

CEE - ST2/215

ETUDE DE LA VALEUR NUTRITIVE DES FOURRAGES LIGNEUX
CONSOMMES PAR LES RUMINANTS

Belgique	Station de Haute Belgique - Centre de Recherches agronomiques de Gembloux
Cameroun	IRZ : Yaoundé, Ngaoundéré, Garoua, Bamenda
Côte d'Ivoire	IDESSA - Département Elevage : Bouaké, Korhogo
France	CIRAD-EMVT : Maisons-Alfort CIRAD-CTFT : Nogent-sur-Marne INRA, Theix : Unité de la valeur alimentaire INRA, Avignon : Unité d'éco-développement
Mali	IER - Institut d'Economie rurale : Sotuba, Niono
RFA	Universität Hohenheim : Institut für Tierernährung
Sénégal	ISRA - Département de Recherches zootechniques et vétérinaires : Dakar
Tchad	LRVZ : Farcha, Ndjaména

PREDICTION DE LA VALEUR NUTRITIVE DES FEUILLES DE FOURRAGES LIGNEUX TROPICAUX

par

Brigitte ARBELOT

SEPTEMBRE 1993

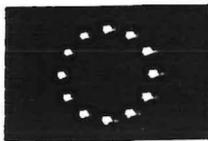


Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement

Département d'élevage et de médecine vétérinaire
CIRAD-EMVT

10, rue Pierre-Curie 94704 Maisons-Alfort cedex France

COMMISSION DES COMMUNAUTES
EUROPEENNES
DG XII
Programme ST2/89/215



DEPARTEMENT D'ELEVAGE
ET DE MEDECINE VETERINAIRE

CIRAD-EMVT



PREDICTION DE LA VALEUR NUTRITIVE DES FEUILLES DE FOURRAGES LIGNEUX TROPICAUX

Par

Brigitte Arbelot

(Septembre 1993)

Stage réalisé :

au Laboratoire d'Alimentation du CIRAD-EMVT
à la Mission Biométrie du CIRAD
à l'Institut für Tierernährung-Universität Hohenheim
à la Station de Haute Belgique - Centre de Recherches Agronomiques
de Gembloux

dans le cadre du projet ST2/215 "Valeur nutritive des fourrages ligneux
tropicaux" associant aussi :

l'Institut Sénégalais de Recherche agricole
l'Institut d'Economie rurale (Mali)
l'Institut des Savanes (Côte d'Ivoire)
l'Institut de Recherches Zootechnique et Vétérinaire (Cameroun)
le Laboratoire de Recherches Vétérinaire et Zootechnique de Farcha
(Tchad)
et l'Institut de Développement Rural (Burkina Faso)

MEMOIRE

pour obtenir le diplôme d'études approfondies

Spécialité : Nutrition - aspects moléculaires et cellulaires

Option : Nutrition animale

PREDICTION DE LA VALEUR
NUTRITIVE DES FEUILLES
DE FOURRAGES LIGNEUX TROPICAUX

par

Brigitte Arbelot

SEPTEMBRE 1993

SOMMAIRE

	Page
Remerciements	1
Liste des sigles	2
Introduction	3
 Première partie - ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Importance et caractéristiques des fourrages ligneux tropicaux	5
2. Estimation de la valeur nutritive par des méthodes d'analyses chimiques	6
2.1. Analyses des parois cellulaires	6
2.2. Dosage des matières azotées	6
3. Estimation de la valeur nutritive par des méthodes utilisant du jus de rumen	7
3.1. Méthode <i>in vitro</i> de Tilley et Terry	7
3.2. Méthode <i>in sacco</i> : technique des sachets de nylon	7
3.3. Le gaz test	7
4. Estimation de la valeur nutritive par des mesures de dégradabilité enzymatique	8
5. Application de la spectrométrie de réflexion dans le proche infrarouge à la caractérisation des ligneux	8
6. Equations de prédiction de la valeur alimentaire et limites des différentes techniques d'analyses	8
 Deuxième partie - ETUDE EXPERIMENTALE	
1. Objectifs	11
2. Matériel et méthodes	11
2.1. La base de données	11
2.1.1. Analyses chimiques et enzymatiques	11
2.1.2. Mesure de la production de gaz	12

	Page
2.1.3. Prédiction de toutes les données précédentes par la spectrométrie dans le proche infrarouge et résultats de digestibilité <i>in vivo</i> et <i>in sacco</i> ...	12
2.2. Elimination des données aberrantes	12
2.3. Statistiques élémentaires relatives aux feuilles de ligneux	12
2.4. Etude des liaisons entre variables	12
3. Résultats	13
3.1. Détection des données de laboratoires douteuses d'après la spectrométrie dans le proche infrarouge ...	13
3.2. Caractéristiques moyennes et variations à l'intérieur de différents groupes botaniques des feuilles de ligneux tropicaux	13
3.2.1. Composition moyenne des feuilles de légumineuses et de non-légumineuses	13
3.2.2. Variations par espèce : étude de quelques espèces particulières	14
3.3. Liaisons entre variables	17
3.3.1. Analyse en composantes principales	17
3.3.2. Coefficients de corrélation entre variables caractérisant les légumineuses et les non-légumineuses	18
3.3.3. Corrélations de la DMOGT de quelques espèces avec les paramètres chimiques et enzymatiques, et forme de la liaison avec la SMO	19
3.4. Constitution de groupes	21
3.4.1. Analyse en composantes principales	21
3.4.2. Classification hiérarchique et formation de groupes	21
3.4.3. D'après une ACP sur les données spectrales	21
3.5. Liaisons entre les valeurs mesurées par le gaz test et les valeurs d'analyses chimiques, enzymatiques, <i>in sacco</i> et <i>in vivo</i>	21
3.5.1. Prédiction de la DMOGT à partir des analyses chimiques et enzymatiques	21
3.5.2. Prédiction de la MAGT à partir des analyses chimiques et enzymatiques	23
3.5.3. Liaison entre les résultats du gaz test, les dégradabilités enzymatiques et les mesures <i>in sacco</i> et <i>in vivo</i>	23
3.6. Prédiction par la spectrométrie dans le proche infrarouge	24

	Page
4. Discussion	24
4.1. Valeur nutritive des feuilles de ligneux tropicaux ...	24
4.2. Comparaison des méthodes d'analyses enzymatiques et du gaz test	26
4.3. Prédiction de la valeur nutritive estimée par le gaz test	27
4.3.1. Prédiction de la DMOGT	27
4.3.2. Prédiction de la dMAGT	27
4.3.3. Prédiction de la DMOGT et de la dMAGT par la spectrométrie dans le proche infrarouge	28
4.3.4. Relations entre les mesures <i>in vivo</i> et <i>in sacco</i> et les résultats obtenus au laboratoire	28
Conclusion	30
Références bibliographiques	32

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Hubert Guerin et Hervé Ledoux pour leur aide et leurs conseils tout au long de ce travail.

Je remercie toute l'équipe du service de nutrition du CIRAD-EMVT pour la gentillesse de leur accueil et pour leur aide.

Je remercie également Herbert Steingass et Georges Sinnaeve pour la qualité de leur accueil et leur encadrement lors de mes déplacements en Allemagne et en Belgique.

Je remercie Daniel Sauvant d'avoir eu la gentillesse de me donner des conseils lors de cette étude.

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes ayant participé au projet "ligneux", sans lesquelles toutes les données n'auraient pu être réunies, et plus particulièrement Safietou Fall, Chantal Zoungrana, Anna Réjane Koné, Alexandre Ickowicz, Ouedo Dassering et Dominique Friot.

LISTE DES SIGLES

ACP	Analyse en composantes principales.
ADF	Acid Detergent Fiber (ligno-cellulose).
ADL	Acid Detergent Lignin (Lignine acide).
CBW	Cellulose brute de Weende.
Cel	Cellulose (ADF-ADL).
dMA	Dégradabilité (dans le rumen) des matières azotées.
DMA	Digestibilité (apparente <i>in vivo</i>) des matières azotées.
dMAGT	Dégradabilité des matières azotées par le gaz test (p.100 MAT).
DMOGT	Digestibilité de la matière organique par le gaz test (p.100 MO).
DMO	<i>in vivo</i> : digestibilité de la matière organique déterminée sur des animaux en cages (p.100 MO).
DMS	Digestibilité de la matière sèche (p.100 MS).
DTMA	Dégradabilité théorique de la matière azotée mesurée par la technique <i>in sacco</i> (p.100 MAT).
DTMS	Dégradabilité théorique de la matière sèche mesurée par la technique <i>in sacco</i> (p.100 MS).
ENA	Extractif non azoté.
ETI	Ecart type de la population utilisée pour le NIR (données de laboratoire).
ETR	Ecart type résiduel.
ETRp	Ecart type de la prédiction par le NIR.
GP	Production de gaz mesurée par le gaz test.
Hemic	Hémicelluloses (NDF-ADF).
MA	Matières azotées.
MAT	Matières azotées totales (N*6,25).
MAADF	MA liée à l'ADF (p.100 MAT ou p.100 MS).
MAGT	MA dégradée lors du gaz test (p.100 MS).
MG	Matière grasse.
MM	Matières minérales.
MO	Matière organique.
MS	Matière sèche.
n	Nombre d'observations.
NDF	Neutral Detergent Fiber (parois totales : hémicelluloses et lignocellulose).
NIR	Spectrométrie dans le proche infrarouge (Near infrared spectrometry).
MAnADF	MA non liée à l'ADF (MAT-MAADF).
MAPRO	MA dégradée par la pronase.
R	Coefficient de corrélation.
R ²	Coefficient de détermination.
SMO	Solubilité pepsine-cellulase de la matière organique.
SMS	Solubilité pepsine-cellulase de la matière sèche.
TANPT	Tanins précipitant l'albumine bovine.

INTRODUCTION

Les arbres et arbustes fourragers des zones tropicales jouent un rôle important pour l'élevage des ruminants, en particulier pendant les périodes critiques de l'année (saison sèche) dans les régions arides ou semi-arides.

Spontanés ou cultivés, leur utilisation est variée. Le choix des espèces à protéger et multiplier repose sur des critères agronomiques et forestiers, mais doit également tenir compte de leur valeur fourragère. Celle-ci est très différente de celle des fourrages herbacés tempérés ou tropicaux et méconnue.

Un programme de la CEE-DGXII a pour objectif d'étudier l'utilisation par le cheptel, la composition et la valeur nutritive de la végétation ligneuse de six pays d'Afrique centrale (Cameroun et Tchad) et de l'Ouest (Mali, Sénégal, Côte d'Ivoire et Burkina Faso). Il comprend l'inventaire des ressources fourragères ligneuses sur des terroirs représentatifs des principales zones écologiques comprises entre les isohyètes 300 et 1200 mm, l'étude des préférences alimentaires de trois espèces de ruminants domestiques et un échantillonnage des espèces consommées pour leur analyse.

Le travail présenté ici vise en premier lieu à caractériser divers groupes botaniques sur le plan chimique et par différentes méthodes d'estimation de la valeur nutritive.

Le deuxième objectif est la mise au point de relations entre les paramètres de la valeur nutritive mesurée sur l'animal et ceux mesurés aux laboratoires, afin de permettre une caractérisation rapide de l'intérêt zootechnique des espèces. La production de gaz - résultant des fermentations *in vitro* dans du jus de rumen (gaz test) - est provisoirement retenue comme méthode de référence, en attendant de disposer d'un nombre suffisant de résultats *in vivo*. Les valeurs mesurées par le gaz test seront donc reliées aux données chimiques et aux dégradabilités enzymatiques obtenues dans différents laboratoires; elles sont également prédites par la spectrométrie dans le proche infrarouge.

PREMIERE PARTIE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

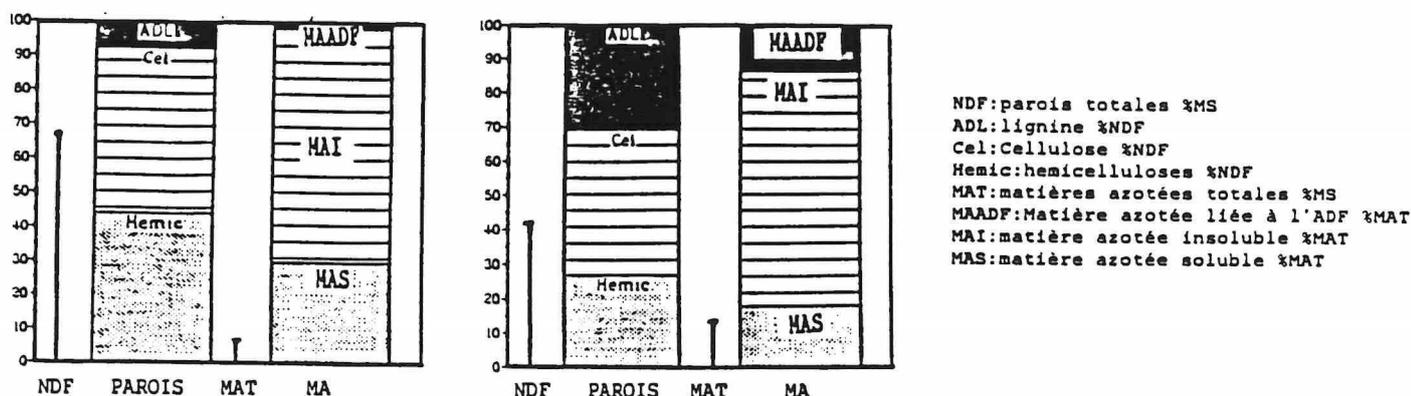
1. IMPORTANCE ET CARACTERISTIQUES DES FOURRAGES LIGNEUX TROPICAUX

Sur les parcours naturels ou agropastoraux des régions tropicales, les arbres et arbustes fourragers fournissent un complément de matières azotées. En zones tropicales semi-arides, ils constituent la seule ressource de fourrages verts en saison sèche et peuvent représenter jusqu'à 30, 50, et 80 p.100 des régimes des bovins, ovins et caprins respectivement (23).

La principale caractéristique des fourrages ligneux est leur teneur élevée en lignine (ADL) (16, 28). En revanche, les teneurs en parois totales (NDF) sont inférieures en moyenne à celles des fourrages herbacés (29). Il en est de même pour les teneurs en cellulose brute, et en lignocellulose (ADF) (28).

Par rapport aux fourrages herbacés, la teneur en matières azotées totales (MAT=Nx6,25) est élevée et variable (23, 29). Mais leur disponibilité mesurée par des méthodes chimiques (méthode de Durand (49)), enzymatiques (solubilité pepsique, dégradabilité par la pronase (4)), ou par des techniques *in sacco* (5), *in vitro* (gaz test (34)) ou *in vivo* (12) est plus variable et en moyenne plus faible que celle des herbacées (29, 37). Ces deux observations sont à relier à la présence de tanins (16, 26, 30) et de lignine (27, 29) - limitant physiquement et chimiquement la dégradation dans le rumen - et à la répartition de l'azote entre le contenu cytoplasmique et les parois (23, 36). A teneur égale en matières azotées, la fraction liée aux parois est plus grande que dans les herbes (24, 29).

Figure 1 - Comparaison des compositions moyennes des graminées sahéliennes et des ligneux tropicaux (24, 28)



La diversité chimique des fourrages ligneux se répercute sur leur digestibilité (DMS) qui varie de 30 à 75 p.100, et est en moyenne plus faible que celle des herbes vertes (23, 28).

2. ESTIMATION DE LA VALEUR NUTRITIVE PAR DES METHODES D'ANALYSES CHIMIQUES

En plus de la composition chimique, les principaux paramètres nécessaires à l'estimation de la valeur nutritive sont la digestibilité de la matière organique (DMO), la teneur en matière azotée digestible (MAD) et la dégradabilité de la matière azotée (dMA) dans le rumen. Cette dernière est exprimée sous une forme synthétique : la dégradabilité théorique (DT) qui tient compte du temps de séjour des particules alimentaires dans le rumen et de la vitesse de dégradation. Les analyses de laboratoire exposées ci-dessous contribuent à estimer ces paramètres.

2.1. Analyses des parois cellulaires

La fraction indigestible du contenu cellulaire variant peu, la prévision de la digestibilité d'un fourrage repose principalement sur la prévision de la teneur en parois peu digestibles (14, 27). Celle-ci peut être estimée par la teneur en cellulose brute de Weende (CBW) mais, compte tenu des différences entre cycle de croissance d'une même plante, entre espèces et familles botaniques, les équations de prévision de la DMO en fonction de CBW ne sont applicables que pour les fourrages pour lesquels elles ont été établies (14). Elles sont donc difficilement généralisables aux fourrages ligneux tropicaux qui comptent plusieurs centaines d'espèces (23, 24, 41).

Le fractionnement des parois selon les analyses de Van Soest permet d'estimer la teneur en parois totales (NDF), la teneur en ligno-cellulose (ADF) et la teneur en lignine (ADL). Ce sont des méthodes simples, rapides et reproductibles (27, 47). Le NDF est un bon critère de l'ingestibilité, car il témoigne de l'encombrement fibreux du rumen. L'ADF et l'ADL sont de meilleurs prédicteurs de la digestibilité que la CBW (7, 14, 27).

2.2. Dosage des matières azotées

L'estimation de la DMO des fourrages tempérés en fonction de la teneur en azote total dosé selon la méthode de Kjeldahl (MAT) est plus précise qu'en fonction des constituants pariétaux (23, 41). Pour les dicotylédones tropicales, la teneur en MAT est un estimateur imprécis de la DMO. Il est nécessaire de distinguer les différentes fractions azotées (tableau 1) (23).

Les matières azotées résiduelles contenues dans l'ADF (MAADF) sont réputées indigestibles (45). La connaissance de cette fraction permet d'améliorer la précision des équations de prévision de la teneur en MAD appliquées aux fourrages ligneux (28).

Un fractionnement plus classique des MA consiste à évaluer la part dégradabile, c'est à dire disponible pour la flore microbienne (51) : le premier système des PDI (protéines digestibles dans l'intestin) reposait sur la mesure de la solubilité par la méthode de Durand (49), qui caractérise la fraction azotée immédiatement disponible et permet d'estimer la fermentescibilité *in vitro* (14). Cette méthode est progressivement abandonnée, car elle ne prend pas en compte la fraction

protéique, lentement, difficilement et/ou partiellement dégradable (14, 28) comme le permet la mesure *in sacco* qui sert de référence pour le calcul de la DT (50).

Pour les fourrages ligneux tropicaux, la mesure de la solubilité n'améliore pas la prédiction de la MAD par rapport à la teneur en MAT (29).

Les méthodes d'évaluation de la valeur nutritive des fourrages herbacés à partir des analyses chimiques ne sont pas applicables directement aux ligneux (41).

Pour ces derniers, il est nécessaire d'approfondir le fractionnement des matières azotées et des constituants pariétaux, ainsi que l'identification des facteurs antinutritionnels (notamment les tanins) (22, 52). De plus, comme pour d'autres fourrages, des préparations enzymatiques ou du jus de rumen sont utilisés pour affiner les prévisions de la valeur nutritive.

3. ESTIMATION DE LA VALEUR NUTRITIVE PAR DES METHODES UTILISANT DU JUS DE RUMEN

3.1. Méthode *in vitro* de Tilley et Terry, 1963 (44)

Cette technique, simulant les étapes de digestion dans le rumen et l'intestin (7), permet de prédire la DMO (48), mais ne permet pas d'étudier la cinétique de dégradation des aliments (14).

Généralement meilleure qu'à partir des seuls critères chimiques, la prévision de la DMO varie suivant les auteurs et les fourrages étudiés (31).

3.2. Méthode *in sacco* : technique des sachets de nylon

Comparée à la méthode de Tilley et Terry, cette technique est plus proche des conditions physiologiques (13) et permet de mesurer à la fois la vitesse et l'intensité de la digestion dans le rumen (11). Elle permet de prédire la DMO et de mesurer la DT (32, 33).

3.3. Le gaz test

La quantité de gaz produite (GP), lorsqu'un échantillon est incubé dans du jus de rumen, est proportionnelle à la quantité de MO fermentée par la flore ruminale. Elle est donc liée à la digestibilité et à la valeur énergétique des aliments pour les ruminants (43). Elle permet également d'estimer la dégradabilité de l'azote dans le rumen (55).

Pour pallier les inconvénients des méthodes utilisant du jus de rumen (coût, entretien d'animaux fistulés, standardisation et reproductibilité), des méthodes utilisant des préparations enzymatiques ont été développées (3, 6, 14).

4. ESTIMATION DE LA VALEUR NUTRITIVE PAR DES MESURES DE DEGRADABILITE ENZYMATIQUE

L'activité cellulolytique est l'une des principales caractéristiques de la population microbienne du rumen (14). Le pourcentage de matière sèche et/ou de matière organique solubilisé par la pepsine-cellulase est un estimateur de la fraction digestible par les enzymes cellulolytiques (6).

Les mesures de dégradabilités enzymatiques permettent de prévoir la digestibilité des fourrages tempérés et tropicaux (7) de façon satisfaisante (2, 21) (tableau 2).

Plus simples que la technique *in sacco*, les mesures de dégradabilités enzymatiques (par la pronase, la pepsine,...) seraient, selon certains auteurs, plus performantes que la méthode de Durand pour prédire la digestibilité et la dégradabilité des constituants azotés dans le rumen (40) (tableau 2).

5. APPLICATION DE LA SPECTROMETRIE DE REFLEXION DANS LE PROCHE INFRA-ROUGE A LA CARACTERISATION DES LIGNEUX

La méthode consiste à analyser le spectre de radiation diffuse d'une source de lumière monochromatique réfléchi par les particules du fourrage. Des équations de calibration, établies à partir de fourrages de qualité connue, permettent de prédire les teneurs en constituants chimiques, les dégradabilités enzymatiques et la production de gaz *in vitro* d'échantillons similaires inconnus. C'est une technique rapide et non destructive (9, 10).

6. EQUATIONS DE PREDICTION DE LA VALEUR ALIMENTAIRE ET LIMITES DES DIFFERENTES TECHNIQUES D'ANALYSES

Tableau 1 - Prédiction de la DMO (p.100 MO)

Type de fourrage (nb d'échantillons)	Critères de prédiction	R ²	ETR	Ref
Prairie temporaire de Graminées (13 à 30)	CB MAT		2 à 3	14
Paturages naturels Sénégalais (17)	ADF MAT	0,90	4,3	18
Fourrages tempérés (85)	pepsine cellulase	0,96	2,2	3
Fourrages tropicaux (45)	pepsine cellulase	0,94	2,7	21
Différents types de fourrages (185)	GP MAT MM	0,91	4,5	34

R² = Coefficient de détermination

ETR = Ecart type résiduel

Ref = Références bibliographiques

Tableau 2 - Prédiction de la MAD (en p.100 MO) et de la DMA (en p.100 MAT)

Type de fourrage (nb d'échantillons)	critères de prédiction	R ²	ETR	Ref
Graminées tropicales MAD (9)	MAT	0,98	0,5	25
Pailles+Ligneux tropicaux (9) MAD	(MAT-MAADF)	0,97	1,3	25
Herbacées tempérées DMA	pepsine HCl	0,96	2,4	20
Ligneux tropicaux (9) DMA	pepsine HCl	0,74	20,6	28

Les limites de toutes les analyses sont d'abord liées aux caractéristiques de l'échantillon. Une température de séchage excessive entraîne une diminution de la digestibilité à cause des réactions de Maillard (6, 43). La granulométrie de l'échantillon influe sur la précision des méthodes enzymatiques et des méthodes utilisant du jus de rumen car elle détermine l'accès des enzymes aux substrats, et donc la dégradabilité (5, 35). Pour les techniques utilisant du jus de rumen, il existe des variations liées à l'animal donneur : variabilité de l'activité cellulolytique du jus de rumen de l'animal donneur (46), fonction notamment de l'alimentation de base (15, 33). Pour toutes les techniques, la validité des analyses de laboratoire utilisées comme références et la sélection d'échantillons servant à la calibration constituent des facteurs essentiels (9, 34).

L'élaboration de procédures de standardisation permet de disposer de techniques répétables et reproductibles.

Pour les techniques enzymatiques et celles utilisant du jus de rumen, des échantillons témoins et de contrôle sont inclus dans chaque série d'analyse (4, 6).

Pour la technique de Tilley et Terry, les rations de base devraient être standardisées au niveau d'un ensemble de laboratoires (32). Mais le gaz test est une méthode fiable, reproductible et répétable avec des jus de rumen différents (34).

Pour la méthode *in sacco*, malgré la standardisation et l'utilisation du "stomacher" (38), la contamination du résidu par la flore microbienne reste un facteur difficilement contrôlable, et entraîne une sous-estimation de la dégradabilité théorique de l'azote. La répétabilité est bonne, mais la reproductibilité moyenne (5, 36).

DEUXIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE

1. OBJECTIFS

Les caractéristiques des feuilles de ligneux tropicaux sont étudiées à partir des données des analyses chimiques classiques, des mesures de dégradabilité enzymatique, de la digestibilité de la matière organique et de la dégradabilité de la matière azotée déterminées à partir du gaz test (DMOGT, dMAGT).

Afin d'étudier la possibilité de remplacer le gaz test par des analyses plus simples, les valeurs mesurées par le gaz test sont reliées à des analyses chimiques et enzymatiques classiques.

La spectrométrie dans le proche infrarouge pourrait permettre d'étudier rapidement un grand nombre d'espèces. Son application généralisée nécessite de disposer d'équations de calibration suffisamment précises. La qualité des prédictions de la DMOGT et de la dMAGT sont donc étudiées.

Enfin, la validité du gaz test est testée par comparaison aux mesures de digestibilité *in vivo* et de dégradabilité *in sacco*.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. La base de données

Les échantillons de ligneux ont été prélevés en Afrique centrale et de l'Ouest entre les 5e et 20e parallèles de l'hémisphère Nord.

Les résultats étudiés concernent, suivant les paramètres, 45 à 883 échantillons de feuilles sélectionnés dans une base de données comptant environ 1 200 échantillons de nature botanique variée. Les échantillons de feuilles sélectionnés sont caractérisés par des variables qualitatives (29 familles, 90 espèces, stade de développement) et des variables quantitatives :

2.1.1. Analyses chimiques et enzymatiques (323 échantillons de feuilles)

Matière sèche (MS), matières minérales (MM), matières grasses (MGE) (8), matières azotées totales (MAT), cellulose brute de Weende (CBW) (1), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), lignine contenue dans l'ADF (acid detergent lignin=ADL) (19), azote lié à l'ADF (MAADF) (17), tanins précipitants (TANPT) (22, 52), solubilité de la matière sèche et de la matière organique par la pepsine cellulase (SMS, SMO), dégradabilité par la pronase (MAPRO) (6, 42), extractif non azoté¹ (ENA), hemicelluloses¹ (Hemic), et cellulose¹ (Cel).

¹calculés à partir des autres déterminations

2.1.2. Mesure de la production de gaz

- a) Détermination de la digestibilité de la matière organique (DMOGT) réalisée pour 323 échantillons de feuilles

L'échantillon est incubé avec du jus de rumen dans un tube calibré fermé par un piston mobile à 39°C pendant 24 h. Le volume de gaz produit est corrigé par la production de gaz dans un tube témoin et par celle d'un aliment standard. Faute de données relatives aux fourrages ligneux tropicaux, l'équation de prévision de la DMO à partir de la production de gaz utilisée est une équation générale (tableau 1) (34).

- b) Détermination de la dégradabilité de l'azote (dMAGT) réalisée pour 76 échantillons de feuilles

L'échantillon est incubé dans du jus de rumen en présence d'un excès de sucres fermentescibles (amidon). La production de gaz est donc considérée comme proportionnelle à la quantité d'azote fermentescible. La teneur en azote fermentescible de l'échantillon testé est calculée par une régression linéaire établie à partir de tubes témoins contenant la même quantité d'amidon et des quantités croissantes d'une source azotée fermentescible ($(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$) (55).

2.1.3. Prédications de toutes les données précédentes par la spectrométrie dans le proche infrarouge (10) et résultats de digestibilité *in vivo* et *in sacco* (53) obtenus par les autres membres du programme

2.2. Elimination des données aberrantes

A l'aide de la spectrométrie dans le proche infrarouge (NIR), des valeurs d'analyses aberrantes ou des échantillons atypiques peuvent être détectés sur la base de la distance généralisée de Mahalanobis et de l'étude des résidus issus de la calibration (9).

2.3. Statistiques élémentaires relatives aux feuilles de ligneux

Les caractéristiques moyennes et les variations de différents groupes botaniques (procédures MEANS et ANOVAR de SAS) seront étudiées. Une analyse discriminante est également effectuée entre les groupes botaniques de légumineuses et de non-légumineuses pour identifier les variables les distinguant (procédure CANDISC de SAS). Des groupes homogènes pour leurs principales caractéristiques sont identifiés (procédures TREE et FASTCLUS de SAS).

2.4. Etude des liaisons entre variables

Les liaisons entre variables sont étudiées sur la base des coefficients de corrélations (procédure CORR de SAS) et d'une analyse en composantes principales (procédure FACTOR de SAS).

DMOGT et dMAGT sont prédites à partir des analyses chimiques et enzymatiques classiques (procédure REG de SAS) ainsi que par les données de l'analyse spectrale.

Les liaisons entre les valeurs mesurées par le gaz test et les paramètres mesurés *in vivo* et *in sacco* sont également étudiées.

3. RESULTATS

3.1. Détection des données de laboratoires douteuses d'après la spectrométrie dans le proche infrarouge

Les valeurs d'analyses douteuses d'après le NIR ont été vérifiées, des erreurs de saisie sont apparues. Certaines analyses de laboratoires ont été refaites (gaz test, tanins précipitants) et ont confirmé les résultats des premières analyses.

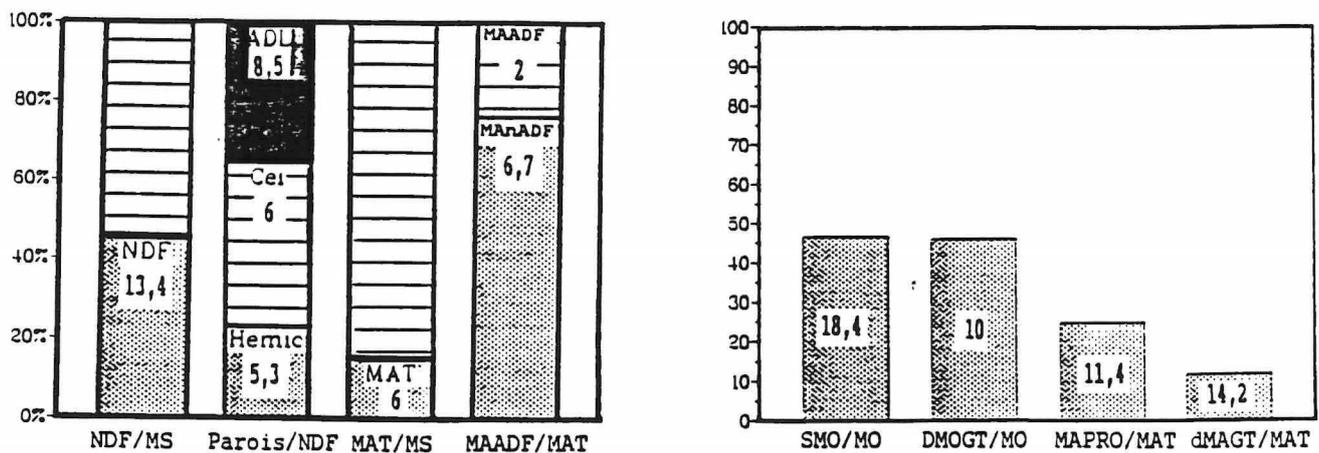
3.2. Caractéristiques moyennes et variations à l'intérieur de différents groupes botaniques des feuilles de ligneux tropicaux

Les caractéristiques moyennes des échantillons sont conformes aux données bibliographiques pour leur teneurs en parois totales, en fractions pariétales et en azote total.

Il est classique de distinguer - tant en production végétale qu'en nutrition animale - les légumineuses² des autres espèces de dicotylédones. Afin de vérifier le bien-fondé de cette distinction dans le cas des ligneux, les résultats analytiques relatifs aux feuilles sont présentés séparément et comparés pour les deux classes.

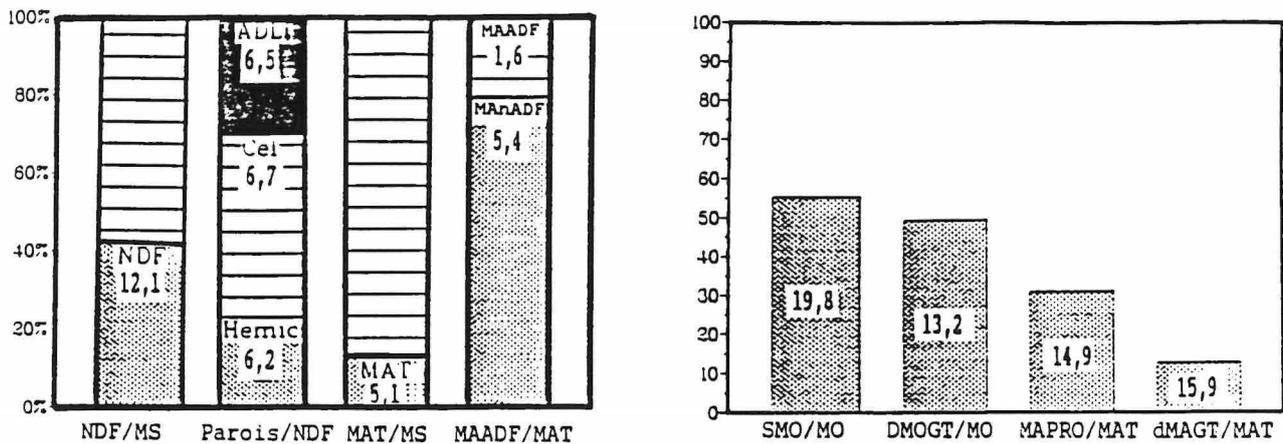
3.2.1. Composition moyenne des feuilles de légumineuses et de non-légumineuses

Figure 2 - Composition moyenne (histogrammes) et écarts types (valeurs numériques) des feuilles de légumineuses (n=68)



²Les légumineuses sont représentées par trois familles : les Mimosacées, les Caesalpiniacées et les Fabacées.

Figure 3 - Composition moyenne et écarts types des feuilles de non légumineuses (n=117)



Les compositions moyennes (en p.100 de MO) des feuilles de légumineuses (n=68) et de non-légumineuses (n=117) sont significativement différentes ($p < 0,05$) pour tous les critères sauf pour la MAT, Hemic, Cel, MANADF³ et TANPT. Les teneurs moyennes en CBW, NDF, ADF, ADL et MAADF sont supérieures pour les légumineuses, et SMO, DMOGT et MAPRO sont inférieures. Ces variables discriminent les deux classes.

Pour les échantillons analysés pour dMAGT (légumineuses n=48, non-légumineuses n=45), les variables discriminantes sont seulement la CBW, l'ADL et la SMO. La DMOGT, la dMAGT et MAPRO ne sont plus des variables discriminantes. Ceci est lié, d'une part au nombre d'échantillons et, d'autre part, à l'introduction d'une nouvelle variable dans l'analyse.

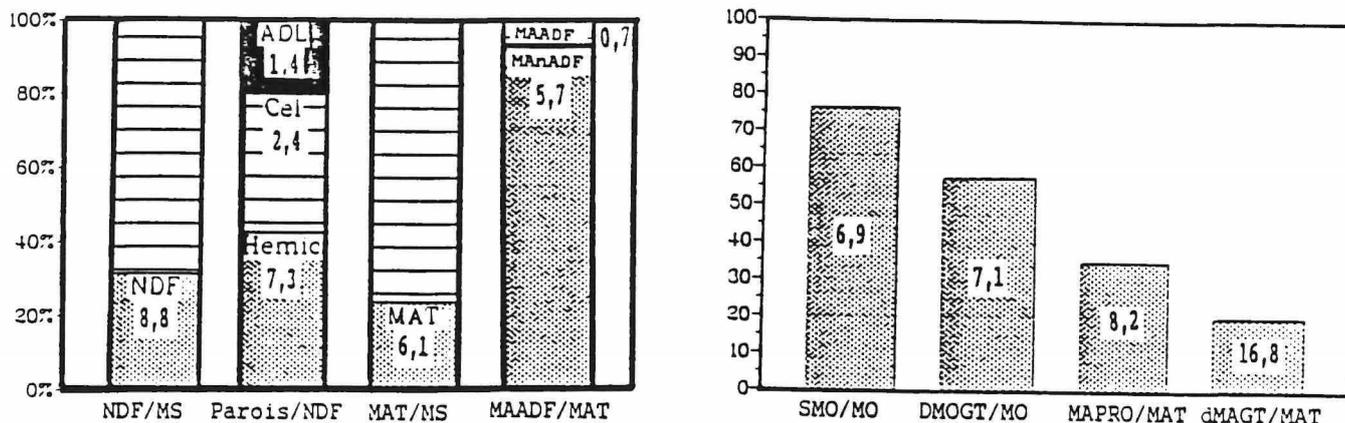
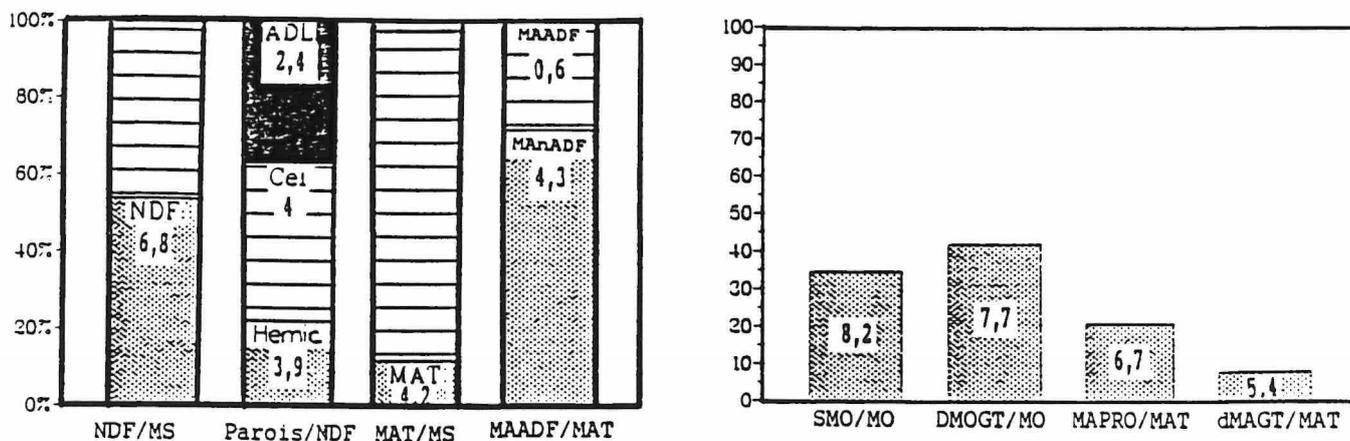
Pour les légumineuses, les moyennes de DMOGT (n=226) et SMO (n=122) ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$), alors que dMAGT (n=48) est significativement inférieure en moyenne à MAPRO (n=49). Pour les non-légumineuses, DMOGT (n=446) et dMAGT (n=45) sont toutes deux significativement inférieures ($p < 0,05$) en moyenne à SMO (n=259) et MAPRO (n=46) respectivement.

3.2.2. Variations par espèce : étude de quelques espèces particulières (les espèces de légumineuses sont signalées par *)

L'étude des teneurs moyennes et de leurs variations pour quelques espèces illustre la diversité chimique des feuilles de ligneux tropicaux.

³MANADF = MAT-MAADF (matière azotée non liée à l'ADF).

a) Composition moyenne par espèce

Figure 4 - Composition moyenne et écarts types des feuilles d'*Acacia senegal**Figure 5 - Composition moyenne et écarts types des feuilles de *Daniellia oliveri**

Pour l'*Acacia senegal**, la supériorité par rapport à la moyenne générale (significatif à $p < 0,05$) de SMO, DMOGT, MAPRO, et dMAGT s'explique par de faibles teneurs en NDF, et surtout en ADL et MAADF. Comparé à *Balanites aegyptiaca* et *Salvadora persica*, l'*Acacia senegal** possède significativement plus de MAT, et une teneur en MAADF non significativement différente ($p < 0,05$), pourtant MAPRO et dMAGT sont significativement plus faibles. Or, c'est la seule espèce possédant des tanins parmi les trois. La disponibilité de l'azote serait donc relativement indépendante de la MAT, et serait plutôt liée à la présence ou non de facteurs antinutritionnels (tanins ou lignine).

Pour d'autres espèces, on observe des dégradabilités et une digestibilité significativement inférieures à la moyenne du fichier ($p < 0,05$). Par exemple, pour *Daniellia oliveri** les teneurs élevées en NDF, ADL et MAADF expliqueraient les faibles SMO, DMOGT, MAPRO et dMAGT.

b) Variations des compositions, des dégradabilités et de la digestibilité, étude des écarts types (=ET) des échantillons

Tableau 3 - Pourcentage d'espèces n'ayant pas de variations (ET<1), ou ayant des variations faibles (1<ET<3), moyennes (3<ET<5), fortes (5<ET<7), ou très fortes (ET>7) pour les critères mesurés (19 espèces sauf pour MAGT : 9 espèces)

	ET<1	1<ET<3	3<ET<5	5<ET<7	ET>7
NDF %MS	-	10	47	26	16
ADF %MS	-	21	37	21	21
ADL %MS	11	37	21	31	-
MAT %MS	11	52	26	11	-
MAADF %MS	50	42	-	-	-
MANADF %MS	5	53	31	11	-
MAPRO %MS	50	26	11	5	-
MAGT %MS	56	11	22	11	-
SMO %MO	-	11	37	21	31
DMOGT %MO	-	26	35	26	16

Tableau 4 - Variations des critères pour quelques espèces

Espèces (nombre d'échantillons)	N D P	A D P	A D L	M A T	M A D F	M A n A D F	M A P R O	S M O	D M O G T
<i>Hyphaene thebaica</i> (8)	**	**	*	*	-	*	-	***	*
<i>Pericopsis laxiflora</i> * (6)	*	*	*	*	-	*	-	*	*
<i>Parinari curatellifolia</i> (11)	**	**	**	-	*	*	-	**	*
<i>Parkia biglobosa</i> * (6)	**	**	**	*	-	*	-	**	*
<i>Boscia senegalensis</i> (17)	***	*	-	**	-	**	**	***	*
<i>Salvadora persica</i> (13)	*	*	-	*	-	*	*	**	**
<i>Balanites aegyptiaca</i> (11)	**	**	*	***	-	***	***	**	**
<i>Spondias mombin</i> (9)	**	**	*	-	-	-	-	**	**
<i>Morinda lucida</i> (7)	**	**	**	*	*	*	-	***	**
<i>Azelia africana</i> * (6)	**	*	*	**	-	**	-	*	**
<i>Piliostigma thonningii</i> * (8)	***	***	**	*	*	*	-	**	**
<i>Ficus sycomorus</i> (14)	***	****	***	*	*	*	-	****	***
<i>Ziziphus mauritania</i> (9)	****	****	***	**	*	**	*	****	***
<i>Ficus sur forsk</i> (12)	**	***	***	*	*	*	*	**	***
<i>Guiera senegalensis</i> (7)	***	****	***	**	-	**	-	****	***
<i>Acacia sénegal</i> * (7)	****	**	*	***	-	***	**	***	****
<i>Daniellia oliveri</i> * (15)	***	***	*	**	-	**	*	****	****
<i>Acacia nilotica</i> * (6)	****	****	***	*	*	*	-	****	***
<i>Pterocarpus erinaceus</i> * (14)	**	***	***	*	*	**	*	****	****

- : ET<1 * : 1<ET<3 ** : 3<ET<5 *** : 5<ET<7 **** : ET>7

Les espèces notées par* appartiennent au groupe des légumineuses, les autres appartiennent au groupe des non-légumineuses. Critères en %MS, sauf SMO et DMOGT en %MO

Les teneurs en NDF, ADF et ADL, SMO et DMOGT varient fortement pour quasiment toutes les espèces étudiées. Au contraire, les variations des teneurs en MAT, MAADF, MAnADF, et MAPRO, sont généralement plus faibles. Les variations concernant les teneurs en fractions azotées n'induisent pas systématiquement des variations de MAPRO.

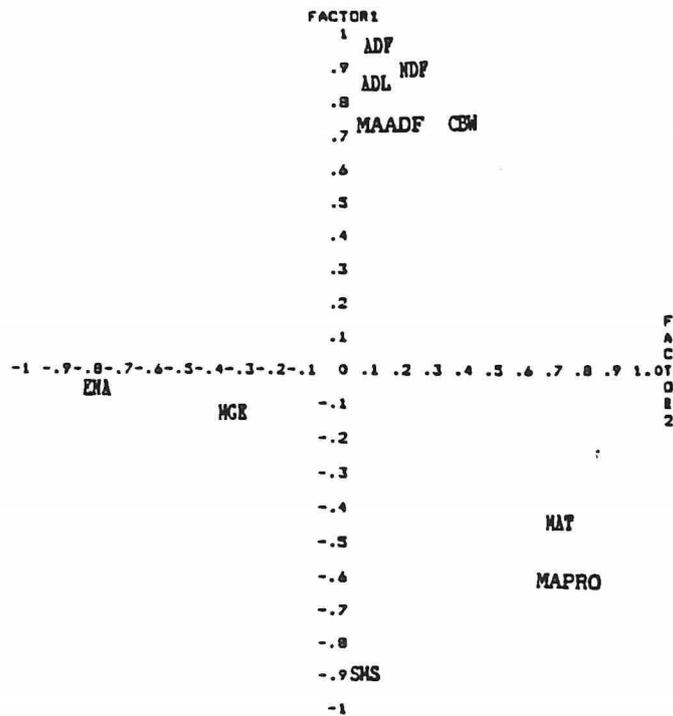
3.3. Liaisons entre variables

3.3.1. Analyse en composantes principales (sur 323 échantillons de feuilles, variables exprimées en p.100 MS)

Les teneurs en NDF, ADF, ADL et MAADF sont corrélées, et s'opposent à la SMS. Les teneurs en CBW, MAnADF, ENA, MAPRO et MGE sont mal représentées.

La contribution des deux axes principaux à la variation totale devient de 84 p.100 lorsque les variables retenues pour représenter la population sont réduites à NDF, ADF, ADL, MAADF, SMS et MAPRO (variables proches du cercle des corrélations).

Figure 6 - Cercle des corrélations (contribution des deux axes principaux à la variation totale = 70 p.100)



3.3.2. Coefficients de corrélation entre variables caractérisant les légumineuses et les non-légumineuses

Tableau 5 - Matrice de corrélations pour toutes les feuilles (F), les légumineuses (L) et les non-légumineuses (A)

R		ADF	ADL	MAT	MAADF	MANADF	SMS	MAPRO	DMOGT	MAGT	TANPT
NDF	F	0.88	0.69	-0.26	0.50	-0.42	-0.83	-0.39	-0.60	-0.39	ns
	L	0.92	0.77	-0.42	0.58	-0.57	-0.79	-0.47	-0.56	-0.35	ns
	A	0.86	0.62	-0.45	0.43	-0.36	-0.85	-0.35	-0.63	-0.49	ns
ADF	F	1.00	0.85	-0.37	0.69	-0.57	-0.84	-0.47	-0.64	-0.33	ns
	L	1.00	0.92	-0.52	0.72	-0.69	-0.88	-0.51	-0.68	-0.39	ns
	A	1.00	0.81	-0.36	0.65	-0.52	-0.82	-0.45	-0.63	-0.34	0.19
ADL	F		1.00	-0.27	0.80	-0.50	-0.74	-0.41	-0.61	-0.35	0.17
	L		1.00	-0.51	0.82	-0.72	-0.87	-0.54	-0.74	-0.46	ns
	A		1.00	-0.19	0.76	-0.43	-0.66	-0.35	-0.57	ns	0.23
MAT	F			1.00	-0.09	0.95	0.44	0.75	0.47	0.63	-0.36
	L			1.00	-0.25	0.96	0.60	0.78	0.60	0.60	-0.33
	A			1.00	ns	0.95	0.45	0.78	0.48	0.72	-0.44
MAADF	F				1.00	-0.39	-0.56	-0.38	-0.40	-0.27	ns
	L				1.00	-0.52	-0.72	-0.42	-0.55	-0.36	ns
	A				1.00	-0.36	-0.46	-0.37	-0.30	ns	ns
MANADF	F					1.00	0.59	0.83	0.51	0.69	-0.36
	L					1.00	0.76	0.84	0.69	0.66	-0.34
	A					1.00	0.56	0.86	0.48	0.78	-0.42
SMS	F						1.00	0.54	0.83	0.60	-0.36
	L						1.00	0.63	0.79	0.60	ns
	A						1.00	0.51	0.84	0.63	-0.47
MAPRO	F							1.00	0.50	0.75	-0.37
	L							1.00	0.58	0.72	-0.40
	A							1.00	0.47	0.79	-0.35
DMOGT	F								1.00	0.67	-0.49
	L								1.00	0.67	-0.37
	A								1.00	0.68	-0.56
MAGT	F									1.00	-0.47
	L									1.00	-0.42
	A									1.00	-0.55

R (coefficient de corrélation) significatif au seuil de 5% sauf ns.

unités : %MS sauf DMOGT en %MO

nombre d'échantillons :

Feuilles: n=80 à 855, légumineuses: n=39 à 453, non-légumineuses: n=41 à 588

D'une façon générale, les liaisons entre les critères chimiques, les dégradabilités enzymatiques et la DMOGT sont plus étroites pour les légumineuses que pour les autres familles (sauf pour quelques valeurs, voir tableau 5). La corrélation SMS/TANPT est significative uniquement pour les non-légumineuses ($R=-0,47$). La SMS et la DMOGT sont corrélées entre elles et le sont négativement avec l'ADF et l'ADL pour les légumineuses. Pour les autres familles, la liaison est plus étroite avec le NDF.

3.3.3. Corrélations de la DMOGT de quelques espèces avec les paramètres chimiques et enzymatiques, et forme de la liaison avec la SMO

a) Coefficients de corrélation

Tableau 6 - Coefficients de corrélation (R significatif au seuil de 5 p.100) entre la DMOGT et les paramètres chimiques et enzymatiques

	NDF	ADF	ADL	CBW	MAT	MANADF	SMO
<i>Ficus sycomorus</i> (14)					0,72	0,71	0,54
<i>Guiera senegalensis</i> (7)	-0,90	-0,84	-0,78	-0,93	0,85	0,80	0,90
<i>Daniellia oliveri</i> * (15)					0,98	0,97	0,89
<i>Pterocarpus erinaceus</i> * (14)		-0,87	-0,82		0,62	0,88	0,95
<i>Morinda lucida</i> (7)		-0,91	-0,78				0,86

Les corrélations varient selon les espèces. Généralement, la DMOGT est corrélée avec la SMO, la MAT et MANADF de façon positive, et avec les différentes fractions pariétales de façon négative.

b) Forme de la liaison

Pour les légumineuses, il n'y a pas de liaison linéaire. Ceci est dû à la famille des Mimosacées* et, plus particulièrement, à deux espèces : *Acacia senegal** et *Acacia nilotica**.

Certaines familles comme les Moracées, les Caesalpiniacées* ou les Fabacées* présentent une liaison linéaire positive DMOGT/SMO. Pour certaines espèces appartenant à la même famille, la forme de la liaison est semblable, c'est le cas par exemple pour les trois espèces de Caesalpiniacées*.

La répartition des points par espèce permet également de visualiser les espèces pour lesquelles la DMOGT et la SMO varient peu (*Salvadora persica*...). Pour ces espèces, la moyenne des DMOGT sera une estimation acceptable de la valeur nutritive.

Figure 7 - DMOGT = f (SMO), légumineuses

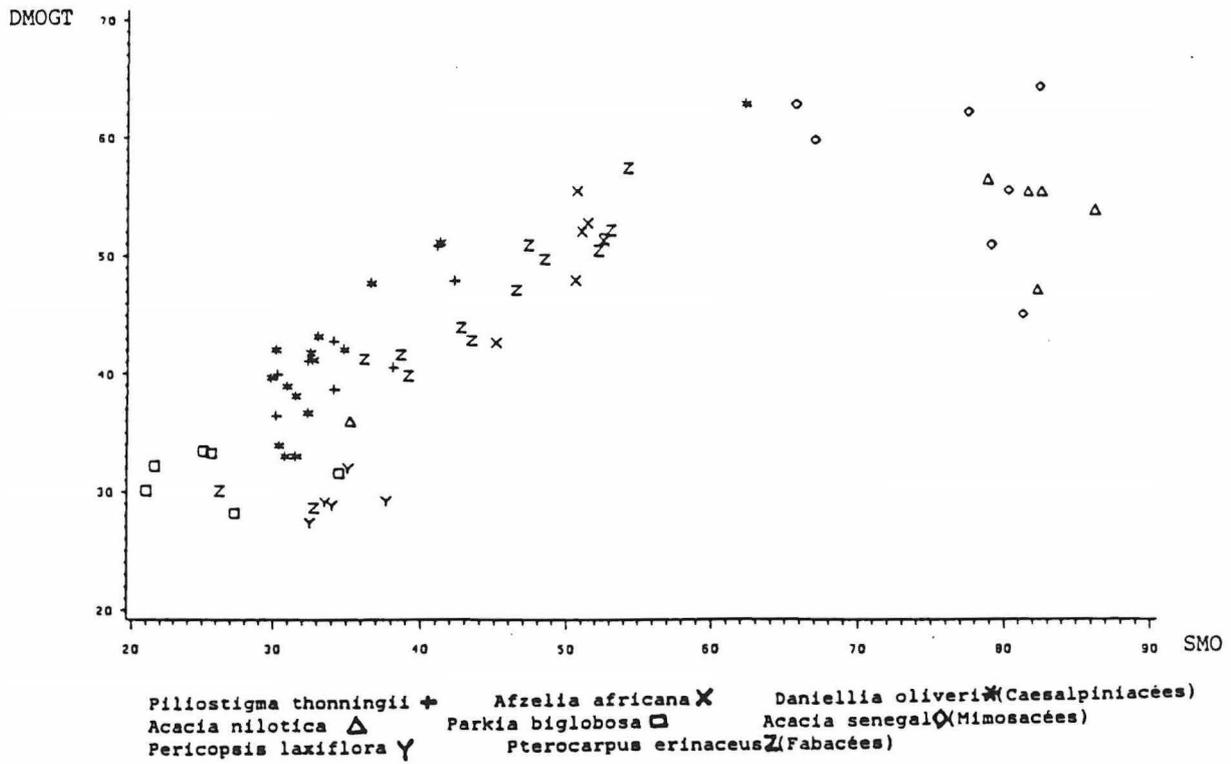
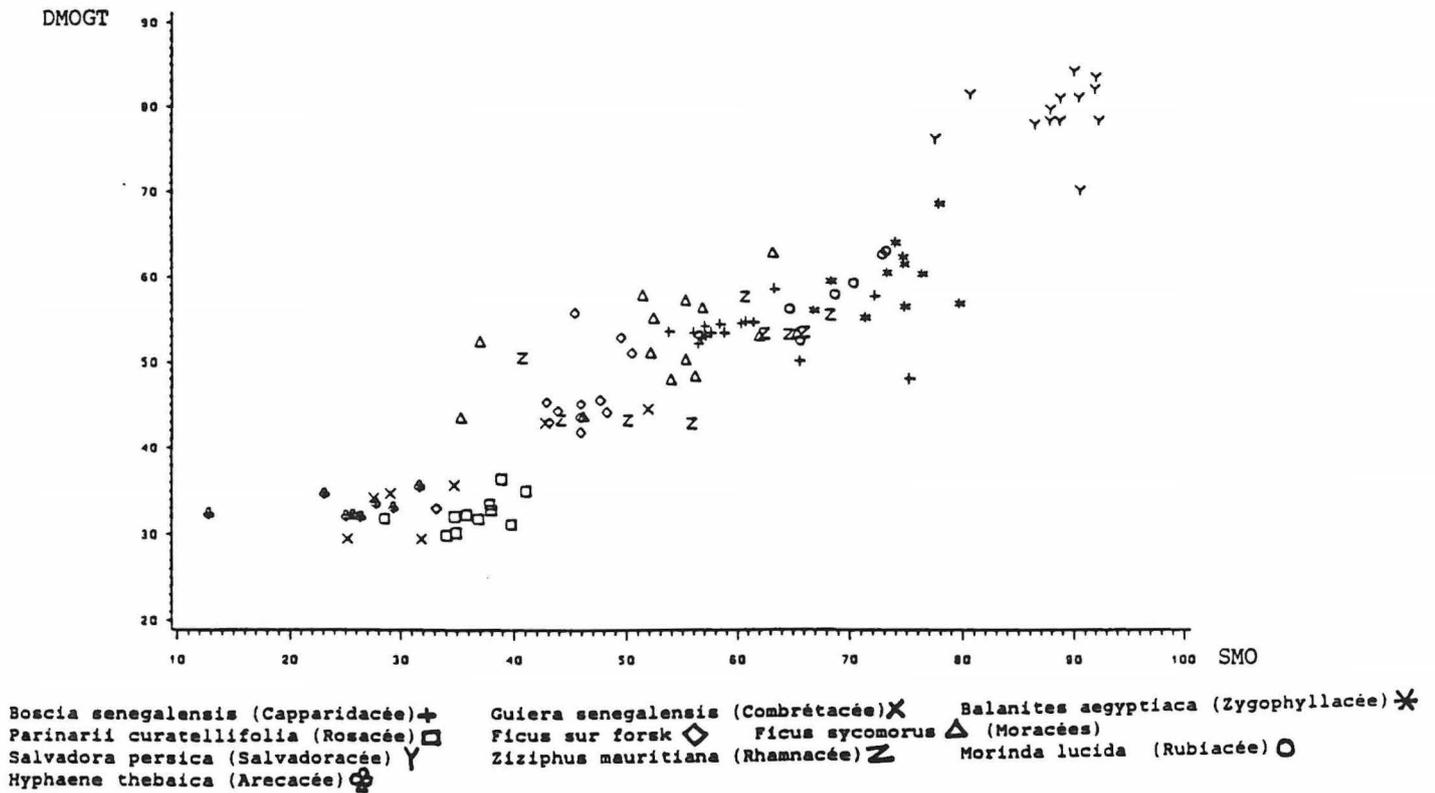


Figure 8 - DMOGT = f (SMO), non légumineuses



3.4. Constitution de groupes

3.4.1. Analyse en composantes principales

L'ACP sur les échantillons de feuilles n'a pas permis d'identifier des groupes distincts.

3.4.2. Classification hiérarchique et formation de groupes (échantillons de feuilles)

D'après les résultats de l'ACP, les variables retenues pour définir les groupes sont : NDF, ADF, ADL, MAADF, SMS et MAPRO.

Le choix de deux groupes a été décidé au vu des résultats de la classification hiérarchique. Le groupe 1 est caractérisé par de faibles teneurs en parois totales et en fractions pariétales, et par de fortes dégradabilités enzymatiques. Le groupe 2 présente les caractéristiques inverses (tableau 7).

3.4.3. D'après une ACP sur les données spectrales

L'ACP a permis d'identifier 4 groupes distincts formés par le regroupement d'échantillons (quel que soit l'organe) spectralement proches (sur la base de la distance généralisée de Mahalanobis) des espèces sélectionnées au départ :

Groupe 1 NIR = *Ficus sycomorus*, *Daniellia oliveri*, *Ziziphus mauritania* + échantillons spectralement proches
 Groupe 2 NIR = *Boscia senegalensis* + échantillons spectralement proches
 Groupe 3 NIR = *Acacia senegal*, *Balanites aegyptiaca* + échantillons spectralement proches
 Groupe 4 NIR = *Salvadora persica* + échantillons spectralement proches.

Tableau 7 - Teneurs moyennes (et écarts types) des groupes formés par classification hiérarchique (en p.100 MS)

	NDF	ADF	ADL	MAADF	SMS	MAPRO
Groupe 1 (113)	33,8 (8,6)	23,7 (6,6)	8,9 (3,9)	1,7 (1,3)	71,8 (13,1)	6,1 (4,2)
Groupe 2 (138)	54,1 (7,4)	42,8 (7,3)	18,9 (5,9)	3,7 (1,7)	41,5 (8,9)	2,6 (1,3)

3.5. Liaisons entre les valeurs mesurées par le gaz test et les résultats des analyses chimiques, enzymatiques, *in sacco* et *in vivo*

3.5.1. Prédiction de la DMOGT à partir des analyses chimiques et enzymatiques

La formation de groupes permet d'améliorer la qualité des équations de prévision de la DMOGT. Le regroupement basé sur la distinction légumineuses/non-légumineuses est meilleur que celui réalisé par classification automatique.

Le regroupement basé sur les données spectrales donne des résultats intéressants, notamment pour le groupe 2 NIR (*Boscia senegalensis* et échantillons spectralement apparentés).

Les prédictions par famille ne sont pas toutes bonnes. Les équations de prédiction sont meilleures lorsqu'elles sont réalisées par espèces.

Tableau 8 - Prédiction de la DMOGT (échantillons de feuilles sauf pour groupes NIR où il y a des échantillons de feuilles, fruits et tiges)

Echantillons (nb d'observations)	DMOGT %MO moyenne (ET)	Equations de régression DMO= (en %MO)	R ²	ETR
Feuilles (335)	48,3 (12,4)	0,63SMO+0,28NDF+0,32MAT	0,74	6,39
Légumineuses (77)	40,9 (8,5)	0,71SMO+0,15NDF	0,81	3,79
Non-légumineuses (117)	51,2 (13,7)	0,85SMO+0,47Cel	0,89	4,58
Groupe 1 (113)	56,6 (11,0)	23,71+0,47SMO+0,42MAPRO-0,65MGE	0,50	7,89
Groupe 2 (138)	40,4 (8,2)	-24,77+0,87SMO+0,76NDF-0,42CBW	0,72	4,39
Groupe 1 NIR (88)	44,3 (8,3)	20,26+0,29SMO- 0,32CBW+0,57Cel+0,59MANADF	0,71	4,62
Groupe 2 NIR (18)	52,8 (5,6)	26,01+0,31SMO+0,85NPRO	0,91	1,76
Groupe 3 NIR (47)	57,4 (6,0)	39,82+0,29SMO+0,92MAPRO-0,54MANADF	0,57	4,09
Groupe 4 NIR (13)	75,3 (8,1)	82,89-0,83ADL	0,71	3,51
Mimosacées* (44)	47,1 (9,9)	24,59+0,40SMO	0,66	6,68
Anacardiacées (16)	45,9 (4,4)	43,18+0,23SMO-0,45Cel	0,62	2,78
Moracées (28)	52,2 (8,3)	0,45SMO+0,75Cel	0,77	3,69
Caesalpiniacées* (35)	43,0 (6,6)	0,59SMO+0,48NDF-0,34CBW+0,43MANADF	0,87	2,80
Fabacées* (25)	48,1 (13,0)	1,11SMO+0,38Cel-1,39MAPRO	0,91	3,09
Ficus sur forsk (12)	45,4 (5,8)	0,96SMO	0,55	4,08
Boscia senegalensis (16)	53,6 (2,5)	38,91+0,45SMO-0,92MAPRO	0,56	1,74
Spondias mombin (9)	48,2 (3,9)	70,51-0,67ADF	0,73	2,19
Ziziphus mauritania (9)	50,3 (5,7)	39,09+0,51SMO-1,59Hemic	0,77	3,18
Piliostigma thonningii* (8)	42,4 (4,8)	64,62-0,77CBW	0,79	2,39
Parkia biglobosa* (6)	31,5 (2,0)	25,03+0,66Hemic	0,80	1,01
Ficus sycomorus (14)	52,4 (5,4)	0,37SMO+0,42Cel+1,16MAT	0,85	2,39
Gulera senegalensis (9)	35,8 (5,9)	65,26-1,08CBW	0,79	2,65
Acacia nilotica* (11)	50,9 (8,0)	2,82MANADF	0,65	4,37
Pterocarpus erinaceus* (14)	44,9 (8,3)	0,93SMO	0,91	2,61
Daniellia oliveri* (18)	41,8 (7,7)	19,91+1,72MAT	0,93	1,86
Morinda lucida (10)	57,7 (4,1)	94,33-0,79ADF-2,03MAPRO	0,93	1,29

3.5.2. Prédiction de la MAGT à partir des analyses chimiques et enzymatiques

L'équation de prédiction pour la famille des Fabacées est bonne. Les équations de prédiction par espèce sont peu précises.

Tableau 9 - Prédiction de MAGT en p.100 MS (échantillons de feuilles)

échantillons (nb d'observations)	MAGT %MS moyenne (ET)	Equation de regression MAGT= (en %MS)	R ²	ETR
Feuilles (84)	2,4 (3,3)	$-1,99+0,04SMS+0,021MANADF-0,24TANPT$	0,51	1,8
Légumineuses (41)	2,4 (3,1)	$-7,14+0,35MANADF+0,43MGE+0,16CEL$	0,53	1,9
Non-légumineuses (43)	2,5 (3,4)	$0,38MANADF-0,08ENA-0,16HEMIC$	0,70	1,4
Mimosacées (18)	2,7 (3,0)	$0,74MAPRO+0,45MGE$	0,58	2,1
Caesalpiniciacées (12)	1,1 (1,4)	$-6,21+0,28MANADF+0,09NDF$	0,81	0,7
Combrétacées (16)	0,3 (0,3)	$1,28-0,05NDF+0,06CEL$	0,55	0,4
Moracées (13)	2,1 (2,1)	$-2,96+0,46MANADF$	0,77	1,0
Fabacées (11)	3,1 (4,1)	$-17,34+0,30SMS+1,50MAPRO$	0,92	0,8
Ficus sycomorus (10)	0,6 (0,4)	$-1,01+0,11MAT+0,05ADL$	0,75	0,1
Pterocarpus erinaceus (6)	3,4 (3,0)	$-16+0,39SMS$	0,84	1,3
Daniellia oliveri (7)	0,8 (0,8)	$-1,75+0,38MANADF$	0,86	0,4

3.5.3. Liaison entre les résultats du gaz test, les dégradabilités enzymatiques et les mesures *in sacco* et *in vivo*

a) Mesures *in sacco* (dégradabilité théorique de la MS et de la MA)

Une équation de prédiction significative ($p < 0,05$) mais peu précise de la DTMA mesuré *in sacco* à partir de la MAPRO a pu être établie pour 21 échantillons de feuilles :

$$DTMA = 39,11 + 0,47 \text{ MAPRO } R^2 = 0,22 \text{ ETR} = 18,2 \text{ en p.100 MAT.}$$

Les corrélations entre, d'une part SMS et DTMS (n=5 échantillons d'espèces différentes) et, d'autre part, DTMS et DTMA mesurés *in sacco* et DMOGT (n=8) et dMAGT (n=13) respectivement ne sont pas significatives à 5 p.100.

b) Mesures *in vivo*

La corrélation entre SMO et DMO *in vivo* n'est pas significative (n=33).

Une équation de prédiction significative ($p < 0,05$) mais peu précise de la DMO *in vivo* à partir de DMOGT pour 30 échantillons a pu être établie :

$$DMO \text{ in vivo} = 19,85 + 0,69 \text{ DMOGT } R^2 = 0,50 \text{ ETR} = 6,10 \text{ en p.100 MO.}$$

3.6. Prédiction par la spectrométrie dans le proche infrarouge

D'après les normes d'appréciation du rapport ET1/ETRp, l'équation de calibration est bonne pour la DMOGT (ET1/ETRp>3) et mauvaise pour dMAGT.

Pour les autres paramètres, les équations de calibrations sont fiables seulement pour la MO, CBW, NDF, ADF, Cel, MAT, SMS.

Tableau 10 - Qualité des équations de prédiction NIR (quel que soit l'organe)

	N	R ² v	ET1/ETRp	ET labo
MO	869	0.93	4.08	6.17
MGE	743	0.85	2.89	2.52
CBW	658	0.93	4.47	8.29
NDF	556	0.89	3.33	12.65
ADF	555	0.87	3.16	11.80
ADL	556	0.77	2.36	7.49
HEMIC	560	0.54	1.72	5.91
CELL	548	0.93	4.08	6.45
MAT	871	0.95	4.47	5.56
MAADF	513	0.72	2.13	16.61
TAN	147	0.37	2.35	2.24
MAPRO	456	0.80	2.43	3.33
SMS	403	0.89	3.54	18.90
DMOGT %MO	455	0.88	3.33	12.36
MAGT %MS	56	0.58	2.88	3.25

N = nombre d'observations

R²v = coefficient de détermination de validation

ET1/ETRp = écart type de la population (données de laboratoires)/écart type résiduel de la prédiction.

4. DISCUSSION

4.1. Valeur nutritive des feuilles de ligneux tropicaux

Les teneurs en parois totales sont inférieures en moyenne à celles des fourrages herbacés, mais les teneurs en lignine et en matières azotées totales sont supérieures. Ceci est conforme aux précédentes études (16, 24, 29).

Les variations importantes des teneurs en parois se répercutent sur la dégradabilité pepsine-cellulase, plus variable pour les ligneux (18 p.100<SMS<98 p.100) que pour les herbacées tropicales (30<SMS<65 p.100 (24)). L'amplitude des variations de la dégradabilité enzymatique

ou de la digestibilité *in vitro* (25<DMOGT<84 p.100 MO) de la matière organique est aussi plus grande que celle de la disponibilité de l'azote mesurée par les mêmes groupes de méthodes (0,2<MAPRO<23 p.100 MS ; 0<dMAGT<67 p.100 MAT) : ces dernières sont plus dépendantes de la teneur en azote non lié aux parois que de la teneur en azote total.

Finalement, comme l'ont déjà noté certains auteurs (29, 37), la disponibilité de la MA est en moyenne plus faible que celles des herbacées, et relativement stable. Les variations de la valeur nutritive des feuilles de ligneux tropicaux seraient plutôt déterminées par leur disponibilité en glucides fermentescibles, donc par leur valeur énergétique.

Les légumineuses se différencient des non légumineuses par leur plus fortes teneurs en parois totales qui sont aussi plus lignifiées. Leur valeur nutritive - estimée par le gaz test et par les tests enzymatiques - est donc inférieure. Bien qu'ayant les mêmes teneurs en matières azotées totales (MAT = 14 p.100 MS), les teneurs en azote disponible des légumineuses sont plus faibles. Ceci s'explique par une plus grande proportion de l'azote lié aux parois, mais pas par les teneurs en tanins précipitants qui sont en moyenne proches pour les deux classes (TANPT = 2 p.100 MS).

Une **famille** comme les Caesalpiniacées présente une certaine homogénéité chimique, sa valeur alimentaire mesurée par le gaz test est relativement plus faible que celle d'autres familles. Au contraire, les Moracées auraient en moyenne une bonne valeur nutritive, tant énergétique qu'azotée. Mais, pour toutes les familles, on note une assez grande variabilité.

D'après les analyses enzymatiques et le gaz test, certaines **espèces** sont des compléments alimentaires de bonne qualité (par exemple *Acacia senegal**, *Salvadora persica*, *Balanites aegyptiaca*, ou *Morinda lucida*). Des espèces telles que *Parkia biglobosa** ou *Daniellia oliveri** ont une disponibilité en matière organique digestible et en azote digestible plus faible.

Différents facteurs peuvent être responsables des **variations intraspécifiques** : des facteurs géographiques, climatiques, édaphiques, et phénologiques. Des études réalisées sur des échantillons prélevés dans plusieurs zones du Tchad et à différentes saisons ont mis en évidence l'influence du site de prélèvement ou de la saison sur les paramètres chimiques et enzymatiques. Par exemple, pour *Boscia senegalensis*, l'effet du site de prélèvement est significatif pour l'azote total et sa dégradabilité par la pronase; l'effet de la saison pour l'azote total, la lignocellulose et les dégradabilités enzymatiques est également significatif. Pour *Salvadora persica*, espèce dont les teneurs et les dégradabilités enzymatiques sont relativement stables, il existe tout de même un effet saison sur la DMOGT (54).

4.2. Comparaison des méthodes d'analyses enzymatiques et du gaz test

Plus proche des conditions physiologiques que les mesures de dégradabilités enzymatiques, les estimations de la digestibilité de la matière organique et de la dégradabilité de l'azote mesurées par le gaz test sont probablement plus fiables.

Les standards utilisés pour mesurer la digestibilité de la matière organique par le gaz test couvrent des digestibilités de 30 à 92 p.100 de la MO (40). La digestibilité des feuilles de ligneux est comprise dans cette fourchette. Cependant, pour certaines espèces (*Salvadora persica* par exemple : SMO = 88 p.100 MO et DMOGT = 79 p.100 MO), il y a probablement une surestimation de la SMO et de la DMOGT, du fait de l'utilisation de fourrages tempérés comme références.

Les techniques enzymatiques et le gaz test sont étroitement corrélées. Mais, généralement, les valeurs mesurées par le gaz test sont inférieures à celles mesurées par les techniques enzymatiques.

Le pH plus acide (pepsine cellulase : pH = 4,6) ou plus basique (pronase: pH = 8) pour les tests enzymatiques que pour le gaz-test (pH = 6,5) pourrait avoir un effet destructeur des substances antinutritionnelles (surtout les tanins). L'influence du pH sur la formation des complexes tanins-protéines a déjà été mise en évidence : le pH optimal pour la formation des complexes tanins-protéines serait compris entre 3 et 7 en fonction de la nature des tanins (hydrolysables ou condensés) (30). La technique de mesure de la dégradabilité par la pronase pourrait donc effectivement entraîner une dissociation des complexes tanins-protéines, d'où une augmentation de la dégradabilité de la matière azotée. En revanche, les complexes tanins-protéines ne seraient pas dissociés lors des mesures de dégradabilité pepsine cellulase et de digestibilité de la matière organique mesurée par le gaz test.

Par rapport aux enzymes (pepsine cellulase, pronase), les microorganismes du rumen pourraient avoir, soit une activité plus faible, peut-être liée à la dilution du liquide ruminal, soit une sensibilité supérieure à des facteurs antinutritionnels. Toutefois, les écarts entre les résultats obtenus par les deux méthodes varient suivant les groupes botaniques : ils sont faibles pour les légumineuses, plus importants pour les autres familles, alors que les premières contiennent plus de lignine et une plus grande part d'azote lié aux parois, et que les deux classes ne se distinguent pas pour leurs teneurs en tanins précipitants. La structure chimique des tanins pourrait donc être différente dans les deux groupes (degré de polymérisation des tanins et/ou degré de complexation des tanins avec les sucres et les protéines différents), ce qui pourrait être révélé par des méthodes plus fines de détermination des tanins.

Pour la dégradabilité pepsine cellulase, les tanins auraient un effet inhibiteur significatif seulement pour le groupe des non-légumineuses. Ceci confirmerait l'hypothèse de la variabilité chimique des tanins entre les légumineuses et les non-légumineuses.

4.3. Prédiction de la valeur nutritive estimée par le gaz test

Faute d'un nombre suffisant de mesures *in vivo*, le gaz test a été provisoirement retenu comme méthode de référence.

4.3.1. Prédiction de la DMOGT

Les équations de prédiction de la DMOGT par groupe botanique (**légumineuses versus non légumineuses**) sont généralement insuffisamment précises (ETR#4). Les équations de régression établies par groupe et par espèce montrent que les variables indépendantes ne sont pas toujours les mêmes.

Les tanins précipitants et la DMOGT sont liés négativement, ceci est en accord avec des études précédentes (30). Cette liaison négative est plus forte pour les non légumineuses, ce qui confirmerait l'hypothèse d'une différence de structure chimique de ce composé entre les deux groupes.

Le regroupement par **familles botaniques** est parfois satisfaisant. La prédiction est assez précise pour les Fabacées ($R^2 = 0,91$ ETR = 3,1). Mais, pour les Mimosacées*, la faible précision de la prédiction ($R^2 = 0,66$ ETR = 6,7) impose une étude par espèces.

Les équations de régression sont satisfaisantes pour des espèces telles que *Daniellia oliveri** ou *Morinda lucida*. Cependant, pour cette dernière, les échantillons ayant la même origine géographique, la validité des équations devra être testée avec des fourrages d'origine différente. Pour *Daniellia oliveri**, 18 ont été prélevés au Cameroun et au Tchad sur plusieurs années ; l'équation de prédiction de la DMOGT est donc probablement généralisable à d'autres échantillons de feuilles appartenant à cette espèce. Pour *Ficus sycomorus*, l'équation de régression est peu précise. Or, contrairement à ce qui est habituellement observé, les teneurs en tanins ont fortement variées suivant l'origine géographique. Il y a donc peut-être eu des erreurs d'identification.

Pour des espèces dont les caractéristiques chimiques et enzymatiques sont relativement stables comme *Salvadora persica*, la moyenne de DMOGT peut être utilisée comme prédicteur, tout en tenant compte de l'effet saison. Mais la majorité des échantillons étudiés provenant du Tchad, il faudra confirmer ces résultats avec des échantillons de provenance géographique différente.

4.3.2. Prédiction de la dMAGT

La diminution de la dégradabilité de l'azote en présence de tanins - déjà notée par certains auteurs (26, 30) - est plus forte pour les mesures par le gaz test que celles par la pronase. De plus, la liaison négative entre la teneur en tanins et la dMAGT est plus forte pour le groupe des non-légumineuses.

La prédiction de la dMAGT pour le groupe des non-légumineuses est plus précise que pour les légumineuses considérées dans leur ensemble.

Pour les Fabacées*, l'équation de prédiction de la dMAGT est satisfaisante ($R^2 = 0,92$ ETR = 0,8). L'homogénéité chimique de cette famille permettrait donc d'appliquer des équations de prédiction générales aux diverses espèces qui la composent, tant pour la prévision de la DMOGT que pour celle de la dMAGT.

Pour les Mimosacées*, la prédiction de la dMAGT est aussi mauvaise que celle de la DMOGT ($R^2 = 0,33$, ETR = 2,6). Or, leur teneur en tanins est plus importante que pour les Fabacées (TANPT = 3,3 p.100 MS contre 0,8 p.100 MS pour les Fabacées). La difficulté de caractérisation de ces composés chimiques complexes (et de leurs effets) et/ou les variations inter-spécifiques de leurs structures chimiques pourraient expliquer les problèmes de prédiction de la valeur alimentaire à l'intérieur de cette famille.

Les prédictions de dMAGT espèce par espèce sont peu précises, probablement en raison de la faiblesse des effectifs.

4.3.3. Prédiction de la DMOGT et de la dMAGT par la spectrométrie dans le proche infrarouge

La prédiction de la DMOGT par le NIR est bonne (ETI/ETRp = 3,3) et pourrait donc avantageusement remplacer le gaz test (gain de temps, simplicité de la méthode).

Pour dMAGT, la calibration est mauvaise (ETI/ETRp = 2,8), ceci peut être lié à plusieurs problèmes :

- faible effectif de la population de calibration ;
- existence d'interférences accidentelles comme le séchage (réaction de Maillard,...) ;
- influence de la provenance des échantillons ;
- problème au niveau de la précision ou de la répétabilité de la technique de laboratoire ;
- existence de facteurs antinutritionnels de structure chimique complexe influant sur le spectre.

4.3.4. Relations entre les mesures *in vivo* et *in sacco* et les résultats obtenus au laboratoire

Peu de résultats obtenus *in vivo* et *in sacco* sont actuellement disponibles. Nous avons cependant tenté d'examiner les relations entre ces mesures et celles effectuées au laboratoire.

Les liaisons entre, d'une part la DMOGT et la DMO mesurée *in vivo* et d'autre part, la SMO et la DMO *in vivo* sont lâches. La DMO *in vivo* des ligneux est calculée par différence à partir d'une ration composée, les phénomènes d'interactions digestives entre les différents constituants de la ration ne sont donc pas pris en compte. Afin de

comparer plus précisément la DMO *in vivo* avec la DMOGT et la SMO, il serait nécessaire de tester des échantillons constitués du même mélange et dans les mêmes proportions que les rations testées *in vivo*.

L'absence de corrélation significative entre la dMAGT, les mesures *in sacco* et *in vivo*, et la très faible précision de la liaison entre MAPRO et DTMA (mesure *in sacco*) sont probablement liées d'une part au faible effectif d'échantillons appartenant à des espèces différentes et, d'autre part, à la différence de nature des échantillons testés *in vivo* (rations composées) et *in vitro* (ligneux seuls).

CONCLUSION

Les variations inter et intraspécifiques de la valeur nutritive des feuilles d'arbres et arbustes fourragers sont - comme pour d'autres fourrages - principalement liées à leurs teneurs en parois et à leur digestibilité dépendant de leur composition. D'autres facteurs sont plus particuliers aux ligneux : il s'agit de leurs teneurs généralement élevées en lignines, de la distribution des matières azotées partiellement bloquées au niveau des parois indigestibles et de la présence de facteurs antinutritionnels, principalement regroupés sous le terme générique de tanins. Les écarts entre les effets de ces facteurs suivant l'origine botanique des échantillons (légumineuses vs non légumineuses, famille, espèce) semblent être liés aux différences de structures chimiques particulièrement complexes pour les lignines et les tanins.

Cette diversité chimique des ligneux tropicaux impose l'utilisation de techniques plus fines d'analyses permettant un dosage fiable des substances antinutritionnelles. De plus, compte tenu des interactions de ces facteurs sur l'activité des microorganismes du rumen, les méthodes *in vitro* (gaz test) et les méthodes de référence fournissant les mesures de base de la valeur nutritive (digestibilité *in vivo*, dégradabilité *in sacco*) doivent être effectuées dans des conditions se rapprochant le plus possible des conditions physiologiques et/ou des conditions d'utilisation des ligneux en élevage (taux d'incorporation des ligneux dans les rations).

Le gaz test semble être une technique efficace de prédiction de la valeur nutritive. Cependant, il présente plusieurs limites. La principale contrainte du gaz test est - comme pour les autres méthodes *in vitro* - l'entretien d'animaux fistulisés. L'application de cette technique à la prévision précise de la valeur nutritive nécessite encore - au minimum - de disposer de mesures de référence en nombre suffisant pour remplacer l'équation générale (établie pour des fourrages et des aliments concentrés de zones tempérées) utilisée jusqu'ici par une relation propre aux ligneux. De plus, les aliments de référence (luzerne et concentré standard) utilisés pour corriger la production de gaz devraient être de même nature que les fourrages testés.

Nous avons vu que pour certaines espèces, les valeurs mesurées par le gaz test pouvaient être prédites avec une précision acceptable à partir de critères chimiques et enzymatiques plus simples.

La spectrométrie dans le proche infrarouge, déjà couramment employée dans certains domaines (matières premières de l'agro-industrie, fourrages cultivés,...), semble prometteuse pour les fourrages étudiés. C'est la méthode la plus rapide et la plus simple à

mettre en oeuvre. Cependant, elle nécessite une population de calibration initiale à la fois homogène botaniquement et variable chimiquement, ainsi que des analyses de laboratoire très fiables.

Si l'équation de calibration de la digestibilité de la matière organique prédite par le gaz test est satisfaisante, celle de la dégradabilité de l'azote fermentescible n'est pour l'instant pas utilisable. Il est probable que le choix des échantillons utilisés pour la calibration en soit responsable. Mais il se pourrait aussi que les difficultés de calibration soient liées à la forte hétérogénéité des facteurs antinutritionnels intervenant sur la dégradabilité de l'azote et difficiles à calibrer.

Le principal facteur limitant de notre étude est lié à l'échantillonnage. Pour obtenir des résultats plus rigoureux, il faudrait d'une part des effectifs par espèce supérieurs, et d'autre part un échantillonnage plus systématique, permettant de tenir compte des variations géographiques, saisonnières, annuelles et pluri-annuelles, ainsi que du stade de développement des organes étudiés lors des prélèvements.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AFNOR, 1980 - Recueil de normes françaises des méthodes générales d'analyse des produits agro-alimentaires. Chimie - microbiologie-analyse sensorielle, Paris, AFNOR, 278 p.
2. AUFRERE J., 1982 - Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Ann. Zoot.*, 31, (2) : 111-130.
3. AUFRERE J., DEMARQUILLY C., 1989 - Predicting organic matter digestibility of forage by two Pepsin-Cellulase methods. In Proc. 16th Internat. Grassl. Cong., Nice, France : 877-878.
4. AUFRERE J., MICHALET DOREAU B., 1988 - Comparison of methods for predicting digestibility of feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 20, (3) : 203-218.
5. AUFRERE J., MICHALET DOREAU B., 1990 - Nouvelles méthodes d'estimation de la valeur alimentaire des fourrages. I. Méthode *in sacco*. *Fourrages*, 122 : 189-201.
6. AUFRERE J., MICHALET DOREAU B., 1990 - Nouvelles méthodes d'estimation de la valeur alimentaire des fourrages. II. Méthodes enzymatiques. *Fourrages*, 122 : 203-217.
7. BARNES R.F., MARTEN G.C., 1979 - Recent developments in predicting forage quality. *J. Anim. Sci.*, 48, (6) : 1554-1561.
8. BIPEA, 1976-1981 - Recueil des méthodes d'analyses des Communautés Européennes.
9. BISTON R., DARDENNE P., DEMARQUILLY C., 1989 - Determination of forages *in vivo* digestibility by NIRS. IN 16 th Internat. Grassl. Cong., Nice, France : 895-896.
10. BISTON R., SINNAEVE P., STEINGASS H., GUERIN H., 1992- Application de la technique NIR (Near Infrared Reflectance) et du Gas Test de Hohenheim pour prédire la valeur nutritive des fourrages ligneux. Compte-rendu de réunion à la Station de Haute Belgique, Libramont, 11 Juin 1992, Programme DGXII-STD2-215. Maisons Alfort, CIRAD-EMVT, 16 p.
11. CHENOST M., GRENET E., DEMARQUILLY C., JARRIGE R., 1970 - The use of the nylon bag technique for the study of forage digestion in the rumen and for predicting feed value. In Proc. 11th Internat. Grassl. Cong., Queensland : 697-701.

12. DEMARQUILLY C., BOISSEAU J.M., 1976 - Méthode de mesure de la valeur alimentaire des fourrages. Theix, CRZV-INRA, 6 p.
13. DEMARQUILLY C., CHENOST M., 1969 - Etude de la digestion des fourrages dans le rumen par la méthode des sachets de nylon ; liaison avec la valeur alimentaire. Ann. Zoot., 18, (4) : 419-436.
14. DEMARQUILLY C., JARRIGE R., 1981 - Panorama des méthodes de prévision de la digestibilité et de la valeur énergétique des fourrages. In: Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants. INRA Publ. : 41-59.
15. DE SMET S., DEMEYER D., 1992 - Dégradabilité *in sacco* : variabilité entre animaux. Ann. Zoot., 41 : 21-22.
16. DIAGAYETE M., 1981 - Untersuchungen zur Erweiterung der Kenntnisse über den Entterwert westafrikanischer Futterpflanzen. Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften, Univ. Hohenheim, 135p. + annexes.
17. DUCHE A., LEFEVRE P., SABROUX V., BERDON D., BERNARD G., 1992- Les techniques d'analyses d'aliments du bétail appliquées au CIRAD-EMVT. Maisons Alfort, CIRAD-EMVT, 79 p.
18. FRIOT D., 1983 - Programme ABT, résultats obtenus en digestibilité *in vitro*. Sénégal, ISRA. Maisons alfort, CIRAD-EMVT, 11 p.
19. GIGER S., POCHET S., 1987 - Méthodes d'estimation des constituants pariétaux dans les aliments destinés aux ruminants. Bull. Tech. CRZV Theix, INRA, (70) : 49-60.
20. GOERING H.K., GORDO C.H., HEMKEN R.W., WALDO D.R., VAN SOEST P.J., SMITH L.W., 1972 - Analytical estimates of nitrogen digestibility in heat damaged forages. J. Dairy Sci., 55, (9) : 1275-1280.
21. GOTO I., MINSON D.J., 1977 - Prediction of the dry matter digestibility of tropical grasses using a pepsin-cellulase assay. Anim. Feed Sci. Technol., 2 : 247-293.
22. GRILLET C., 1992 - Dosages des tanins dans les fourrages ligneux, mises au point de techniques. Programme DGXII-STD2-215. Maisons Alfort, CIRAD-EMVT, 15 p.
23. GUERIN H., 1987 - Note bibliographique sur les fourrages ligneux. Etudes et synthèses de l'IEMVT, 30 : 329-345.
24. GUERIN H., 1987 - Alimentation des ruminants domestiques sur pâturages naturels sahéliens et sahélo-soudaniens : étude méthodologique dans la région de Ferlo au Sénégal. Thèse Doct. Ing., Montpellier, ENSAM, 213 p.

25. GUERIN H., RICHARD D., LEFEBVRE P., FRIOT D., MBAYE N., 1989 - Prévision de la valeur nutritive des fourrages ingérés sur parcours naturels par les ruminants domestiques sahéliens et soudaniens. In Proc. 16th Internat. grassl. cong., Nice, France : 879-880.
26. HO AHN J., ROBERTSON B.M., ELLIOTT R., GUTTERIDGE R.C., FORD C.W., 1989 - Quality assessment of tropical browse legumes : Tanin content and protein degradation. Anim. Feed Sci. Technol., 27 : 147-156.
27. JARRIGE R., 1981 - Les constituants glucidiques des fourrages : variations, digestibilité et dosage. In: Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants. INRA Publ. : 13-40.
28. KONE A.R., 1987 - Valeur nutritive des ligneux fourragers des zones sahélienne et soudanienne d'Afrique occidentale. Thèse de Doctorat de troisième cycle, Paris VI, 150 p. + annexes.
29. KONE A.R., RICHARD D., GUERIN H., 1987 - Contribution à la mise au point d'une méthode d'étude de la valeur nutritive des fourrages ligneux. Etudes et synthèses de l'IEMVT, 30 : 789-809.
30. LEINMULLER E., STEINGASS H., MENKE K.H., 1991 - Tanins in ruminant feedstuffs. Anim. Res. Dev., 33, 62 p.
31. MAC LEOD M.N., MINSON D.J., 1971 - The error in predicting pasture dry-matter digestibility from four different methods of analysis for lignin. J. Br. Grassld. soc., 26, (4) : 251-256.
32. MADSEN J., HVELPLUND T., 1985 - Protein degradation in the rumen, a comparison between *in vivo*, nylon bag, and buffer measurements. Acta. Agric. Scand., suppl. 25 : 103-124.
33. MEHREZ A.Z., ORSKOV E.R., 1977 - A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. J. Agric. Sci. Camb., 88 : 645-650.
34. MENKE K.H., STEINGASS H., 1988 - Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Anim. Res. Devel., 28 : 7-55.
35. MICHALET DOREAU B., 1992 - Comparaison de la granulométrie du bol mastiqué et de l'aliment broyé à différentes grilles : incidences sur la méthodologie des mesures *in sacco*. Ann. Zoot., 41 : 11-12.
36. MICHALET DOREAU B., PONCET C., FALL S., 1990 - Etude de la valeur nutritive des fourrages ligneux consommés par les ruminants. Theix, ISRA/INRA, Octobre 1990, 10 p.
37. MICHALET DOREAU B., TOURE FALL S., 1992 - Ruminal N degradation of browse and temperate forages, and partition of N into carbohydrates. In: VIIe journées de recherche sur l'alimentation et la nutrition des herbivores, Paris, INAPG : 31.

38. MICHALET DOREAU B., VERITE R., CHAPOUTOT P., 1987 - Méthodologie de mesure de dégradabilité *in sacco* de l'azote des aliments dans le rumen. Bull. Tech. CRZV Theix, INRA, (69) : 5-9.
39. OSBOURN D.F., 1978 - Principles governing the use of chemical methods or assessing the nutritive value of forages : a review. Anim. Feed Sci. Technol., 3, (4) : 265-275.
40. PONCET C., THIVEND P., GENEST C., 1983 - Relationship between *in vitro* enzymatic solubility of feed proteins and their *in vivo* degradability. In: 4th Int. Symp. Protein metabolism and nutrition, 5-9 Sept. 1983, Versailles, INRA : 232-234.
41. RICHARD D., 1989 - Intérêt de la connaissance de la composition chimique des fourrages, choix des analyses en fonction des objectifs. Etudes et synthèses de l'IEMVT, 30 : 695-726.
42. SAUVANT D., AUFRERE J., MICHALET DOREAU B., CHAPOUTOT P., 1987- Digestibilité des aliments concentrés et des fourrages par une méthode à la pepsine-cellulase ; annexe C2. In: Valeur nutritive des aliments concentrés simples : tables et prévisions. Bull. tech. CRZV Theix, INRA, (70) : 75-89.
43. STEINGASS H., 1983 - Bestimmung des energetischen Futterwertes von wirtschaftseigenen Futtermitteln aus der Gasbildung bei der Pansenfermentation *in vitro*. Hohenheim, Univ., Fak. IV, Diss.
44. TILLEY J.M.A., TERRY R.A., 1963 - A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Br. Grassl. Soc., 18 : 104-111.
45. VAN SOEST P.J., 1982 - Refractory and inhibitory substances. In Nutritional Ecology of the ruminant. O. and B. Books, Inc., Cor Vallis, OR : 118.
46. VAN SOEST P.J., ROBERTSON J.B., 1980 - Systems of analysis for evaluating fibrous feeds. In Standardization of analytical methodology for feeds : 49-60.
47. VAN SOEST P.J., WINE R.H., 1967 - Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. J. Ass. Off. Anal., 50 : 50-55.
48. VAN SOEST P.J., WINE R.H., MOORE L.A., 1966 - Estimation of true digestibility of forages by the *in vitro* digestion of cell walls. In Proc. 10th Internat. Grassl. Cong., Helsinki, Finlande : 438-441.
49. VERITE R., DEMARQUILLY C., 1978 - Qualité des matières azotées des aliments pour ruminants. In: La vache laitière, IXème Journées du Grenier de Theix, INRA : 143-158.
50. VERITE R., MICHALET-DOREAU B., CHAPOUTOT P., PEYRAUD J.L., PONCET C., 1987 - Révision du système des protéines digestibles dans l'intestin (PDI). Bull. Tech. CRZV Theix, INRA, (70) : 19-34.

51. VERITE R., PEYRAUD J.L., 1988 - Nutrition azotée. In: JARRIGE R., Ed. Alimentation des bovins, ovins, et caprins, Paris, INRA : 75-93.
52. VILLENEUVE F., 1991 - Dosage des tanins dans les fourrages ligneux. Programme DGXII-STD2-215. Nogent sur Marne, CIRAD-CTFT, 26 p.

COMMUNICATIONS PERSONNELLES

53. FALL S., ZOUNGRANA C., KONE A.R., 1993 - Mesures de dégradabilité *in sacco* et de digestibilité *in vivo* effectuées sur des feuilles de fourrages ligneux tropicaux, Programme CEE-DGXII-STD2/215.
54. ICKOWICZ A. et al., 1993 - Etude de l'influence du site de prélèvement et de la saison sur la composition des feuilles de ligneux tropicaux, Programme CEE-DGXII-STD/215.
55. STEINGASS H., 1993 - Application du gaz-test au dosage de l'azote dégradable, technique adaptée de la méthode de Thomson. In: : Leinmüller E. 1989, Dissertation zur erlangung des grades eines doktors der Agrarwissenschaften, Universität Hohenheim.