés à partir de luzerne récoltée au coucher du soleil (19 – 21 h) plutôt qu’au lever du soleil (06 – 08 h; Burns et al., 2005) bien que la digestibilité du fourrage ne soit pas différente. Le fait de récolter la luzerne au coucher du soleil vise à profiter de la capacité de la plante à accumuler des glucides non fibreux pendant la journée (Lechtenberg et al., 1971). Cependant ces projets n’ont pas permis de déterminer le nombre minimal d’heures d’ensoleillement requis pour entraîner une augmentation optimale des glucides non fibreux. De plus, il existe très peu d’information sur le mode de fonctionnement. Le premier objectif de cette étude était de déterminer l’effet de la durée de la période d’ensoleillement sur l’accumulation des sucres, de l’amidon et des glucides non fibreux totaux (GNF) chez la luzerne. Le second objectif visait à déterminer l’effet du niveau de glucides solubles, de l’amidon et des GNF sur la fermentation ruminale de la luzerne en mesurant la production de gaz in vitro.

Matériels et méthodes

Matériel végétal

Vingt plants de luzerne (cv AC Caribou) ont été cultivés en conditions contrôlées sous un régime de températures de 22/17°C (Jour/Nuit) et une photopériode de 16 heures. Quatre plants furent récoltés au stade début floraison après soit 0, 2, 4, 8 ou 12 heures de lumière, mis immédiatement à sécher à 55°C et moulus à 1mm.

Préparation du médium et des échantillons

Le médium a été fabriqué selon la méthode décrite par Longland et al. (1995). Les vingt échantillons (1 g) de fourrages ont été pesés et placés dans des bouteilles de 160 mL. Quatre bouteilles additionnelles ne contenant pas de fourrage ont servi de témoins. Les sucres solubles totaux ont été estimés en additionnant tous les sucres individuels alors que les glucides non fibreux totaux étaient estimés par la somme des sucres individuels et de l’amidon.

Inoculation

Deux litres de digesta ruminal ont été recueillis chez une vache munie d’une fistule ruminale et alimentée d’ensilage de graminées à volonté. L’échantillon a été bien mélangé et transporté au laboratoire dans un contenant hermétique préchauffé. Le digesta ruminal a été filtré à travers un coton à fromage dans un bécher saturé en CO₂. Les bouteilles contenant les échantillons de fourrage mis en suspension dans un milieu anaérobie ont été inoculées avec une seringue contenant 10 mL du digesta filtré et reliées à une jauge mesurant la pression des gaz présents

dans le haut de la bouteille afin de la ramener à 0. Les bouteilles ont alors été placées dans un incubateur muni d'une plaque agitatrice et d'un système assurant une température constante de 39°C. Des mesures de la pression et du volume de gaz ont été faites à intervalle régulier durant une période de 142 h afin d'estimer la taux de fermentation en utilisant le modèle de France et al. (1993).

Échantillonnage

La pression et le volume des gaz ont été enregistrés à 0, 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 96, 120 et 142 h post inoculation. A la fin de la période expérimentale, la fraction liquide a été séparée de la fraction solide (fourrage non digéré + bactéries attachées) en filtrant sous vacuum à travers des creusets pesés préalablement (100 µm porosité 1; Gallenkamp; Fisher Scientific UK, Loughborough, Leicestershire). Ces résidus ont été lyophilisés afin de déterminer la matière sèche résiduelle. Un mL de liquide fût prélevé et acidifié avec 100 µl de HCl (2M) afin de doser l'azote ammoniacal (NH₃-N) et un 1 mL fût acidifié avec 2 gouttes d'acide orthophosphorique afin de doser la concentration en AGV.

Analyses chimiques et statistiques

Les concentrations en glucides non-fibreux (sucres solubles et amidon) ont été déterminées suite à l'extraction d'échantillons (0.1 g) de fourrage sec dans un mélange de méthanol-chloroforme-eau à 65°C tel que décrit par Castonguay et al. (1995). Un aliquot de la fraction aqueuse a été évaporé à sec et resuspendu dans un mélange d'eau-EDTA pour analyse des sucres solubles (glucose, fructose, raffinose, sucrose et pinitol) par chromatographie liquide sur HPLC (Waters Scientific, Milford, USA). Le culot contenant les résidus non-solubles a été rincé avec du méthanol et l'amidon présent a été resuspendu par gélatinisation à 100°C en milieu alcalin suivi d'une hydrolyse en présence d'amyloglucosidase (Sigma Chemical Co. St-Louis, MO). Les teneurs en amidon ont été déterminées sur la base d'équivalents glucose suite à une réaction colorimétrique avec l'acide p-hydroxybenzoïque hydrazide (PAHBAH) et lecture d'absorbance à 414 nm sur spectrophotomètre. Les concentrations en AGV dans le surnageant ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse avec un Chrompack CP 9002 (CP-Sil 5CB column 10 m x 0.25 mm ID; Chrompack UK) selon la méthode de Zhu et al. (1996). L'azote ammoniacal a été déterminé par la méthode enzymatique utilisant la glutamate déshydrogénase sur un discrete analyser (FP-901M Chemistry Analyzer, Labsystems, Oy, Helsinki, Finland; Test kit No. 66-50, Sigma-Aldrich Co. Ltd., Poole, Dorset).

La digestibilité de la MS a été calculée par différence entre la quantité de MS de l'échantillon placé dans la bouteille et la quantité de MS récupérée après centrifugation des résidus. Les données de production des gaz issus de la fermentation de chaque fourrage ont été corrigées pour tenir compte de la production de gaz due à la flore ruminale (blancs) et introduits dans le modèle décrit par France et al. (1993). L'équation utilisée était:

$$Y = A \{ 1 - e^{[-b(t-T) - c(\sqrt{t} - \sqrt{T})]} \}$$

où Y représente la production cumulée de gaz (mL), A représente l'asymptote (production maximale), T représente le temps de latence (temps requis pour le début de la production de gaz), b (h⁻¹) et c (h^{-0.5}) représentent les taux de production déterminés par le modèle. Ces paramètres calculés ainsi que les résultats des dosages effectués sur les effluents (AGV et N ammoniacal) ont été soumis à l'analyse statistique.

Design expérimental

L'expérience a été réalisée selon un plan expérimental complètement aléatoire avec deux facteurs (heure de la récolte et durée de l'incubation) et quatre répétitions.

Résultats

Les concentrations en amidon et en GNF ont augmenté avec l'allongement de la période de lumière avant la coupe (Tableau 1), sauf pour la durée de 8 heures. Par contre, la durée d'ensoleillement n'a eu aucun effet sur les concentrations en sucrose, fructose, pinitol et sucres totaux alors qu'elle a entraîné une baisse linéaire de la concentration en raffinose ($P_{lin} < 0.0001$). L'ampleur de l'augmentation des concentrations en amidon (248 %) et en GNF (55 %) observé ici après une période d'ensoleillement de 12 h, a été considérablement plus grande que celle rapportée précédemment (amidon = 20% et GNF = 28%; Burns et al., 2005). Ceci peut probablement être attribué aux facteurs environnementaux puisque notre projet a été conduit en conditions contrôlées alors que les projets de Burns et al. (2005) ont été réalisés au champ. La baisse des concentrations en GNF après 8 heures comparées à celles observées après 4 heures de lumière est attribuable à la baisse de la teneur en amidon. En revanche les concentrations en amidon ont augmenté de façon marquée après 12 heures de lumière entraînant une augmentation des teneurs en GNF. A notre connaissance, cette diminution après 8 heures n'a jamais été rapporté dans la littérature et demeure difficile à expliquer.

Tableau 1. Composition chimique (% MS) de la luzerne récoltée après 0, 2, 4, 8 et 12 heures de lumière.

	Heures de lumière					SEM	P		
	0	2	4	8	12		L	Q	C
GNF ¹	11.9	13.7	14.0	12.9	18.5	0.92	0.0002	0.0986	0.0154
Sucres totaux ²	7.7	8.1	8.5	8.5	8.0	0.45	0.5450	0.1832	0.9540
Sucrose	4.8	5.1	5.6	5.6	5.1	0.34	0.4059	0.1003	0.9394
Fructose	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.01	0.6780	0.6339	0.6559
Raffinose	0.3	0.2	0.3	0.2	0.1	0.02	<0.0001	0.2931	0.2400
Amidon	4.2	5.6	5.6	4.5	10.4	0.70	<0.0001	0.0057	0.0029
Pinitol	2.5	2.7	2.5	2.6	2.7	0.15	0.5101	0.9169	0.6525

¹GNF = Glucides non fibreux = Sucres totaux + Amidon

²Sucres totaux = Sucrose + Fructose + Raffinose + Pinitol

Les courbes de production des gaz in vitro sont présentés à la figure 1 alors que les paramètres mathématiques calculés à partir du modèle de France et al. (1993) sont présentés au tableau 2. Ces paramètres indiquent que la durée d'ensoleillement n'a pas eu d'effet sur le temps de latence ainsi que sur la proportion de MS disparue dans le rumen. Par contre, la durée de l'ensoleillement a eu un effet cubique sur la demi-vie ($P_{cub} = 0.01$), soit le temps requis pour que la moitié du volume total de gaz soit produit, ainsi que sur la production maximale de gaz ($P_{cub} = 0.02$) dans le rumen d'après l'asymptote de la courbe. La production de gaz dans le rumen a donc évolué de la même façon que l'accumulation de l'amidon et des GNF. Ceci suggère qu'une augmentation de l'activité métabolique des bactéries du rumen est associée à la présence d'une plus grande concentration de GNF. Lee et al. (2002) ont rapporté des observations similaires après avoir comparé des cultivars de ray-grass vivace recelant des concentrations différentes de sucres solubles.

Tableau 2. Cinétique de production des gaz ruminiaux à partir de luzerne récoltée après 0, 2, 4, 8 et 12 heures de lumière.

	Heures de lumière					SEM	P		
	0	2	4	8	12		L	Q	C
Demi-vie (h)	10.09	10.61	10.56	10.24	11.32	0.21	0.004	0.21	0.01
Latence (h)	1.75	1.75	1.78	1.87	1.70	0.05	0.981	0.08	0.15
Asymptote (mL)	231.5	236.3	236.9	230.7	248.9	3.46	0.009	0.09	0.02
% dégradé	57.76	57.53	56.20	57.54	58.42	0.67	0.302	0.09	0.57

Les concentrations moyennes d'azote ammoniacal et d'AGV sont rapportées au tableau 3. L'augmentation de la concentration en amidon et en GNF n'a pas eu d'effet sur les concentrations en N ammoniacal, acétate, n-butyrate et AGV totaux dans le liquide ruminal. En revanche, la durée de l'ensoleillement a entraîné une augmentation linéaire ($P_{\text{lin}} = 0.01$) des concentrations en propionate ainsi qu'une diminution ($P_{\text{cub}} < 0.04$) des concentrations en AGV à chaînes ramifiées (isobutyrate, isovalérate, valérate). Ceci indique généralement une diminution du catabolisme des acides aminés à chaînes ramifiées. L'augmentation linéaire des concentrations en acide propionique a entraîné une augmentation quadratique ($P_{\text{quad}} = 0.02$) du ratio Propionate / (Acétate + Butyrate) $[P/(A+B)]$ ce qui indique une fermentation ruminale glucogénique plutôt que lipogénique ce qui est plus efficace d'un point de vue énergétique.

Tableau 3. Concentration en N ammoniacal et acides gras volatils dans le fluide ruminal suite à l'incubation in vitro d'une luzerne récoltée après 0, 2, 4, 8 et 12 heures de lumière.

	Heures de lumière					SEM	P		
	0	2	4	8	12		L	Q	C
	mmol/L								
N Ammoniacal	5.2	5.1	5.1	5.2	4.9	1.72	0.10	0.42	0.17
Acétate	40.2	37.2	38.5	41.7	44.7	2.96	0.08	0.35	0.47
n-Butyrate	7.1	7.3	7.5	7.4	8.4	0.55	0.10	0.53	0.48
Propionate	11.8	11.6	12.8	13.6	14.6	1.00	0.01	0.96	0.81
Isobutyrate	1.5	1.1	1.1	1.1	1.0	0.08	0.001	0.07	0.01
Isovalérate	2.3	2.0	2.0	2.0	1.7	0.10	0.001	0.79	0.04
Valérate	1.6	1.2	1.3	1.4	1.2	0.09	0.01	0.42	0.009
Total	64.5	60.5	63.2	67.2	71.5	4.54	0.09	0.45	0.55
Ratio P / (A+B)	0.25	0.26	0.28	0.28	0.27	0.01	0.01	0.02	0.63
	Mol / 100 Mol								
Acétate	62.3	61.4	61.0	62.0	62.5	0.36	0.16	0.009	0.07
N-Butyrate	11.0	12.1	11.8	10.9	11.7	0.36	0.93	0.88	0.006
Propionate	18.3	19.2	20.3	20.3	20.3	0.44	0.002	0.03	0.40
Isobutyrate	2.3	1.8	1.8	1.7	1.4	0.13	0.0001	0.26	0.06
Isovalérate	3.6	3.4	3.1	3.1	2.4	0.17	<0.0001	0.52	0.19
Valérate	2.5	2.0	2.1	2.1	1.6	0.13	0.0002	0.91	0.02

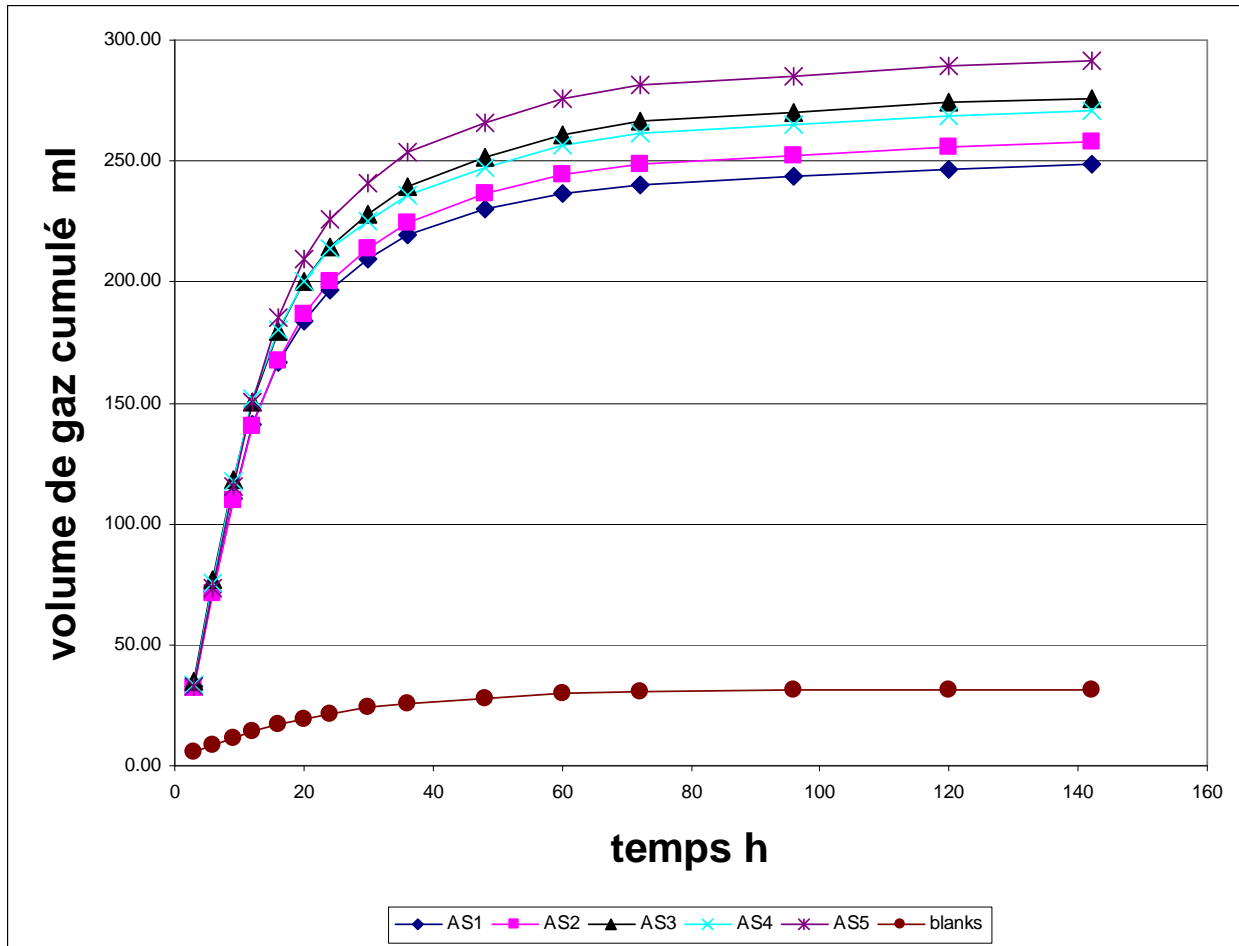


Figure 1. Production cumulée de gaz dans le rumen artificiel selon la durée de la période de lumière avant la fauche de la luzerne: AS1 = 0 h; AS2 = 2 h; AS3 = 4 h; AS4 = 8 h ; AS5 = 12 h et blancs = bouteilles témoin ne contenant pas de fourrage (n = 4).

Conclusion

L'allongement de la période de lumière avant la coupe favorise l'accumulation de l'amidon et de GNF chez la luzerne. Par ailleurs, cette augmentation des concentrations d'amidon et de GNF a eu un effet positif sur la fermentation ruminale de la luzerne (plus grande production de gaz et une fermentation ruminale glucogénique) et ce malgré l'absence d'effet sur les concentrations en sucres totaux.

Remerciements

Les auteurs désirent remercier David Davies, Eleanor Bakewell, Sylvie Provencher, Lisa Croteau, Josée Bourassa et Lucette Chouinard pour leur expertise technique ainsi que Dan Danhoa et Steve Méthot pour leur aide dans l'analyse des données.

Liste des ouvrages cités

Burns, J.C., H.F. Mayland et D.S. Fisher. 2005. Dry matter intake and digestion of alfalfa harvested at sunset and sunrise. *J. Anim. Sci.* 83: 262-270.

- Castonguay, Y., Nadeau, P., Lechasseur, P. and Chouinard, L. 1995. Differential accumulation of carbohydrates in alfalfa cultivars of contrasting winterhardiness. *Crop Sci.* 35: 509-516.
- France, J., Danhoa, M.S., Theodorou, M.K., Lister, S.J., Davies, D.R. et Isaac, D. 1993. A model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feeds. *J. Theor. Biol.* 163: 99-111.
- Lechtenberg, V.L., D.A. Holt et H.W. Youngberg. 1971. Diurnal variation in nonstructural carbohydrates in vitro digestibility, and leaf to stem ratio of alfalfa. *Agron. J.* 63: 719-724.
- Lee, M.R.F., Brooks, A.E., Moorby, J.M., Humphreys M.O., Theodorou, M.K. MacRae, J.C. et N.D. Scollan. 2002. In vitro investigation into the nutritive value of *Lolium perenne* bred for an elevated concentration of water-soluble carbohydrate and the added effect of sample processing: freeze-dried and ground vs. frozen and thawed. *Anim. Res.* 51: 269 – 277.
- Longland, A.C., Theodorou, M.K., Sanderson, R., Lister, S.J., Powell, C.J. et Morris, P. 1995. Non-starch polysaccharide composition and in vitro fermentability of tropical forage legumes varying in phenolic content. *Anim. Feed Sci. Technol.* 55: 161-177.
- Zhu, W.Y., Theodorou, M.K., Longland, A.C., Nielson, B.B., Dijkstra et Trinci, A.P.J. 1996. Growth and survival of anaerobic fungi in batch and continuous culture. *Anaerobe* 2: 29-37.