

Vers une méthode enzymatique Haut Débit de prévision de la digestibilité des fourrages Towards a high-throughput enzymatic method to predict forage digestibility

LE MORVAN A. (1), QUEREUIL A. (1), MAXIN G. (1)

(1) INRA UMR1213 Herbivores, VetAgro Sup, Site de Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France

INTRODUCTION

La valeur énergétique des fourrages dépend principalement de la digestibilité de leur matière organique (dMO). Celle-ci peut être prévue à partir de différentes méthodes de laboratoire, la plus précise étant la digestibilité enzymatique pepsine-cellulase (DcellMS, méthode Aufrère). Cependant, cette méthode réalisée en creusets filtrants est fastidieuse à mettre en œuvre et limite le nombre d'échantillons analysables simultanément. L'utilisation de l'incubateur Ankom Daisy^{II} pourrait permettre de traiter beaucoup plus d'échantillons dans un même temps. L'objectif de ce travail était d'adapter la méthode DcellMS « Aufrère creusets » à l'incubateur Daisy afin d'obtenir des résultats les plus proches possible entre les deux méthodes ; permettant ainsi de ne pas modifier les équations INRA de prévision de la dMO (Aufrère *et al.*, 2007).

1. MATERIEL ET METHODES

La méthode « Aufrère Daisy » testée utilise des sachets poreux (F57, Ankom) associés à l'incubateur Daisy^{II} commercialisé par ANKOM Technology (Macedon NY, USA). Les échantillons préalablement séchés à 60°C et broyés à 1 mm sont introduits dans les sachets, et placés dans des bocaux en verre fermés en rotation continue dans l'enceinte de l'appareil thermostatée à 40°C. Les solutions enzymatiques utilisées étaient celles de la méthode « Aufrère creusets » soit une solution de pepsine (2 g/l dans HCl 0,1N) et une solution de cellulase Onozuka R10 (1 g/l dans tampon acétate pH 4,6). Trois types de fourrages ont été utilisés pour comparer les deux méthodes : 18 fourrages verts pâturés de prairies permanentes, 17 foin de prairies permanentes de montagne et 18 maïs en vert. Les échantillons (de valeurs DcellMS « Aufrère creusets » connues) ont été choisis dans la banque d'échantillons de l'UMR Herbivores à Theix de manière à représenter une gamme de digestibilité la plus étendue possible. Chaque échantillon a été analysé en triple au sein d'une même série et différentes conditions d'analyse ont été testées : variation du nombre de sachets par bocal (et par conséquent du ratio volume de solution / quantité d'échantillon), des durées et températures de l'hydrolyse acide, des techniques de rinçage et de séchage. Le mode opératoire retenu est celui qui permettait d'obtenir les résultats les plus proches de ceux obtenus avec la méthode « Aufrère creusets ». Ce mode opératoire a été répété plusieurs fois sur ces mêmes échantillons afin d'évaluer la répétabilité et la reproductibilité de la méthode.

La comparaison des deux méthodes a été effectuée par analyse de variance (Minitab, version 16). La répétabilité représentait la variabilité intra-série et la reproductibilité la variabilité inter-série.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Au final, pour la méthode DcellMS « Aufrère Daisy », les solutions enzymatiques et les durées d'incubation sont inchangées par rapport à la méthode « Aufrère creusets », mais le ratio volume de solution / quantité d'échantillon est plus faible.

Les valeurs DcellMS « Aufrère Daisy » étaient proches des valeurs DcellMS « Aufrère creusets » (Figure 1), mais plus élevées : 64,8 vs 62,9 (P < 0,01). Jaguelin-Peyraud et Noblet (2003) ont également observé des valeurs plus élevées avec l'appareil Daisy en comparaison avec la méthode de référence utilisée pour prévoir la dMO chez le porc. La pente de la régression entre les valeurs « Aufrère creusets » et

« Aufrère Daisy » (tous types de fourrages confondus) n'était pas statistiquement différente de 1 (1,009), le R² était de 0,98 et l'erreur moyenne de prédiction de 2,6 points. Les pentes de régression n'étaient également pas différentes de 1 pour les fourrages verts et les maïs en vert analysés séparément. En revanche, pour les foin, la pente était légèrement différente de 1 (0,95) et l'erreur moyenne de prédiction était plus élevée (3,5 vs 2,3 et 1,9 points pour les fourrages verts et le maïs en vert).

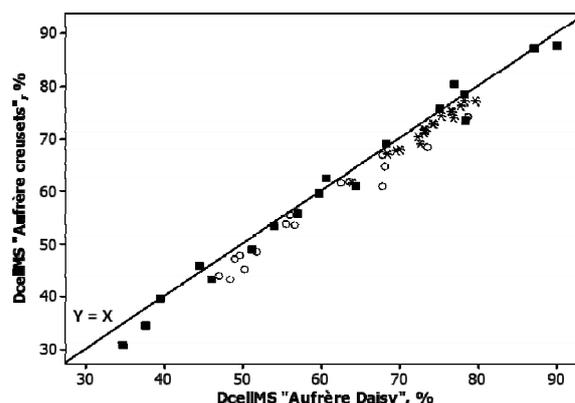


Figure 1 : Relation entre la DcellMS « Aufrère creusets » et la DcellMS « Aufrère Daisy » (■ : fourrages verts, o : foin ; * : maïs en vert)

La répétabilité et la reproductibilité de la méthode « Aufrère Daisy » étaient meilleures pour les maïs en vert que pour les fourrages verts ou les foin (Tableau 1). Ces différences pourraient être liées à une granulométrie moins homogène et/ou à la composition botanique plus complexe des fourrages verts et des foin testés.

Tableau 1 : Répétabilité et reproductibilité de la méthode « Aufrère Daisy »

	Tous fourrages	Maïs en vert	Fourrage Vert	Foin
Écart-type de Répétabilité ¹	0,67	0,56	0,75	0,71
Écart-type de Reproductibilité ²	1,31	0,85	1,55	1,55

¹ moyenne des ET d'un échantillon mesurés sur 3 répétitions intra-série ; ² moyenne des ET d'un échantillon inter-séries.

CONCLUSION

Ces premiers tests de digestibilité enzymatique « Haut Débit » sont prometteurs : les résultats obtenus avec l'appareil Daisy sont proches de ceux de la méthode « Aufrère creusets », mais ils sont légèrement plus élevés. Cette méthode présente l'avantage d'être beaucoup plus rapide puisqu'elle permet d'analyser 4 fois plus d'échantillons simultanément. Elle permet également de réduire le coût d'environ 15 % (hors main d'œuvre). Des travaux supplémentaires sont en cours pour mesurer l'impact de la méthode « Aufrère Daisy » sur la prévision de la dMO *in vivo* à partir des équations INRA.

Nous tenons à remercier J. Aufrère, D. Andueza, R. Baumont, A. Farruggia, J. Peyrat, F. Picard et V. Niderkorn (INRA UMRH) pour leurs conseils, leur expertise et/ou l'utilisation de leurs échantillons.

Aufrère, J., *et al.*, 2007. INRA Prod. Anim., 20, 129-136
Jaguelin-Peyraud, Y., Noblet J. 2003. J. Rech. Porcine, 35, 75-8