



**HAL**  
open science

## Biodeteriorations et conservation des foins humides

Philippe Zwaenepoel

► **To cite this version:**

Philippe Zwaenepoel. Biodeteriorations et conservation des foins humides. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 1986. Français. NNT: . tel-00855341

**HAL Id: tel-00855341**

**<https://theses.hal.science/tel-00855341>**

Submitted on 3 Sep 2013

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**T H E S E**

Présentée

A L'UNIVERSITE DE CLERMONT II  
U.F.R. de Recherche Scientifique et Technique

Pour obtenir le grade de Docteur-Ingénieur

Spécialité : MICROBIOLOGIE - SCIENCES ALIMENTAIRES

**BIODETERIORATIONS ET CONSERVATION  
DES FOINS HUMIDES**

Par

Philippe ZWAENEPOEL

*Ingénieur INSA  
Ingénieur civil du Génie Rural*

Soutenue le 11 Juillet 1986 devant la Commission d'Examen

Président :

J.P. LARPENT, Professeur

Examineurs :

L. BIANNIC, Ingénieur CEMAGREF

A. BRETON, Professeur

Y. BRIAND, Professeur

J. P. DULPHY, Maître de Recherche INRA

## AVANT-PROPOS

Cette étude menée principalement au Centre National du Machinisme Agricole du Génie Rural, des Eaux et des Forêts (CEMAGREF) de Montoldre est le fruit d'une collaboration étroite avec le Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Clermont II, le Laboratoire des Aliments du Centre de Recherches Zootechniques et Vétérinaires (CRZV) de Theix et le Laboratoire d'Agrobiologie de l'Université de Brest.

J'exprime toute ma gratitude à Monsieur LARPENT, Professeur de Microbiologie, d'avoir accepté de la diriger et de m'avoir fait bénéficier de l'aide efficace et chaleureuse de son laboratoire.

Monsieur BRETON, Professeur de Microbiologie m'a prodigué sans réserve conseils, assistance et encouragements à des moments décisifs ; qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance.

Les aspects zootechniques ont été traités par Monsieur DULPHY, Maître de Recherche au CRZV de Theix ; je voudrais le remercier tout particulièrement pour sa parfaite collaboration sans laquelle ce travail n'aurait pas pu être mené à bien.

J'adresse également mes vifs remerciements à Monsieur PELHATE, Professeur à l'Université de Brest, qui m'a apporté un concours précieux dans l'étude de la microbiologie des foins.

Mes remerciements vont, d'autre part, à Monsieur BRIAND, Professeur de Biochimie et Monsieur BIANNIC, Ingénieur au CEMAGREF, qui ont bien voulu juger ce travail.

Que Mesdemoiselles BRIVET et MICHAUX, Messieurs BEAULIEU, PELISSIER, BULIT et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, sachent que je n'oublie pas leur contribution à cette étude dont la dactylographie a été assurée avec beaucoup de soin par Madame BIELLI.

Les aspects touchant les conservateurs pour foins humides ont fait l'objet de nombreux développements dans le présent document.

Que le lecteur ne nous en tienne pas rigueur. Notre souci, au terme de plusieurs années d'expérimentation dans ce domaine, a été de tenter de rassembler l'essentiel de l'acquis disponible et de proposer une méthodologie adaptée à l'étude de nouveaux conservateurs.

Puisse cette contribution être utile aux personnes intéressées par la conduite de travaux similaires.

Aux éleveurs  
A ma famille  
A mes amis

« Savez-vous ce que c'est de faner ? Il faut que je vous l'explique : faner est la plus jolie chose au monde, c'est retourner du foin en batifolant dans une prairie ; dès qu'on en sait tant, on sait faner ».

SEVIGNE (1626-1696)

Cette vision ludique ne correspond guère à la réalité. Pour les éleveurs, faire les foins est au contraire un souci continu qui se prolonge jusque dans la grange.



Il faut, en effet, parfois refroidir et faner à nouveau le foin stocké (notre photo) car « Vieux foin est difficile à s'enflammer, plus difficile à éteindre »

CERVANTES (1547-1616)

ZWAENEPOEL Philippe, 1986

## BIODETERIORATIONS ET CONSERVATION DES FOINS HUMIDES

U.F.R. de Recherche Scientifique et Technique, UNIVERSITE DE CLERMONT II

### RESUME

L'évolution physico-chimique et microbiologique de foins humides conditionnés en balles rondes a été suivie durant le stockage ; la dynamique des populations microbiennes, conduisant au remplacement de la flore du champ par une flore de stockage à dominantes thermophile et xérophile n'est pas apparue corrélée avec le pic initial de température.

L'étude du déterminisme des phénomènes d'échauffement a été poursuivie à l'échelle du laboratoire à partir de mesures d'intensité respiratoire de végétaux coupés et d'expériences sur la conservation de foins stérilisés et contaminés ; les rôles respectifs de la respiration du végétal dans la thermogenèse initiale et des microorganismes dans la persistance de l'échauffement et la disparition d'une partie de la matière organique ont été établis.

L'expérimentation de conservateurs liquides et solides n'a pas donné de résultats satisfaisants en raison de l'imparfaite homogénéité du traitement réalisé au champ (cas de l'acide propionique), aggravée pour les spécialités commerciales et le chlorure de sodium par l'insuffisance des doses recommandées et une action inhibitrice limitée.

L'ammoniac introduit par fumigation à l'intérieur de meules bâchées permet d'améliorer nettement la conservation mais implique des précautions particulières lors de la distribution des foins traités aux animaux.

#### Mots-clés

Foin  
Conservation  
Respiration des végétaux  
Microorganismes thermophiles  
Thermogenèse  
Conservateurs  
Acide propionique  
Ammoniac

ZWAENEPOEL Philippe, 1986

## BIODETERIORATIONS ET CONSERVATION DES FOINS HUMIDES

U.F.R. de Recherche Scientifique et Technique, UNIVERSITE DE CLERMONT II

### SUMMARY

The physico-chemical and microbiological process of round baled wet hay was studied under storage conditions. It appeared that the microbial population dynamics resulting in the replacement of the field flora by a mainly thermophilic and xerophilic storage flora did not depend on the initial temperature peak.

The determinism of heating phenomena was then studied under laboratory conditions, taking as a basis both the measurements of the respiratory intensity of cut plants and the experiments on sterilized and contaminated hay conservation.

The role of the plant respiration in the initial thermogenesis and that of microorganisms in persisting heating and partial loss of organic matter were respectively defined.

The experiment conducted on liquid and solid preservatives did not prove satisfactory because the field treatment was insufficiently homogeneous (such was the case for propionic acid). The negative effect of heterogeneity increased with marketed products and sodium chloride because of inappropriate required doses and limited inhibitory action.

Ammonia introduced by fumigation in covered stacks allows a far better conservation but requires specific care when dispensing the treated hay to the livestock.

### Keywords

Hay  
Conservation  
Plant respiration  
Thermophilic microorganisms  
Thermogenesis  
Preservatives  
Propionic acid  
Ammonia

# TABLE DES MATIÈRES

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### 1. INTRODUCTION

#### 1.1. PRODUCTION FOURRAGERE ET FENAISON - LA SITUATION FRANÇAISE

#### 1.2. RAPPELS SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE ET LA VALEUR ALIMENTAIRE DES FOURRAGES

#### 1.3. LA FENAISON

##### 1.3.1. Définitions

##### 1.3.2. Historique

##### 1.3.3. Conduite de la fenaison

###### 1.3.3.1. Contraintes

###### 1.3.3.2. Conséquences - Pertes au champ

###### 1.3.3.3. Solutions

### 2. STOCKAGE DES FOINS HUMIDES

#### 2.1. CONSEQUENCES PHYSIQUES, NUTRITIONNELLES ET MICROBIOLOGIQUES

##### 2.1.1. Echauffement et auto-inflammation

##### 2.1.2. Pertes de matière sèche et de valeur alimentaire

##### 2.1.3. Microflore et risques pathogènes

###### 2.1.3.1. Champignons

###### 2.1.3.2. Bactéries

###### 2.1.3.3. Actinomycètes

##### 2.1.4. Bilan synthétique du stockage des foins humides

#### 2.2. DETERMINISME DES MECANISMES DE DETERIORATION

##### 2.2.1. Caractéristiques physico-chimiques du fourrage

##### 2.2.2. Mécanismes de détérioration

###### 2.2.2.1. Respiration du végétal

###### 2.2.2.2. Développement des microorganismes

###### 2.2.2.2.1. Conditions de développement

###### 2.2.2.2.2. Conséquences du développement des microorganismes

###### 2.2.2.3. Phénomènes physico-chimiques

### 3. MÉTHODES CHIMIQUES DE PREVENTION - LES CONSERVATEURS

#### 3.1. RAPPELS SUR LES MECANISMES GENERAUX D'ACTION DES PRODUITS CONSERVATEURS ALIMENTAIRES

##### 3.1.1. Destruction ou inhibition directe

##### 3.1.2. Modifications physico-chimiques du substrat

#### 3.2. MÉTHODES D'ÉTUDE DES CONSERVATEURS POUR FOINS

##### 3.2.1. Essais de laboratoire

##### 3.2.2. Essais en conditions réelles

#### 3.3. LES CONSERVATEURS POUR FOINS HUMIDES

##### 3.3.1. Chlorure de sodium

### 3.3.2. Acides organiques et produits dérivés

#### 3.3.2.1. Historique

#### 3.3.2.2. Acide propionique

##### 3.3.2.2.1. Caractéristiques physico-chimiques

##### 3.3.2.2.2. Essais de laboratoire

##### 3.3.2.2.3. Essais en conditions réelles

###### 3.3.2.2.3.1. Résultats

###### 3.3.2.2.3.2. Causes des échecs rencontrés en conditions réelles

#### 3.3.2.3. Autres acides organiques et produits dérivés

### 3.3.3. Autres produits

#### 3.3.3.1. Fongicides et phénols

#### 3.3.3.2. Spécialités commerciales

#### 3.3.3.3. Ammoniac

##### 3.3.3.3.1. Caractéristiques physico-chimiques

##### 3.3.3.3.2. Utilisation de l'ammoniac en agriculture (hors conservation)

##### 3.3.3.3.3. Conservation des céréales

##### 3.3.3.3.4. Conservation des fourrages

#### 3.3.3.4. Urée

#### 3.3.3.5. Anhydride sulfureux

## **4. CONCLUSION DE L'ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

# **ÉTUDE EXPERIMENTALE**

## **INTRODUCTION**

## **MATÉRIELS ET MÉTHODES**

### **1. MÉTHODES DE MESURE DES PARAMÈTRES DE RÉCOLTE ET DE CONSERVATION DES FOINS HUMIDES**

#### 1.1. ECHANTILLONNAGE

#### 1.2. MÉTHODES BIOCHIMIQUES

#### 1.3. MÉTHODES IN VIVO

#### 1.4. METHODES PHYSIQUES - THERMOMÉTRIE

#### 1.5. METHODES MICROBIOLOGIQUES

##### 1.5.1. Milieux de culture

##### 1.5.2. Méthodes d'ensemencement et de dénombrement

##### 1.5.3. Méthodes d'identification

### **2. MÉTHODES D'ESSAIS DES CONSERVATEURS POUR FOINS HUMIDES**

#### 2.1. ESSAIS EN LABORATOIRE

##### 2.1.1. Sur milieux de culture

##### 2.1.2. Sur petits lots de foin

#### 2.2. ESSAIS EN CONDITIONS REELLES

### 3. AUTRES METHODES MISES EN OEUVRE

#### 3.1. STERILISATION

#### 3.2. RESPIROMETRIE

## **RÉSULTATS**

### **CHAPITRE I**

#### 1. ETUDE DE L'EVOLUTION PHYSICO-CHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DE FOINS HUMIDES

##### 1.1. EVOLUTION DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES

###### 1.1.1. Température

###### 1.1.2. Taux de matière sèche

##### 1.2. EVOLUTION MICROBIOLOGIQUE

###### 1.2.1. Champignons

###### 1.2.1.1. Flore du champ

###### 1.2.1.2. Flore de stockage

###### 1.2.1.3. Flore de fin de stockage

###### 1.2.1.4. Remarques sur la biologie des champignons de stockage

###### 1.2.2. Bactéries

###### 1.2.2.1. Flore du champ

###### 1.2.2.2. Flore de stockage

###### 1.2.2.3. Flore de fin de stockage

##### 1.3. DISCUSSION ET CONCLUSION

### **CHAPITRE II**

#### 2. ETUDE EXPERIMENTALE DES MECANISMES IMPLIQUES DANS L'ECHAUFFEMENT DES FOINS HUMIDES

##### 2.1. RESPIRATION DU VEGETAL ET THERMOGENESE

###### 2.1.1. Activité respiratoire comparée de folioles de luzerne, témoins et stérilisées

###### 2.1.2. Variation de l'intensité respiratoire au cours de la dessiccation

###### 2.1.3. Influence de la température et de la teneur en matière sèche sur l'intensité respiratoire

###### 2.1.4. Bilan thermodynamique de la respiration du fourrage humide

###### 2.1.4.1. Cas général

###### 2.1.4.2. Cas des fourrages "secs" (75-80 % de MS)

###### 2.1.5. Conclusion

##### 2.2. DEVELOPPEMENT DES MICROORGANISMES ET THERMOGENESE

###### 2.2.1. Mise au point d'une technique de laboratoire pour l'étude de la conservation des foins humides

###### 2.2.1.1. Utilisation d'enceintes calorifugées à aération contrôlée

###### 2.2.1.2. Comparaison de la conservation de fourrage frais et de fourrages séchés réhumidifiés

###### 2.2.2. Stérilisation par irradiation de foins humides – Influence sur la conservation

###### 2.2.3. Apport de contaminants fongiques sur des foins humides stérilisés - Influence sur la

conservation

## 2.3. CONCLUSION

### **CHAPITRE III**

## 3. ETUDE DE CONSERVATEURS POUR FOINS HUMIDES

### 3.1. SPÉCIFICATIONS DES CONSERVATEURS

#### 3.2. ACIDE PROPIONIQUE

##### 3.2.1. Essais de laboratoire

###### 3.2.1.1. Sur milieux de culture

###### 3.2.1.2. Sur foin en enceintes calorifugées à aération contrôlée

##### 3.2.2. Essais en conditions réelles

###### 3.2.2.1. Matériels et méthodes

###### 3.2.2.2. Résultats

###### 3.2.2.3. Discussion

#### 3.3. SPECIALITES COMMERCIALES

##### 3.3.1. LITTOFOIN

##### 3.3.2. HAY MASTER 2000

##### 3.3.3. HAY TREET

###### 3.3.3.1. Caractéristiques

###### 3.3.3.2. Essais en conditions réelles

###### 3.3.3.2.1. Matériels et méthodes

###### 3.3.3.2.2. Résultats

###### 3.3.3.2.3. Conclusion

##### 3.3.4. Discussion et conclusion générale sur les spécialités commerciales

#### 3.4. CHLORURE DE SODIUM

#### 3.5. AMMONIAC

##### 3.5.1. Essais de laboratoire sur foin en enceintes calorifugées à aération contrôlée

##### 3.5.2. Essais en conditions réelles

###### 3.5.2.1. Traitement lors du pressage

###### 3.5.2.2. Traitement sous vide en cuve étanche

###### 3.5.2.3. Traitement sous bâche

###### 3.5.2.3.1. Effets de la dose d'ammoniac et de la teneur en matière sèche sur la qualité de conservation et la valeur alimentaire du foin

###### 3.5.2.3.1.1. Matériels et méthodes

###### 3.5.2.3.1.2. Résultats

###### 3.5.2.3.1.3. Discussion

###### 3.5.2.3.2. Effets de la durée de confinement sur la qualité de conservation et la valeur alimentaire du foin

###### 3.5.2.3.2.1. Matériels et méthodes

###### 3.5.2.3.2.2. Résultats

###### 3.5.2.3.2.3. Discussion

###### 3.5.2.3.3. Effets de la technique de traitement sur la qualité de conservation et la valeur alimentaire du foin

###### 3.5.2.3.3.1. Matériels et méthodes

###### 3.5.2.3.3.2. Résultats

###### 3.5.2.3.3.3. Discussion

##### 3.5.2.4. Discussion générale et conclusion sur l'ammoniac anhydre

### 3.6. CONCLUSION DES ETUDES DE CONSERVATEURS POUR FOINS HUMIDES

#### CONCLUSION GENERALE

## **ANNEXES**

- [Annexe 1](#) Mesure de la teneur en matière sèche
- [Annexe 2](#) Mesure des pertes de matière sèche durant la conservation  
Dosage des matières azotées totales
- [Annexe 3](#) Dosage de la cellulose brute
- [Annexe 4](#) Dosage des constituants pariétaux
- [Annexe 5](#) Dosage des glucides solubles
- [Annexe 6](#) Prévion de la digestibilité des fourrages par la méthode enzymatique "pepsine-cellulase"  
  
Estimation de la teneur en matières azotées non digestibles à partir du dosage de l'azote insoluble dans la pepsine
- [Annexe 7](#) Mesure de la valeur alimentaire des fourrages
- [Annexe 8](#) Schéma simplifié de détermination des principales familles bactériennes
- [Annexe 9](#) Tests biochimiques de la galerie API 20 E
- [Annexe 10](#) Profils individuels de souches de *Bacillus*
- [Annexe 11](#) Mise en œuvre du respiromètre GILSON
- [Annexe 12](#) Respiration du végétal et échauffement : modélisation

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**LEXIQUE DES ABRÉVIATIONS**

ADF	Acid detergent fiber
$a_w$	Potentiel hydrique
CB	Cellulose brute
CV	Coefficient de variation
d	Densité
DMO	Digestibilité de la matière organique
DMS	Digestibilité de la matière sèche
H	Humidité du fourrage
HR	Humidité relative de l'air
IR	Intensité respiratoire
MM	Matières minérales
MAND	Matières azotées non digestibles
MAT	Matières azotées totales
MH	Matière humide
MO	Matière organique
MOD	Matière organique digestible
MS	Matière sèche
N	Azote
NDF	Neutral detergent fiber
PDI	Protéines digestibles dans l'intestin
PDIE	Protéines digestibles dans l'intestin permises par l'énergie
PDIN	Protéines digestibles dans l'intestin permises par l'azote
QI	Quantités ingérées
r	Coefficient de Corrélation
T	Température
Tmax	Température maximale
UFL	Unité fourragère lait
UFV	Unité fourragère viande

## 1. INTRODUCTION

### 1.1. PRODUCTION FOURRAGERE ET FENAISON - LA SITUATION FRANCAISE

En France, l'enquête menée en 1982 par le S.C.E.E.S.<sup>1</sup> montre l'importance des surfaces fourragères au sein de la surface agricole utile (S.A.U.) ; elles concernent en effet, 2/3 des exploitations agricoles et couvrent plus de 63 % de la S.A.U. (ALLEZARD, 1984).

Les prairies artificielles et temporaires, les surfaces toujours en herbe (S.T.H.) représentent environ 90 % de la surface fourragère totale (tableau 1).

Tableau 1 : Surfaces et part dans la surface fourragère nationale des diverses catégories de surfaces fourragères (d'après ALLEZARD, 1984)

	Surface en milliers d'ha	Part en % de la SF.P.
CULTURES FOURRAGERES ANNUELLES maïs-fourrage, betteraves-fourragères, choux fourragers, topinambours, autres (à l'exclusion du ray-grass d'Italie)	1571	10,3
CULTURES DEROBES ET SUCCESSIVES (hors SFP) ray-grass d'Italie, luzerne porte-graine, seigle, seigle, vesce, trèfle d'Alexandrie, colza fourrager, navette, chou fourrager, navets fourragers, raves, rutabagas	638	4,2
PRAIRIES SEMEES AYANT DE 1 A 5 ANS	3331	21,9
a/ prairies artificielles luzerne pure, trèfle violet pur, autre légumineuse en culture pure, mélange de légumineuses	635	4,2
b/ prairies temporaires, prairies temporaires de courte durée à base de ray-grass d'Italie ou de ray-grass hybride, prairies temporaires (autres) . dactyle, fétuque élevée, ray-grass anglais, autre graminée, graminée avec légumineuses, mélanges de graminées (avec ou sans légumineuses)	2696	17,7
SURFACES TOUJOURS EN HERBE	10299	67,8
a/ prairie semée de 6 à 10 ans	694	4,6
b/ prairie semée depuis plus de 10 ans ou non semée	9605	63,2
TOTAL DES SURFACES FOURRAGERES NATIONALES ENQUETEES (1)	15839	104,2

(1) Non compris les départements méditerranéens, exclus de l'enquête

D'après les chiffres du S.C.E.E.S, analysés par SPINDLER (1984), ces surfaces fourragères ne sont pas exploitées de façon identique pour la pousse de printemps, objet de l'enquête: les surfaces toujours en herbe restent majoritairement pâturées (de 57 à 75 %) ; par contre, les prairies artificielles et temporaires sont davantage fauchées et conservées (de 65 à 94 %) pour l'alimentation hivernale des troupeaux (tableau 2).

Des progrès considérables ont d'ailleurs été réalisés au cours des cinquante dernières années dans le domaine de la récolte et de la conservation des fourrages, grâce aux techniques de déshydratation, de ventilation en grange et d'ensilage (JARRIGE, DEMARQUILLY et DULPHY, 1982).

<sup>1</sup> S.C.E.E.S. : Service Central des Enquêtes et Etudes Statistiques – Ministère de l'Agriculture

L'ensilage, en particulier, a bénéficié de la mise au point de machines de récolte à coupe fine, de l'utilisation de conservateurs et de bâches étanches en polyéthylène et de la facilité apportée par les matériels de désilage et de distribution mécanisée aux animaux.

Tableau 2 : Mode d'exploitation au printemps selon la catégorie de prairie (France entière) (en pourcentage de la surface totale) (SPINDLER, 1984)

	fauche	foin	ensilage	Dont distribution en vert	déshydratation	pâturation	dont intensive
Luzerne	96,1	75,9	9,3	2,0	12,8	3,9	65,7
Trèfle violet	95,4	81,5	13,0	5,3	0,1	4,6	36,6
Autres légumineuses	81,2	84,3	14,3	1,4	-	18,8	40,0
<b>Total prairies artificielles</b>	<b>94,0</b>	<b>77,6</b>	<b>10,3</b>	<b>2,3</b>	<b>9,8</b>	<b>6,0</b>	<b>52,1</b>
Ray-grass d'Italie pur	60,3	38,1	59,3	2,5	-	31,7	61,5
Ray-grass d'Italie et trèfle violet	70,8	62,8	35,6	1,5	-	29,2	50,3
Graminée pure	50,1	62,8	34,5	2,5	0,1	49,8	60,2
Graminée et légumineuse	73,5	75,2	23,7	1,0	0,1	26,5	45,9
Mélanges de graminées	70,0	81,4	17,9	0,7	-	30,0	24,8
<b>Total prairies temporaires</b>	<b>65,7</b>	<b>63,8</b>	<b>34,5</b>	<b>1,6</b>	<b>-</b>	<b>34,3</b>	<b>49,3</b>
STH labourable	42,5	94,4	5,4	0,2	-	57,5	15,1
STH non labourable	25,2	95,9	3,9	0,2	-	74,8	12,4
<b>Total STH</b>	<b>33,4</b>	<b>94,8</b>	<b>4,9</b>	<b>0,2</b>	<b>-</b>	<b>66,6</b>	<b>12,9</b>

Appliqué à l'origine au maïs plante entière, l'ensilage est maintenant de plus en plus adopté pour la récolte de l'herbe ; toutefois, la fenaison restait encore dominante en France en 1982, pour la conservation de la coupe de printemps, des prairies artificielles (+ de 75 %), des surfaces toujours en herbe (+ de 90 %) et des prairies temporaires (+ de 60 %), à l'exception du ray-grass d'Italie, plus souvent ensilé (tableau 2).

Ces chiffres cachent des disparités dans le recours à la fenaison qui apparaissent essentiellement liées à la localisation géographique et à l'orientation des exploitations.

D'après JARRIGE (1986), le foin est employé majoritairement dans les zones de montagne et exclusivement dans les zones à gruyère ; la proportion d'exploitations ne faisant appel qu'au foin est, d'autre part, supérieure à 70 % pour les systèmes "bovins maigres" et "bovins viande", à 85 % pour les systèmes "ovins- caprins lait" et "ovins viande" (par contre, elle n'est plus que de 39 % et 48 %, respectivement pour les systèmes "bovins lait + viande" et "bovins lait" en raison du développement de l'ensilage d'herbe).

Dans l'ensemble, la fenaison reste donc majoritairement pratiquée en France, à l'image d'autres pays européens (Finlande, Suède, Irlande, Italie) ou des USA (JARRIGE, 1986).

## 1.2. RAPPELS SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE ET LA VALEUR ALIMENTAIRE DES FOURRAGES

La composition chimique globale des fourrages est donnée par le tableau 3 (INRAP, 1984).

L'analyse classique des aliments du bétail porte sur les teneurs en matière sèche (MS), matières minérales (MM) ou cendres, matières azotées totales (MAT : N x 6,25), cellulose brute de Weende (CB), matières grasses ou plus exactement extrait éthéré, extractif non azoté; la cellulose brute comprend la cellulose vraie, un résidu d'hémicelluloses et de matières azotées et une fraction variable de la lignine ; l'extrait éthéré ne représente que 1,5 à 3 % de la MS chez les graminées (2,5 à 4,5 % chez les légumineuses) et n'est généralement pas dosé dans les analyses de

fourrages (INRA, 1978). Lors des expériences sur les fourrages, sont souvent également mesurées les teneurs en glucides (hydro) solubles et en constituants pariétaux.

Tableau 3 : Les différents constituants des fourrages (d'après INRAP, 1984)

Matière brute	EAU			H2O	
	Matière sèche (MS)	Matières minérales (MM)		Macro-éléments Oligo-éléments	Chlore - Phosphore - Soufre - Calcium - Sodium - Magnésium - Potassium Fer - Cuivre - Zinc - Cobalt - Manganèse - Iode - Sélénium-
Matière organique (MO)		GLUCIDES	Glucides cytoplasmiques	<u>Glucides solubles</u> Pentoses Hexoses (Glucose, Fructose—) Saccharose, Maltose, Lactose, Mélibiose, Fructosanes	
			Glucides pariétaux	<u>Amidon</u> Cellulose Hémicelluloses Substances pectiques Lignine	
		LIPIDES	Lipides	Glycérides Stérides Cérides	
Matières azotées totales (MAT)		Matières azotées protidiques	Acides aminés libres Combinaisons d'acides aminés (peptides, polypeptides, protéines)		
			Matières azotées non protidiques	Amides (urée,...) Aminés Ammoniaque Bases azotées ...	

La valeur alimentaire des fourrages dépend de leur ingestibilité, exprimée en g de MS/kg de poids métabolique ( $P^{0,75}$ ) ou en unité d'encombrement, et de la digestibilité de leurs principaux constituants. Les valeurs correspondantes (ingestibilité, digestibilité de la MS, de la matière organique (MO) et des MAT, sont habituellement déterminées *in vivo* sur moutons en station de recherche.

La digestibilité de la matière organique et des MAT peut également être estimée par des méthodes *in vitro* (DEMARQUILLY et ANDRIEU, 1986).

A partir de ces mesures, sont calculées les valeurs énergétiques, exprimées en unités fourragères lait ou viande (UFL ou UFV), et les valeurs azotées des fourrages, exprimées en Protéines Digestibles dans l'Intestin permises par l'Energie et par l'azote (PDIE et PDIN) selon les équations établies par l'INRA (1978).

Le système des Protéines Digestibles dans l'Intestin (PDI) a été substitué en 1978 à l'ancien système des Matières Azotées Digestibles (MAD) qui comportait des insuffisances ; le système PDI permet, en effet, de tenir compte de la protéosynthèse microbienne dans le rumen, conditionnée principalement par la solubilité des matières azotées et par l'énergie, et ainsi d'obtenir des valeurs plus précises de la valeur azotée réelle des aliments.

La valeur alimentaire des fourrages est principalement fonction de leurs caractéristiques botaniques (espèce, cycle, stade de végétation) et, pour les fourrages conservés, des conditions de récolte et de conservation. A titre de référence, sont donnés dans le tableau 4, les chiffres moyens de valeur alimentaire observés par l'INRA (1978) sur certains fourrages.

Tableau 4 : Valeur alimentaire des fourrages - exemples (d'après INRA - 1978)

FOURRAGES	VALEUR ENERGETIQUE (UFL/kg de MS)	VALEUR AZOTEE (g/kg de MS)			QUANTITES INGEREES PAR DES MOUTONS (M.S.g/kg p <sup>0,75</sup> )	CONSTITUANTS ORGANIQUES .teneurs (g/kg de MS) . digestibilité x 100		
		MAD	PDIN	PDIE		MO	MAT	CB
Ray-grass Italien								
1er cycle - Début épiaison fourrage vert	0,84	59	63	82	71	904 <b>72</b>	97 <b>61</b>	248 <b>67</b>
1er cycle - Pleine épiaison - fané au soi par temps de pluie	0,67	24	42	62	51	916 <b>61</b>	68 <b>36</b>	331 <b>64</b>
Luzerne								
1er cycle – Déb.Bourgeonnement fourrage vert	0,81	166	145	127	82	890 <b>68</b>	210 <b>79</b>	290 <b>52</b>
2ème cycle - 7 semaines - fané au sol	0,59	114	107	93	60	916 <b>55</b>	162 <b>70</b>	411 <b>43</b>

### 1.3. LA FENAISON

#### 1.3.1. Définitions (empruntées à CLEMENT et al., 1981) :

- Fenaison : Période pendant laquelle s'effectue le fanage du fourrage; par extension, ensemble des travaux aboutissant à la récolte du foin.
- Foin : Fourrage séché, partiellement ou totalement par le soleil. Le foin a une faible teneur en eau (environ 20 %), ce qui lui permet de se conserver très longtemps.

#### 1.3.2. Historique

La fenaison constitue vraisemblablement la technique de récolte et de conservation des fourrages la plus ancienne ; elle a été longtemps pratiquée manuellement, à l'aide de matériels très simples: faucille ou faux (pour couper le fourrage), fourche et râteau (pour l'éparpiller, le retourner, l'andainer puis le charger en vrac dans les remorques et l'entreposer dans les granges) (GIRARDIN et DU BREUIL, vers 1850).

Du début du XXème siècle à nos jours, le développement industriel et les progrès de la motorisation et de la mécanisation ont progressivement permis de supprimer toute intervention manuelle entre la fauche et la distribution du foin aux animaux. Aujourd'hui, les chaînes intégralement mécanisées de fenaison classique sont composées de faucheuses (à lame(s), rotatives, parfois conditionneuses), de matériels de fanage et d'andainage, de matériels de pressage (presses moyenne densité, à grosses balles rondes ou rectangulaires), complétées de remorques distributrices pour l'alimentation à l'étable (GAILLARD, 1986).

Malgré ces progrès spectaculaires permis par le machinisme agricole, la fenaison classique reste soumise pratiquement aux mêmes contraintes qu'autrefois, relevant de sa grande dépendance à l'égard des conditions météorologiques (KLINNER et SHEPPERSON, 1975).

#### 1.3.3. Conduite de la fenaison

##### 1.3.3.1. Contraintes

"Le but de toute méthode de conservation des fourrages est de transformer le plus rapidement et avec le moins de pertes possibles, l'état instable du fourrage vert après la fauche en un état stable permettant une conservation prolongée sans dégradation supplémentaire" (DEMARQUILLY, 1986).

Dans le cas de la fenaison, cet état stable est atteint quand la teneur en eau est voisine de 25 % (MONROE et al, 1946), 20 % (CLEMENT et al., 1981; NEHRIR et al., 1978), 15 % (DEMARQUILLY, 1986).

A titre d'exemple, la teneur en eau des fourrages de 1<sup>er</sup> cycle sur pied, au stade optimal de récolte est de l'ordre de 87 % pour le trèfle violet au stade bourgeon et de 83 % pour le ray-grass d'Italie en début d'épiaison (INRA, 1978); il faut donc évaporer environ 5,5 kg d'eau pour obtenir un kg de foin à 15 % d'humidité (85 % de MS).

Le temps d'exposition au sol d'un fourrage pour atteindre un état stable dépend de nombreux paramètres qui ont été précisés par DEMARQUILLY (1986) à l'occasion des XVI<sup>e</sup> journées du Grenier de Theix :

- la nature et le stade de la plante (conditionnant en particulier le rapport tiges-feuilles);
- l'application sur le fourrage de traitements physiques (écrasement des tiges), thermiques ou chimiques ;
- les conditions météorologiques (température extérieure; humidité relative et vitesse de l'air, pluie) ;
- la structure de l'andain et la conduite du fanage.

La réussite d'un chantier de fenaison dépend principalement des conditions météorologiques et surtout de la probabilité de pouvoir disposer de plusieurs jours consécutifs sans pluie ; il faut, par exemple, en Franche Comté, fin Mai, 4 à 5 jours consécutifs sans pluie pour conduire le séchage au sol (VALION, 1986).

Selon les conditions de fanage, le fourrage subira entre la fauche et l'engrangement des altérations plus ou moins profondes, résultant de pertes de matière sèche et de modifications de composition chimique et de valeur nutritive.

### 1.3.3.2. Conséquences - Pertes au champ

DULPHY et CABON (1986), à partir de la synthèse des travaux effectués dans ce: domaine, considèrent que les pertes de matière sèche subies par le fourrage ont trois origines distinctes :

- des pertes "mécaniques", correspondant surtout à des pertes de feuilles sous l'action des matériels, lors de la fauche, du fanage et de la récolte ;
- des pertes par respiration du végétal ;
- des pertes par lessivage, en cas de pluie.

Tableau 5 : Pertes de M. S. au champ dues à la fenaison, à différents stades de séchage (DULPHY et CABON, 1986)

<b>Beau temps (pertes "mécaniques" + respiration)</b>		
<b>Stades de séchage</b>		<b>Pertes de MS en %</b>
jusqu'à 40 % de matière sèche	graminées	5
	légumineuses	8
de 40 à 60 % de matière sèche	graminées	5
	légumineuses	8
	légumineuses non cond.	10
de 60 à 80 % de matière sèche	graminées	7
	légumineuses	10
	légumineuses non cond.	13
<b>Mauvais temps (pertes liées à la pluie à ajouter aux pertes précédentes)</b>		
<b>Stades de séchage</b>		
jusqu'à 40 % de matière sèche		+ 2 % de pertes par jour de pluie
de 40 à 60 % de matière sèche		+ 3 % de pertes par jour de pluie
de 60 à 80 % de matière sèche		+ 4 % de pertes par jour de pluie

Ces différents types de pertes varient quantitativement avec les principaux facteurs définis au paragraphe précédent. Dans la pratique ou pour effectuer des calculs économiques, DULPHY et CABON proposent de calculer les pertes au champ liées à la fenaison à partir des chiffres du

tableau 5. Ainsi, pour un fourrage de graminées fauché à 20 % de MS, rentré à 80 % de MS et ayant subi deux jours de pluie durant la fin du séchage, les pertes peuvent être estimées à 25 %.

A ces pertes (pondérables) de matière sèche, doivent être ajoutées des pertes non pondérables tenant à la diminution de la valeur nutritive du fourrage récolté ; en effet, la respiration du végétal affecte les glucides solubles entièrement digestibles ; le lessivage entraîne également des glucides solubles, mais aussi des constituants azotés solubles, des minéraux et des vitamines.

Les pertes "mécaniques" concernent surtout les feuilles, éléments les plus riches et les plus digestibles; la dessiccation s'accompagne également d'une certaine diminution de la valeur azotée (par protéolyse) et d'une chute de la teneur en carotène et en chlorophylle sous l'action photochimique du soleil (DEMARQUILLY, 1986).

A titre d'exemple, pour des graminées ou des prairies naturelles à base de graminées, le séchage au sol avec pluie (durée de séjour au sol supérieure à 10 jours) peut s'accompagner par rapport au fourrage vert, d'une augmentation de la teneur en cellulose brute de 53 g/kg de MS et d'une diminution de la teneur en matières azotées totales de 15 g/kg de MS (cf. tableau 6, ANDRIEU et al., 1981).

Tableau 6 : Modifications moyennes des teneurs en matières azotées et en cellulose brute entraînées par la fenaison suivant les conditions climatiques dans le cas des graminées ou des prairies naturelles à base de graminées (ANDRIEU et al., 1981)

	Matières azotées g/MS	Cellulose brute g/kg MS
Séchage au sol par beau temps sans pluie	-6	+ 16
Séchage au sol avec pluie (durée de séjour au sol < 10 jours)	-10	+39
Séchage au sol avec pluie (durée de séjour au sol >10 jours)	-15	+53

### 1.3.3.3. Solutions

Ainsi, la pluie diminue la qualité des fourrages fanés dans des proportions importantes ; il n'est pas exceptionnel de constater la perte totale d'une coupe à la suite d'une période pluvieuse prolongée. La probabilité de rencontrer un épisode pluvieux durant le fanage, augmentant avec le temps d'exposition du fourrage au sol (cf. tableau 7), il est préférable de rentrer le fourrage encore humide, par exemple entre 40 et 60 % de MS et de finir son séchage en grange par ventilation (ITCF, 1970), quand on dispose de ce type d'installation. Dans le cas contraire, la décision de récolter le fourrage devra être mûrement réfléchi en raison des conséquences physiques, nutritionnelles et microbiologiques qu'entraîne le stockage des foin humides.

Tableau 7 : Probabilité en % de périodes de 2, 3 ou 4 jours sans pluie (exemple du MORVAN) (ITCF, 1970)

	2 jours	3 jours	4 jours
15 au 30 Avril	50	34	27
1er au 15 Mai	50	40	35
15 au 31 Mai	50	36	28
1er au 15 Juin	46	35	26
15 au 30 Juin	50	40	32
1er au 15 Juillet	52	41	34

## 2. STOCKAGE DES FOINS HUMIDES

Nous avons choisi de présenter en premier lieu les conséquences classiquement observées du stockage des foin humides, avant d'en analyser le déterminisme qui présente, sous certains

aspects, un caractère encore incertain.

## 2.1. CONSEQUENCES PHYSIQUES, NUTRITIONNELLES ET MICROBIOLOGIQUES

### 2.1.1. Echauffement et auto-inflammation

Phénomènes connus depuis longue date, l'échauffement des foins humides mis en tas et leur brunissement constituaient au XIXe siècle la base de deux méthodes légèrement différentes de conservation :

Dans la méthode dite à la CLAPMAYER (BAILLY, BIXIO et MALPEYPE, vers 1850), le foin est amassé en "gros monceaux tassés médiocrement"; "Quand la chaleur qui se développe à l'intérieur est telle qu'on ne peut plus y tenir la main, on rassemble un grand nombre d'ouvriers, on démonte le tas, on l'éparpille au loin ; et, après une heure ou une heure et demie de beau temps, le tout est sec et a conservé ses feuilles"; selon GIRARDIN et DU BREUIL (vers 1850), le foin traité de cette manière "acquiert une couleur brune, mais il est sucré, savoureux. Il a une odeur miellée et plaît beaucoup aux animaux".

La seconde méthode décrite par GIRARDIN et DU BREUIL (vers 1850) consiste à faire du foin brun : le foin humide est fortement comprimé ; sous l'action de la fermentation, "il se dégage beaucoup de vapeurs, la meule s'affaisse considérablement, puis le foin se dessèche et se trouve converti en une masse compacte, brune, très dure, qu'on tranche avec un coupe-foin. Le bétail mange avec avidité ce foin brun, et on le regarde comme plus profitable à l'engraissement que le foin vert".

Ces pratiques agricoles ont été fort justement abandonnées avec la mise en évidence de leurs conséquences néfastes sur la valeur nutritive des foins (SWANSON, CALL et SALMON, 1919 ; HOFFMAN et BRADSHAW, 1937).

L'observation de foins engrangés trop humides, soit à titre expérimental, soit sous la menace de conditions météorologiques défavorables, montre que la température maximale d'échauffement (Tmax) augmente avec l'humidité H du foin :

LACEY et al., 1978		MARLEY, WILCOX et DANLEY, 1976	
H en %	Tmax en °C	H en %	Tmax en °C
18	27	21,3	27
26	42	26,9	37
28	46	31,3	42
32	47	35,2	51
41	58	44,8	60
44	50		

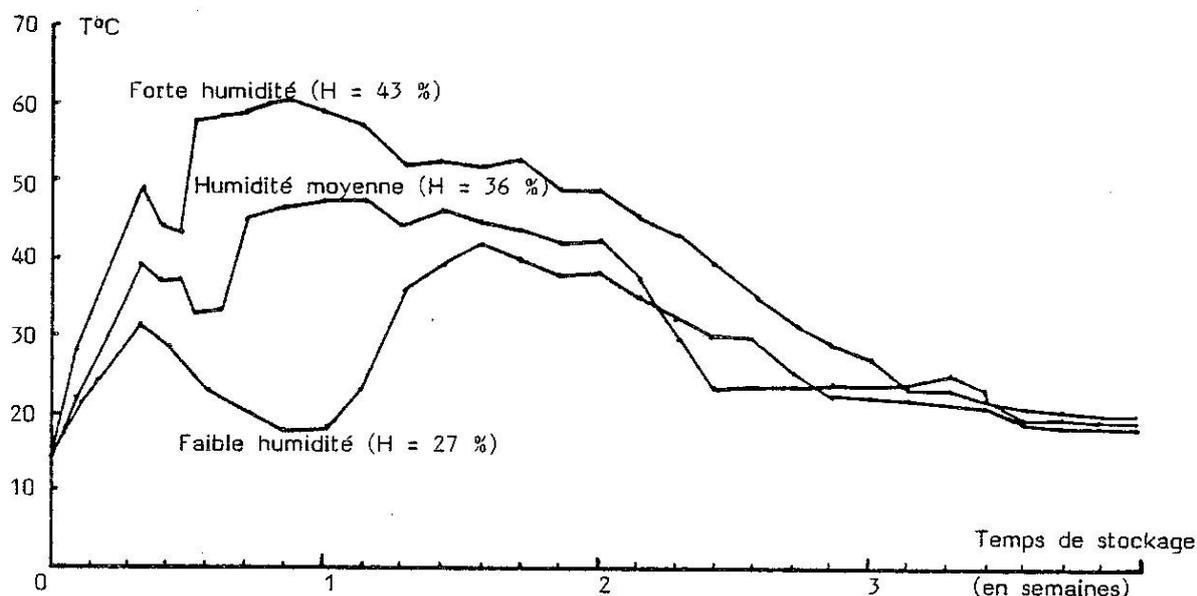
  

NASH et EASSON, 1977		LACEY et LORD, 1977	
H en %	Tmax en °C	H en %	Tmax en °C
27	45	25	41
36	55	28	51
43	65	40	64
		42	62

NASH (1978) remarque que, dans tous les cas, l'échauffement débute par un pic initial de température durant les 2-3 premiers jours de stockage, relayé par un second pic, d'intensité plus grande, qui intervient d'autant plus rapidement que l'humidité du fourrage est importante (cf. figure 1) ; NASH pense que le premier pic peut être attribué à la respiration du végétal, le second provenant de la respiration de la flore fongique, en rapide croissance dans le foin humide.

La température peut parfois continuer à augmenter : jusqu'à 86°C (TRUNINGER, 1929), 88°C (HOFFMAN et BRADSHAW, 1937), 128°C (MUSSELMAN, 1935); dans ce dernier cas, le fourrage s'est enflammé spontanément 72 h plus tard.

**Figure 1 : Evolution de la température du fourrage selon l'humidité au stockage (d'après NASH, 1978)**



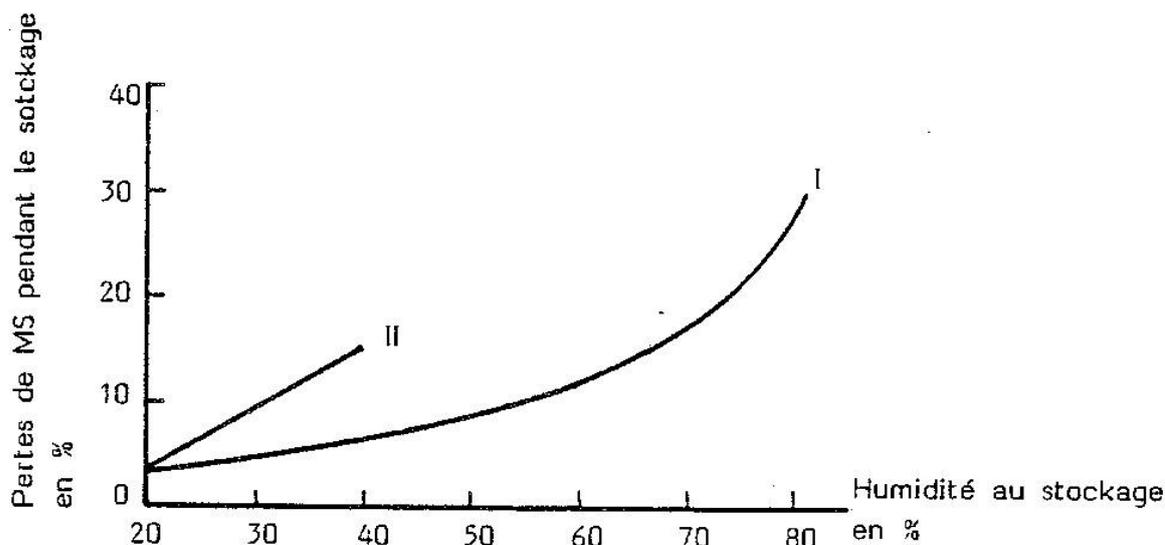
Selon BOWES (1984) qui a réalisé un important travail de synthèse sur les phénomènes d'auto-échauffement, l'auto-inflammation de foins engrangés humides a été maintes fois signalée avec les modifications des techniques de récolte survenues depuis la seconde guerre mondiale, la majorité des incendies se produiraient après 2 à 6 semaines de stockage, avec une fréquence plus importante entre 4 et 5 semaines. En 1985, plusieurs cas d'incendie de granges sont survenus en France, ayant eu, semble-t-il, pour origine, l'auto-inflammation de foins humides conditionnés en balles rondes (communications personnelles); des ensilages mal conservés en silos tours, à l'image des foins humides, peuvent également s'auto-enflammer, la lutte contre ce type d'incendie nécessitant des précautions particulières (MURPHY, 1982).

Fort heureusement, ces phénomènes ne constituent pas la règle ; l'échauffement s'accompagne par contre, toujours du séchage du fourrage jusqu'à la teneur en eau d'équilibre avec l'air ambiant, soit environ 15-20 % (DAVIES et WARBOYS, 1978; NASH et EASSON, 1977) et de pertes de MS et de valeur alimentaire.

### 2.1.2. Pertes de matière sèche et de valeur alimentaire

Les pertes de matière sèche durant le stockage augmentent avec la teneur en eau à l'engrangement : PARKE, DUMONT et BOYCE (1978) à partir des chiffres de KLINNER (1976) ont donné à cette loi de variation une allure exponentielle (cf. figure 2, courbe I).

Figure 2 : Pertes de matière sèche selon l'humidité du fourrage au stockage (adapté de PARKE, DUMONT et BOYCE, 1978)



Le tableau 8 rassemble d'autres valeurs de pertes de MS, signalées dans la bibliographie, qui nous ont permis d'établir, par régression linéaire, l'équation suivante, donnant les pertes de MS en fonction de l'humidité initiale du fourrage :

$$\text{Pertues de MS (en \%)} = 0,63 \times \text{humidité (en \%)} - 8,6 \quad r = 0,80$$

qui correspond à la droite II de la figure 2, soit des pertes nettement supérieures à celles données par PARKE, DUMONT et BOYCE (1978).

D'autres variables interviennent certainement sur la valeur des pertes de MS: la richesse en sucres et en azote du fourrage, le volume et la densité du tas (JARRIGE, 1962), mais les indications trop fragmentaires recensées dans la bibliographie ne nous ont pas permis d'intégrer ces paramètres dans le calcul.

Ces pertes concernent en tout premier lieu les glucides solubles (FESTENSTEIN, 1966 ; BUTLER et BAILEY, 1973) dont la teneur peut diminuer de 80 % (DAVIES et WARBOYS, 1978) ; les constituants pariétaux (hémicellulose et cellulose) et les matières azotées sont également affectés dans des proportions variables selon l'importance de l'échauffement (HOFFMAN et BRADSHAW, 1937 ; FESTENSTEIN, 1966). Les pertes de MS peuvent résulter de l'activité enzymatique végétale, du développement des microorganismes et de l'oxydation de certains constituants du fourrage (BUTLER et BAILEY, 1973).

L'échauffement du fourrage humide provoque, par réaction de Maillard, la formation de composés azotés indigestibles qui donnent au foin sa couleur brune (VAN SOEST, 1965 ; GOERING et VAN SOEST, 1973) ; il s'ensuit une diminution importante de la valeur azotée des fourrages (cf. tableaux 9 et 10). Le degré de brunissement du foin (DIJKSTRA et VAN DER SCHAAF, 1955), la teneur en azote de l'Acid Detergent Fiber (ADF), la teneur en azote soluble dans la pepsine, peuvent permettre de prévoir au laboratoire, la digestibilité des matières azotées des foins échauffés (DEMARQUILLY et ANDRIEU, 1986).

Tableau 8 : Pertes de matière sèche durant le stockage selon l'humidité du fourrage

Humidité en % de la MH	Pertes de MS en %	AUTEURS	Humidité en % de la MH	Pertes de MS en %	AUTEURS
20	3,3	DIJKSTRA (1957)	35,5	19,2	CURRENCE, SEARCY et MATCHES (1976)
25	5		23,9	10,6	
33	12,6	DAVIES et WARBOYS (1978)	24,5	3,3	
24	4,3		25,8	5,9	
28	11,7	DULPHY et ZWAENEPOEL (1978)	44,8	25	MARLEY, WILCOX et DANLEY (1976)
27	6,6		31,3	17,6	
34	10,2		21,3	6,5	
27	8,8		33	10,3	
34	9,4	JOHNSON et al. (1983)	30,5	11,9	ZWAENEPOEL et al. (1979)
23	2,8		38,2	11,1	
21	0,4		32,2	10,4	
15	3,6	KERR et BROWN (1965)	22,9	9	
31	10,8		18	8	BUTLER et BAILEY (1973)
33	8,8				
40	17,5				

Tableau 9 : Variations de digestibilité et d'ingestibilité selon l'échauffement des foins (d'après MONROE et al., 1946)

FOURRAGE	DIGESTIBILITE (en %)			INGESTIBILITE (en indice/au foin normal)
	M.S.	M.A.T.	C.B.	
Foin normal	60	67	41	100
Foin brun	41	16	36	75
Foin noir	27	3	14	50

Tableau 10 : Modifications de composition chimique et de digestibilité entraînées par l'échauffement des foins (ANDRIEU et DEMARQUILLY, 1986 ; d'après DIJKSTRA et VAN DER SCHAAF, 1955)

	Nombre de comparaisons	Composition (g/kg M.S.)		Digestibilité (p. 100)		
		M.A.T.	Cellulose brute	Matière organique	Matières azotées	Cellulose brute
Foin normal	3	136	319	59,6	58,7	66,6
Foin légèrement échauffé		140	297	56,8	39,6	65,8
Différence		+ 4	- 22	- 2,8	- 19,1	- 0,7
Foin normal	3	126	322	60,6	56,0	66,6
Foin chauffé		130	305	53,5	23,2	64,4
Différence		+ 4	- 17	- 7,1	- 32,8	- 2,2
Foin normal	2	156	299	59,3	59,6	66,8
Foin fortement chauffé		162	259	45,7	10,1	58,8
Différence		+ 8	- 40	- 13,5	- 49,5	- 8,0
Foin légèrement chauffé	1	146	331	65,2	47,0	79,5
Foin très fortement chauffé		156	292	43,5	0,9	57,1
Différence		+ 10	- 39	- 21,7	- 46,1	- 22,4

### 2.1.3. Microflore et risques pathogènes

#### 2.1.3.1. Champignons

Les expériences de laboratoire de FESTENSTEIN et al. (1965) montrent que la composition de la mycoflore en fin de stockage dépend principalement de la teneur en eau initiale du fourrage ; prédominant par exemple à 26 % de teneur en eau, les *Aspergillus* du groupe *glaucus* ; de 28 à 31 % *Aspergillus versicolor*, *Emericella nidulans* et *Scopulariopsis brevicaulis* ; à 34 %, des mucorales dont *Absidia* sp ; à 40 %, *Aspergillus fumigatus* et *Mucor pusillus* ; à 47 %, *Thermomyces lanuginosus* et *Paecilomyces variotii* ; GREGOREY et LACEY (1963) en analysant les émanations de spores de 17 échantillons de foins moisiss ont surtout rencontré *Aspergillus fumigatus*, *A. gr. glaucus* spp, *Emericella nidulans*, *Mucor pusillus*, *Absidia* spp, *Penicillium* spp ainsi que *Thermomyces lanuginosus* et *Aspergillus fumigatus* dans 14 échantillons de foins très échauffés, associés à des cas d'allergies pulmonaires (farmer's lung disease).

La plupart de ces espèces présentent des risques toxicologiques (MOREAU, 1968 ; LE BARS et ESCOULA, 1974); cet aspect sera évoqué dans le Chapitre I à propos des espèces les plus fréquemment rencontrées dans nos travaux.

Les foins secs, apparemment récoltés dans de bonnes conditions, ne sont pas exempts de développements fongiques. LE BARS et ESCOULA (1974) à partir de l'analyse de 238 échantillons ont défini 3 espèces fréquentes : *Aspergillus repens* (= *Eurotium herbariorum*), *A. versicolor* et *Scopulariopsis brevicaulis* et 4 espèces occasionnelles : *Eurotium amstelodami*, *Wallemia ichthyophaga*, *Eurotium ruber* et *E. chevalieri* var. *intermedius* ; du point de vue

toxicologique, près de la moitié des espèces isolées sont réputées dangereuses pour l'animal, deux espèces méritant une attention particulière: *Aspergillus versicolor* et *Aspergillus ochraceus*.

GREGORY et LACEY (1963) ont principalement isolé sur 28 échantillons de "bons foin" *Aspergillus glaucus* (*Eurotium*), *Cladosporium spp* et *Hemispora stellata* (= *Wallemia sebi*).

La présence de levures est constatée sur les foin échauffés (KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW, 1980 ; WOOLFORD et TETLOW, 1984 ; les levures n'ont reçu toutefois que peu d'attention dans les travaux sur les foin humides, vraisemblablement parce que peu d'entre elles sont thermophiles (TANSEY et BROCK, 1978) et que leur ingestion ne s'accompagne normalement pas d'effets pathogènes (MOSSSEL, 1962).

### 2.1.3.2. Bactéries

*Bacillus calfactor* (espèce non reconnue) capable de croître à 75°C a été isolée sur du foin échauffé par MIEHE (1907). FESTENSTEIN et al. (1965) signalent l'augmentation importante durant le premier jour de stockage de microcoques se développant à 25°C et formant sur gélose des colonies punctiformes jaunes orangées. Ils régressent ensuite et font place à des bactéries mésophiles et thermophiles, dont FESTENSTEIN et al. ont isolé une espèce très abondante : *Bacillus licheniformis*.

La présence de bactéries thermophiles en nombre supérieur à 10<sup>9</sup> par gramme de MS est signalée par WOOLFORD et TETLOW. (1984). KASPERSSON et al. (1984) constatent dans des foin modérément échauffés (50°C) le remplacement au cours du stockage de bacilles Gram - par des coques Gram + (*Micrococcus*) et en moindre proportion par des bacilles Gram +.

### 2.1.3.3. Actinomycètes

Des foin échauffés peuvent contenir plus de 10<sup>9</sup> spores d'actinomycètes mésophiles et thermophiles par gramme de matière sèche (GREGORY et LACEY, 1963) ; les espèces les plus fréquentes ont été identifiées par CORBAZ, GREGORY et LACEY (1963), FESTENSTEIN et al. (1965), LACEY et DUTKIEWICZ (1976), LACEY (1981).

Il s'agit de *Thermoactinomyces vulgaris* (identifiée à l'origine sous le nom de *Micromonospora vulgaris*), de *Micropolyspora faeni* (identifiée à l'origine sous le nom de *Thermopolyspora polyspora*, puis de *Thermopolyspora faeni*), de *Thermopolyspora glauca*, de *Streptomyces thermoviolaceus*, *S. fradiae*, *S. olivaceus*, *S. griseoflavus*, *S. albus*, *Saccharomonospora viridis*, et de *Nocardia sp.*

L'aptitude des actinomycètes thermophiles *Thermoactinomyces vulgaris* et de *Micropolyspora faeni* à produire des antigènes FLH (farmer's lung hay), responsables d'allergies pulmonaires chez l'homme et le bétail, a été démontrée par PEPYS et al. (1963) ; l'inhalation des spores, capables de pénétrer profondément à l'intérieur des voies pulmonaires en raison de leur faible taille (1 micron), serait à l'origine de cette maladie. Les conditions de production des antigènes FLH dans les foin humides, ont été étudiées par GREGORY et al. (1964).

### 2.1.4. Bilan synthétique du stockage des foin humides

Nous l'emprunterons à KLINNER (1976), pour qui la température atteinte, pendant l'échauffement constitue le meilleur indicateur du niveau de détérioration des foin humides :

Seuils approximatifs de température	Effets
25°C	perte accélérée de matière sèche et d'éléments nutritifs - léger développement de moisissures inoffensives
30°C	développement accéléré de moisissures inoffensives
au-delà	développement de microorganismes pathogènes responsables :
40°C	<ul style="list-style-type: none"> <li>d'avortements mycosiques</li> </ul>
45°C	<ul style="list-style-type: none"> <li>de maladies pulmonaires chez l'homme (farmer's lung)</li> </ul>

72°C

disease)  
oxydation chimique menant à l'auto-inflammation

## 2.2. DETERMINISME DES MECANISMES DE DETERIORATION

### 2.2.1. Caractéristiques physico-chimiques du fourrage

#### Composition chimique

Le fourrage contient en proportions variables de l'azote et du carbone métabolisables par les microorganismes ; le carbone se présente sous des formes diverses plus ou moins facilement assimilables : glucides solubles, substances pectiques, hémicellulose, cellulose et lignine.

#### Température

La fenaison s'échelonnant de Mai à Septembre, la température du fourrage à l'engrangement peut varier de 15 à 30°C ; elle augmente ensuite très rapidement dès les premiers jours de stockage.

#### Potentiel hydrique

L'eau contenue dans un substrat se trouve sous forme d'eau liée, retenue par les sels dissous, les protéines, les glucides, et sous forme d'eau libre, disponible pour les microorganismes (BOTTON et al., 1985).

La quantité d'eau libre disponible, correspond au potentiel hydrique du substrat (en anglo-saxon : water activity ( $a_w$ )) défini par le rapport :  $a_w = p/p_0$

où  $p$  = pression partielle de vapeur d'eau du substrat

$p_0$  = pression de vapeur saturante à la même température

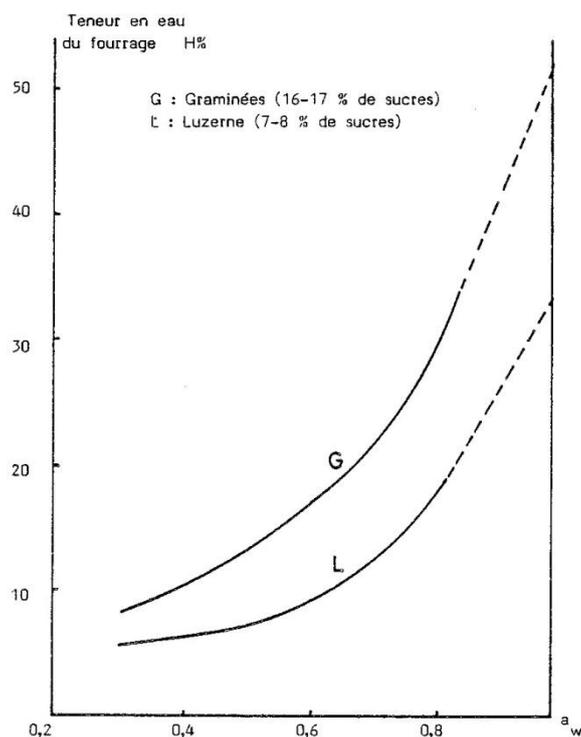
$a_w$  et l'humidité relative d'équilibre (H.R.) sont liées par la relation : H.R. en % = 100 x  $a_w$

Le potentiel hydrique  $a_w$  dépend de la composition chimique du fourrage, de sa teneur en eau et de la température (ITCF, BCMEA et EDE, 1985).

A teneur en eau égale :

- le potentiel hydrique de la luzerne est supérieur à celui des graminées, plus riches en sucres (cf. figure 3, pour  $T = 20^\circ\text{C}$ ),
- le potentiel hydrique des fourrages tardifs est supérieur à celui des fourrages jeunes, plus riches en sucres (CNEEMA, ITCF, 1966).

Figure 3 : Potentiel hydrique de fourrages selon leur teneur en eau, à 20°C (ITCF, BCMEA et EDE, 1985)



Les corrections à appliquer à l' $a_w$  pour des températures différentes de 20°C sont respectivement (ITCF, BCMEA et EDE, 1985) :

- Graminées : + 0,02 par °C en plus (-0,02 par °C en moins)
- Luzerne : + 0,03 par °C en plus (-0,03 par °C en moins)

A titre d'exemple, un potentiel hydrique de 0,9 correspond environ à une teneur en eau de 26 % pour la luzerne et de 42 % pour les graminées à 20°C (cf. figure 3).

## 2.2.2. Mécanismes de détérioration

### 2.2.2.1. Respiration du végétal

En conditions aérobies, les cellules d'un végétal fraîchement coupé continuent à vivre et à respirer ; l'intensité de ce processus décroît au cours de la dessiccation et finit par s'arrêter (REES, 1982).

La teneur en eau correspondant à l'arrêt de la respiration a été estimée à 38 % par FLEISCHMANN (1912), à 26 % par GREENHILL (1959), entre 20 et 27 % par WORD et PARKER (1971).

Selon tous les chercheurs cités, la poursuite de la respiration du végétal (maintenu dans l'obscurité pour s'affranchir des effets de la photosynthèse), s'effectue principalement au détriment des réserves glucidiques selon la réaction classique :



Le quotient respiratoire étant voisin de l'unité, l'énergie libérée peut être évaluée par la mesure de l'oxygène consommé ou du gaz carbonique produit.

Pour estimer les pertes de MS au champ pendant le fanage, dues à la respiration, GREENHILL (1959) a déterminé, pendant leur dessiccation, l'intensité respiratoire (IR) d'organes (feuilles, tiges et plantes entières) de graminées et de légumineuses, placés à 20°C ; SIMPSON (1961) a montré que l'écrasement du végétal, tel celui produit par une faucheuse conditionneuse, provoquait une légère augmentation de l'IR.

WOOD et PARKER (1971) ont mesuré sur plusieurs jours et à différentes températures l'IR de fourrages en cours de dessiccation; ils ont constaté que de 25 à 45°C, l'IR, après un pic initial, se stabilisait à une valeur ne dépendant plus que l'humidité H du fourrage, valeur donnée par la formule :

$$\text{IR} = 0,056 \text{ H} - 1,53 \quad (\text{H en } \%)$$

(mg CO<sub>2</sub> / g MS.h)

Par contre, de 5 à 25°C, l'IR variait linéairement avec H et exponentiellement avec la température T :

$$\text{IR} = 0,177 e^{0,069T} \times (0,056 \text{ H} - 1,53)$$

(mg CO<sub>2</sub> / g MS.h)

Après avoir estimé les pertes de MS correspondantes, WOOD et PARKER concluent, sur le plan pratique, à la possibilité d'utiliser la chaleur générée par la respiration du fourrage pour améliorer l'efficacité de la ventilation en grange.

Le rôle joué par la respiration dans l'échauffement des foin humides ne paraît pas avoir donné lieu à des études particulières ; NASH (1978) évoque toutefois l'hypothèse selon laquelle le premier pic d'échauffement serait dû au métabolisme respiratoire encore actif du végétal ; cette opinion est reprise par KASPERSSON et al. 1984 .

### 2.2.2.2. Développement des microorganismes

### 2.2.2.1. Conditions de développement

La nature et l'intensité du développement des microorganismes sont régies essentiellement par les conditions hydrothermiques de stockage en raison des exigences spécifiques des espèces à l'égard de la température et du potentiel hydrique du substrat (LE BARS, 1976).

#### Température

Une espèce donnée peut être caractérisée par ses trois températures de croissance : minimale ( $T_m$ ), optimale ( $T_o$ ) et maximale ( $T_M$ ) qui, elles-mêmes, varient légèrement avec la composition et le potentiel hydrique du milieu, la concentration en oxygène, ...

Selon les valeurs des températures minimales et maximales de croissance, les microorganismes sont qualifiés de :

- Psychrophiles                       $- 8^{\circ}\text{C} < T < 30^{\circ}\text{C}$
- Mésophiles                           $5^{\circ}\text{C} < T < 45^{\circ}\text{C}$
- Thermotolérants                   $T_m < 20^{\circ}\text{C}$        $T_M > 50^{\circ}\text{C}$
- Thermophiles                       $T_m > 20^{\circ}\text{C}$        $T_M > 50^{\circ}\text{C}$

Cette classification, empruntée à SEMENIUK (1954), COONEY et EMERSON (1964), et courante dans les travaux sur la flore fongique, varie d'ailleurs sensiblement selon les auteurs qui utilisent également la terminologie « psychrotrophe », « thermotrophe » et « thermopréfèrent ».

#### Potentiel hydrique

Les microorganismes présentent des exigences spécifiques vis-à-vis de l' $a_w$  minimal pour leur croissance.

SEMENIUK (1954) classe sur ce critère les microorganismes en :

- « Hydrophytes » = hydrophiles                       $a_w > 0,9$
- « Mésophytes »     $0,8 < a_w < 0,9$
- « Xérophytes » = xérophiles                               $a_w < 0,8$

Selon COLE et KENDRICK (1981), sont qualifiés de xérophiles, les microorganismes capables de se développer à un potentiel hydrique inférieur à 0,85. BOTTON et al. (1985) appellent champignons de stockage, les champignons se développant à  $a_w < 0,75$ .

A partir des données recensées par SEMENIUK (1954), TANSEY et BROCK (1978), CÔLE et KENDRICK (1981), BOTTON et al. (1985), LARPENT et LARPENT- GOURGAUD (1985), nous avons rassemblé dans le tableau 11 les conditions hydrothermiques de croissance de microorganismes fréquemment rencontrés dans les "bons" foins et les foins échauffés.

Tableau 11 : Conditions hydrothermiques de croissance de microorganismes rencontrés dans les "bons" foins et les foins échauffés (selon différents auteurs)

TEMPERATURE		POTENTIEL HYDRIQUE MINIMAL	
Psychrophile - psychrotrophe	Aspergillus gr. glaucus sp Cladosporium sp. Mucor racemosus Pénicillium sp.	$a_w > 0,9$	Bactéries et Actinomycètes La plupart des levures Rhizopus stolonifer Mucor spinosus, M. racemosus Cladosporium sp. Cunninghamella elegans
Mésophile	Aspergillus flavus A. niger, A. oryzae Eurotium herbariorum Rhizopus oryzae		
Thermotolérant	Aspergillus fumigatus Emericella nidulans Absidia corymbifera Rhizopus sp. Bacillus subtilis B. megaterium B. licheniformis B. pumilus	$0,75 < a_w < 0,90$	Certaines levures Paecilomyces variotii Aspergillus flavus A. niger, A. fumigatus A. ochraceus Penicillium sp.
		$a_w < 0,75$	Wallemia sebi Aspergillus gr. glaucus sp. Eurotium chevalieri E. ruber E. herbariorum E. amstelodami Monascus sp.
Thermophile	Thermomyces lanuginosus Rhizomucor miehei R. pusillus Thermoactinomyces vulgaris Micropolyspora faeni Streptomyces sp. Bacillus stearothermophilus B. calfactor		

Les valeurs données, en particulier l' $a_w$  varient sensiblement selon les références et n'ont, de ce fait, qu'un caractère indicatif. Les moisissures apparaissent nettement plus tolérantes aux faibles potentiels hydriques que les bactéries, les actinomycètes et les levures ; leur xérophilie doit donc leur permettre de coloniser des substrats relativement secs. La température maximale de croissance de la flore fongique n'excède pas 60-62°C pour *Thermomyces lanuginosus*, l'une des espèces fongiques les plus thermophiles avec *Thermoascus aurantiacus*, *Chaetomium thermophile*, soit un niveau thermique nettement inférieur à la température maximale de croissance de *Bacillus stearothermophilus* (70-75°C) et de *Thermoactinomyces vulgaris* (70°C) (TANSEY et BROCK, 1978).

Le développement sélectif de la microflore va donc être gouverné par l'évolution des conditions hydrothermiques durant le stockage, les températures élevées pouvant, en outre, avoir une action létale sur les espèces thermosensibles, les spores sexuées s'avérant à ce titre plus résistantes que les spores asexuées et surtout que le mycélium (FERGUS et AMELUNG, 1971 ; FERGUS, 1982). Des compétitions interspécifiques peuvent également conditionner l'allure du cortège floristique (LESAGE et al., 1985).

Le potentiel hydrique minimal au-dessous duquel aucun microorganisme ne peut assurer de croissance est de 0,60 (BOTTON et al., 1985), ce qui correspond, pour la luzerne et les graminées à 20°C, à des teneurs en eau respectives de 9 % et de 16 % (cf. figure 3), soit des valeurs difficiles à obtenir dans la pratique.

Un potentiel hydrique de 0,7 apparaît toutefois compatible avec le stockage prolongé de céréales et de fourrages (NASH, 1978 ; REES, 1982), sachant que les teneurs en eau correspondantes à respecter varieront avec la température de stockage; le foin conservé pendant la période estivale doit, à ce titre, être plus sec (H : 16 %) que celui conservé uniquement durant l'hiver (H = 18 %) (NASH, 1972).

#### 2.2.2.2. Conséquences du développement des microorganismes

##### *Pertes de matière sèche*

Le développement des microorganismes est à l'origine des pertes de MS accompagnant l'échauffement des foins humides (JAMES, RETTGER et THOM, 1928; MELVIN et SIMPSON, 1963 ; FESTENSTEIN, 1966).

##### *Thermogénèse*

L'aptitude de plusieurs *Bacillus*, en particulier *B. subtilis*, à élever, en présence d'air, la température de grains préalablement stérilisés a été mise en évidence par JAMES, RETTGER et THOM (1928). GILMAN et BARRON (1930) ont montré que l'inoculation en flacons DEWAR de spores d'*Aspergillus niger*, d'*A. flavus* et d'*A. fumigatus* sur des céréales humides stérilisées, pouvait élever la température du grain, respectivement pour chaque espèce à 52.2°C, 51.1°C et 53.2°C, après 4 à 5 jours d'incubation.

HARRISSON J.W. (1934-1935), au cours d'expériences analogues, a comparé le pouvoir thermogène de 14 espèces fongiques isolées de foins moisissés ; *Aspergillus flavus*, *A. terreus*, *A. niger*, *Cunninghamella elegans* et deux espèces appartenant au genre *Rhizopus* se sont révélées les plus thermogènes sur un substrat de luzerne, au cours de leur phase de croissance active. L'enrichissement en azote du substrat (surtout par apport d'asparagine) peut stimuler la thermogénèse des espèces fongiques (GASKILL et GILMAN, 1939).

L'élévation de la température de substrats humides à 70-73°C est, d'autre part, bien corrélée avec le développement de bactéries sporogènes (CARLYLE et NORMAN, 1941). Pour SEMENIUK (1954), la température la plus élevée que peut produire un microorganisme, correspond à sa température maximale de croissance.

Les propriétés thermogènes des microorganismes ont été exploitées pour des mesures d'activité métabolique et de croissance grâce aux techniques microcalorimétriques (SENEZ et BELAICH, 1963 ; FUJITA et al., 1976 ; HOFFNER, MEREDITH et KEMP, 1985). Selon HERMAN et al. (1980), la durée de la thermogénèse et la puissance thermique maximum peuvent concourir, avec les autres techniques d'identification, à la taxonomie des bactéries.

#### 2.2.2.3. Phénomènes physico-chimiques

##### *Réaction de Maillard*

Un brunissement non enzymatique (réaction de Maillard) se produit sous l'action de la chaleur dans les aliments protéiques contenant des glucides réducteurs (ex.: produits de boulangerie et de biscuiterie, céréales grillées,...); la vitesse de réaction est maximale dans les produits à humidité intermédiaire (CHEFTEL, CUQ et LORIENT, 1985).

Selon ces mêmes auteurs, la réaction de Maillard comporte 3 étapes et commence par des condensations entre des groupes aminés non ionisés (lysine) et des groupements carbonyles de sucres réducteurs ; les produits finaux sont des cétosamines ou aldosesamines (produits d'amadori), de l'ammoniac, des composés volatils (et parfois aromatiques), des pigments azotés bruns ou noirs : les mélanoidines. Des pertes en lysine disponible sont toujours observées. Les produits

d'amadori inhiberaient en outre, chez l'homme, l'absorption intestinale de certains acides aminés ; la digestibilité de la partie protéique serait également diminuée.

Ces phénomènes varient avec l'intensité de la réaction de Maillard. Des effets favorables ont été décrits (augmentation de l'appétence - diminution de la teneur en azote soluble).

La réaction de Maillard s'amorce dès 50°C (WIERINGA et al., 1961), 60°C (GOERING et VAN SOEST, 1973), 50-60°C (DUBOURG et DEVILLERS, 1962) et augmente d'intensité avec la température et le temps d'exposition. DUBOURG et DEVILLERS ont constaté, dans le domaine de l'industrie sucrière, que la réaction de Maillard entre des acides aminés et des sucres réducteurs (préexistants ou formés par hydrolyse acide du saccharose) s'accompagnait d'un effet exothermique marqué ; certains incendies de silos pourraient être dus à la réaction de Maillard.

#### *Oxydation humide ("wet oxidation")*

Pour beaucoup d'auteurs, il est clair que l'échauffement des foin au-delà de 70-75°C ne peut pas être le résultat d'un phénomène biologique, les microorganismes les plus thermophiles rencontrés étant inhibés à ce niveau de température (CURRIE et FESTENSTEIN, 1971 ; FESTENSTEIN, 1971 ; BOWES, 1984). Selon WATSON et NASH (1960), "il y a augmentation de température avec la formation de substances telles que l'acide formique et l'acide acétique, jusqu'à une température critique de 95°C, au-delà de laquelle se produit de nouveau une élévation rapide de température à un niveau où le fourrage s'enflamme souvent avec une violence explosive, en cas de mise à l'air (vers 280°C)".

Cette théorie n'a pas été confirmée par les travaux de CURRIE et FESTENSTEIN (1971) ; en effet, ces auteurs ont pu reproduire au laboratoire dans des conditions parfaitement adiabatiques, l'auto-échauffement de fourrages à 100°C et même 165°C, en contrôlant les caractéristiques (débit, température, hygrométrie) de l'air nécessaire à la poursuite de la réaction ; au cours de ces expériences, les principales modifications chimiques constatées ont été la quasi totale disparition des sucres solubles initiaux ainsi qu'une certaine décomposition de la cellulose et surtout des hémicelluloses en isomères et polymères de glucose et de pentose.

CURRIE et FESTENSTEIN (1971) et BOWES (1984) estiment que l'échauffement au-delà de 70°C résulte d'une lente réaction exothermique d'oxydation du fourrage en présence d'eau ("wet oxidation") dont la cinétique et les implications thermo-chimiques sont encore imparfaitement connues.

Cet échauffement ne peut croître et mener à l'auto-inflammation que si les pertes de chaleur par conduction et convection sont inférieures à la chaleur générée par la réaction exothermique d'oxydation; BOWES en conclut à l'existence de valeurs critiques pour l'humidité du fourrage et les dimensions du tas (de l'ordre de 4,5 m selon MUSSELMAN (1937)), mais sans pouvoir les chiffrer avec précision, en raison de discordances entre les valeurs théoriques et celles réellement observées. Sur le plan pratique, BOWES recommande, à l'exemple de HARRINGTON (1945) et de CACERES (1956), d'ouvrir les tas atteignant 70°C, si possible en présence des pompiers.

### **3. METHODES CHIMIQUES DE PREVENTION - LES CONSERVATEURS**

Les différents types de conservateurs pour foin humides vont être examinés dans ce chapitre.

Auparavant, nous rappellerons les mécanismes généraux d'action des produits conservateurs alimentaires (auxquels les conservateurs pour foin peuvent être assimilés), et nous donnerons les méthodes d'essais de laboratoire et en conditions réelles, utilisées pour évaluer l'efficacité des conservateurs pour foin.

### 3.1. RAPPELS SUR LES MECANISMES GENERAUX D'ACTION DES PRODUITS CONSERVATEURS ALIMENTAIRES

(Références : LUECK, 1980 ; BOTTON et al., 1985 ; LARPENT et LARPENT-GOURGAUD, 1985 ; PITT, 1981)

Les produits conservateurs peuvent agir sur la microflore de deux manières :

- par destruction ou inhibition directe,
- en établissant dans le milieu des conditions défavorables à la croissance de la microflore, ces deux types d'action pouvant d'ailleurs se combiner.

#### 3.1.1. Destruction ou inhibition directe

Les produits dotés de cette propriété doivent être placés, en concentration suffisante, au contact immédiat de la microflore à contrôler.

Ils peuvent agir selon les cas :

- sur la paroi cellulaire et/ou sur la membrane cellulaire ;
- sur l'activité enzymatique ou la structure génétique.

Le deuxième type d'action est le plus fréquemment rencontré; il peut s'agir de l'inhibition des enzymes réglant le métabolisme de base des cellules ou de ceux conduisant à la synthèse des protéines ou des acides nucléiques. Tous les microorganismes ne réagissent pas de façon identique devant ces produits ; aux différences d'ensemble entre champignons (Eucaryotes) et bactéries (Procaryotes), viennent s'ajouter les résistances ou sensibilités plus ou moins grandes de familles, d'espèces et même de souches. Les comparaisons d'efficacité entre produits conservateurs doivent donc s'appuyer sur des spectres d'activité, donnant pour chaque espèce envisagée, les concentrations inhibitrices selon les conditions d'emploi choisies (pH, température, ...).

La combinaison de produits conservateurs à spectres complémentaires d'activité permet généralement d'obtenir un spectre d'activité plus large. Il peut y avoir addition ou synergie des effets inhibiteurs des produits pris isolément ; dans ce dernier cas, l'effet inhibiteur du mélange est atteint à une concentration plus basse que celle de chacun des produits s'ils agissaient seuls.

#### 3.1.2. Modifications physico-chimiques du substrat

##### *Abaissement du potentiel hydrique*

Le potentiel hydrique ( $a_w$ ) d'un milieu peut être abaissé par l'addition de substances à fort pouvoir osmotique (sel, par ex.); la concentration utilisée détermine le potentiel hydrique final et contrôle par conséquent le développement des espèces.

##### *Réduction de la pression partielle d'oxygène*

La réduction de la pression partielle d'oxygène (atmosphère confinée, injection de CO<sub>2</sub>, de N<sub>2</sub>, ...) peut limiter la croissance des microorganismes aérobies ; certains d'entre eux peuvent cependant croître en présence de teneurs en oxygène très faibles; aussi, cette technique s'utilise en général en liaison avec un autre agent inhibiteur (froid, produit conservateur, par ex.).

##### *Modification du pH*

Le pH du milieu peut être abaissé (pH acide) ou relevé (pH basique) ; l'effet sur la microflore ne sera pas le même dans l'un ou l'autre cas. Les bactéries s'accommodent, en effet, mieux des pH élevés que les champignons qui, à l'inverse, tolèrent plus facilement des pH acides que les bactéries. Certains champignons peuvent même continuer leur croissance sur des milieux à pH nettement inférieur à 4.

L'inhibition de la microflore par action sur le pH exige donc d'imposer des pH extrêmes, très éloignés de la neutralité, qui ne seront souvent obtenus qu'avec l'emploi de concentrations élevées de substances acides ou basiques avec le risque de favoriser le développement de certains

microorganismes. En plus du coût de traitement, peuvent alors venir s'ajouter des problèmes de toxicité ou de saveur.

Aussi, l'effet conservateur n'est-il généralement pas recherché par une action directe sur le pH ; les conservateurs acides, par exemple, agissent plutôt sous leur forme indissociée ; c'est le cas de l'acide propionique ou de l'acide sorbique.

Le taux de dissociation de ces acides faibles, diminuant avec le pH du milieu, leur efficacité est meilleure en milieu acide ou légèrement acide (avec une constante de dissociation de  $1,32 \times 10^{-5}$ , l'acide propionique se présente à 71 % sous forme indissociée, à pH 4,5).

## 3.2. METHODES D'ETUDE DES CONSERVATEURS POUR FOINS HUMIDES

Schématiquement, deux niveaux d'évaluation peuvent être mis en œuvre à partir d'essais :

- en laboratoire, sur milieux de culture et sur petits lots de foin,
- en conditions réelles.

### 3.2.1. Essais de laboratoire

#### Sur milieux de culture

Dans le cas de la flore fongique, cette méthode permet de déterminer l'influence inhibitrice du produit sur la germination des spores et sur la croissance des thalles des espèces choisies ; PELHATE (1977) ajoute le produit à tester au milieu nutritif (extrait de malt gélosé) au moment de la répartition en boîtes de Pétri ; les suspensions de spores sont apportées au moment du coulage ; par contre, les fragments de mycélium sont ensemencés sur milieu refroidi. Les figures 4 et 5 donnent, par exemple les résultats obtenus avec l'acide benzoïque (PELHATE, 1977).

Figure 4 : Répression de la croissance des moisissures par l'acide benzoïque ; les taux de croissance sont appréciés après une semaine d'incubation à 22°C (PELHATE, 1977)

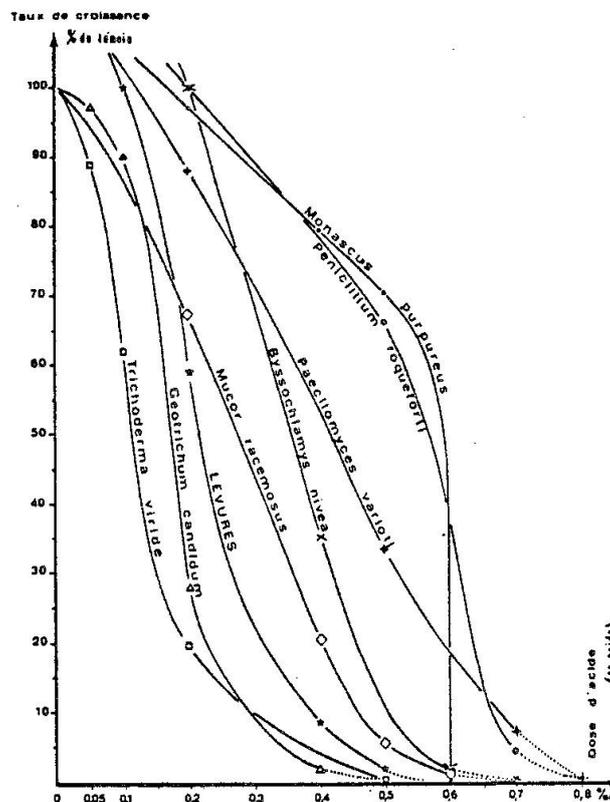


Figure 5 : Inhibition de la germination des spores par l'acide benzoïque. Les germinations sont appréciées après 5 et 10 jours d'incubation à 22°C. Les inhibitions peuvent être totales ou graduelles à partir d'un seuil spécifique de tolérance (PELHATE, 1977)

ESPECES	Dose d'acide incorporé au substrat (en poids)								
	0,00	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
<i>Aspergillus flavus</i>	[Bar chart showing germination inhibition for Aspergillus flavus]								
<i>A. fumigatus</i>	[Bar chart showing germination inhibition for Aspergillus fumigatus]								
<i>Hyphochlomya nivea</i>	[Bar chart showing germination inhibition for Hyphochlomya nivea]								
<i>Geotrichum candidum</i>	[Bar chart showing germination inhibition for Geotrichum candidum]								
<i>Monascus purpureus</i>	[Bar chart showing germination inhibition for Monascus purpureus]								
<i>Mucor racemosus</i>	[Bar chart showing germination inhibition for Mucor racemosus]								
<i>Paecilomyces variotii</i>	[Bar chart showing germination inhibition for Paecilomyces variotii]								
<i>Penicillium roqueforti</i>	[Bar chart showing germination inhibition for Penicillium roqueforti]								
<i>Trichoderma viride</i>	[Bar chart showing germination inhibition for Trichoderma viride]								
LEVURES	[Bar chart showing germination inhibition for yeasts]								

MOREAU C. et M. (1959) ont préconisé une méthode légèrement différente pour évaluer l'action répressive de produits fongicides sur la croissance linéaire de moisissures; dans cette méthode, le produit à tester, dont on craint le caractère thermolabile ou la mauvaise miscibilité à la gélose, est apporté en trois points équidistants sur le milieu gélosé, comportant le thalle fongique en cours de développement; l'efficacité inhibitrice du produit selon la concentration, se manifeste dans l'évolution de la croissance du thalle au cours des jours suivants.

LORD et LACEY (1978) ont principalement utilisé *Paecilomyces variotii* et des espèces du groupe *Aspergillus glaucus* (*Eurotium*) pour des essais de produits conservateurs pour foins humides à base d'acide propionique. PELHATE (1977), lors d'une étude sur la protection des fourrages ensilés, a testé l'efficacité d'un mélange d'acide benzoïque et d'acide formique, à l'égard d'une dizaine d'espèces dont *Aspergillus fumigatus*, *Mucor racemosus* et *Paecilomyces variotii*, fréquemment rencontrées sur les foins échauffés.

#### Sur petits lots de foin

Cette méthode d'essais a été employée par LACEY et LORD (1977) pour tester rapidement de nouveaux produits, obtenus par mélange de molécules connues.

LACEY et LORD ont mis en œuvre trois techniques d'échelles différentes pour des foins de teneurs en MS comprises entre 50 et 75 %, en utilisant indifféremment du foin humide frais ou du foin sec réhumidifié :

\* Foin (environ 25 g) placé dans des bocaux en verre de 0,5 l, aérés naturellement par diffusion et incubés à 25°C pendant 4 semaines ; un examen visuel permet de suivre le développement éventuel de moisissures.

\* Foin (environ 500 g) placé dans des flacons DEWAR isolés de 4,5 l, aérés naturellement par diffusion, dont on note journalièrement la température durant la période d'échauffement. A la fin de l'expérience, la pollution microbienne fait l'objet d'un examen visuel, puis d'une analyse plus poussée comportant, en particulier, la détermination du nombre de spores et des espèces

prédominantes de champignons et d'actinomycètes grâce à la technique du "Wind tunnel" (GREGORY et LACEY, 1963).

\* Foin (environ 20 kg) conservé dans des récipients isolés de 220 l, aérés par circulation d'air forcée (30 l d'air/h). Les mesures effectuées pendant et à la fin de l'expérience sont identiques à celles de la technique décrite ci-dessus.

Les produits conservateurs étudiés sont incorporés au fourrage, soit directement, soit dans l'eau de réhumidification, en cherchant à obtenir la meilleure répartition possible, tout en limitant les pertes de matière active (traitement sur le fourrage remué dans un sac de polyéthylène, utilisation d'un petit pulvérisateur, etc. ...).

Par la suite, LORD, CAYLEY et LACEY (1981) ont mis au point une autre technique permettant d'incorporer de façon homogène moins de 10 ml de matière active dans 1 kg de fourrage ; cette technique utilise une buse vibrante projetant le produit sur le fourrage mis en mouvement dans une "mini bétonnière" de laboratoire.

### 3.2.2. Essais en conditions réelles

Ce type d'essais se distingue des précédents par la mise en œuvre de quantités importantes de fourrages (plusieurs centaines de kg à plusieurs tonnes), récoltés et conservés selon les techniques agricoles classiques.

L'efficacité du conservateur testé est déterminée en comparant la conservation de fourrages traités et de fourrages témoins.

Les expérimentateurs ont fait appel, selon le cas, à un ou plusieurs témoins :

- témoin humide (CURRENCE et SEARCY, 1975; JOHNSON et MC CORMICK, 1976 ; NASH et EASSON, 1977 ; LACEY et al., 1978) ;
- témoin séché au sol (DAVIES et WARBOYS, 1978) ;
- témoins humide et séché au sol (NASH et EASSON, 1977; DAVIES et WARBOYS, 1978) ;
- témoins humide, ventilé et séché au sol (NEHRIR et al., 1978).

Différentes techniques sont employées pour suivre et faire le bilan de la conservation des fourrages composant un essai :

#### *Techniques thermométriques*

Dans la majorité des travaux réalisés, les échauffements éventuels sont mesurés à partir de thermocouples placés dans le fourrage et reliés à un appareil enregistreur.

Les auteurs rapportent de différentes manières l'allure des échauffements détectés, en donnant par exemple les courbes de température (CURRENCE et SEARCY, 1975 ; DAVIES et WARBOYS, 1978) et / ou en quantifiant l'importance et la cinétique de l'échauffement par l'une ou l'autre des indications suivantes :

- Température maximale (DAVIES et WARBOYS, 1978) et nombre de jours pour l'atteindre (LACEY et al., 1978 ; CURRENCE et SEARCY, 1975).
- Nombre de jours pendant lequel la température dépasse 35°C (CI-IARLICK et al., 1980).
- Somme des températures sur 28 jours (DAVIES et WARBOYS, 1978).
- Ecart moyen de température avec la température ambiante (NEHRIR et al., 1978).
- Somme des écarts de température avec la température ambiante (NASH et EASSON, 1977).

#### *Techniques biochimiques*

La méthode de mesure des pertes de M.S. durant la conservation par bilan direct est rarement décrite par les auteurs, vraisemblablement en raison de son apparente simplicité (pesée et mesure de la teneur en M.S. du fourrage, avant et après conservation) ; LACEY et al. (1978) ont employé,

outre le bilan direct, une méthode indirecte d'estimation des pertes de M.S. à partir de la variation de la teneur en matières minérales du fourrage.

Les paramètres chimiques et biochimiques permettant de caractériser la composition et la valeur nutritive (in vitro) des fourrages, sont nombreux ; les plus fréquemment employés par les chercheurs anglo-saxons figurent, sous leur terminologie propre dans le tableau 12, et peuvent être rapprochés de ceux utilisés dans nos travaux (cf. Matériels et Méthodes).

#### *Techniques "in vivo"*

Les techniques in vivo sont fréquemment utilisées à partir de moutons, placé en cages à métabolisme, pour mesurer l'ingestibilité et la digestibilité des fourrages (NICOULAUD, 1975 ; THORLACIUS et ROBERTSON, 1984) ; les contrôles sur bovins sont généralement moins analytiques et portent surtout sur l'ingestibilité des fourrages et les performances obtenues par des animaux en croissance ou en production laitière (JOHNSON et Mc CORMICK, 1976 ; NEHRIR et al., 1978 ; WEISS, COLENBRANDER et LECHTENBERG, 1982 ; JONES et al., 1985).

Tableau 12 : Analyses usuelles de la composition et de la valeur nutritive (in vitro) des foins

<b>TYPE D'ANALYSE (Terminologie anglo-saxonne)</b>	<b>CITEE par</b>
Water soluble carbohydrates (WSC) = glucides solubles	WOOLFORD et TETLOW (1984) ; NASH et EASSON (1977) ; DAVIES et WARBOYS (1978)
Carbohydrates = glucides	KNAPP, HOLT et LECHTENBERG (1976)
Nitrogen (N), crude Protein (CP) = azote, matières azotées totales	CURRENCE et SEARCY (1976) ; NEHRIR et al. (1978) ; KNAPP, HOLT et LECHTENBERG (1974) DAVIES et WARBOYS (1978)
Ammonium N	KNAPP, HOLT et LECHTENBERG (1976)
Ash = cendres (matières minérales)	KNAPP, HOLT et LECHTENBERG (1976) , LACE Y et al. (1978) ; WOOLFORD et TETLOW (1984)
Carotene	NEHRIR et al. (1978)
Hemicellulose	WEISS, COLENBRANDER et LECHTENBERG (1982)
Cellulose	WEISS, COLENBRANDER et LECHTENBERG (1982) ; KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW (1980)
Lignin	WEISS, COLENBRANDER et LECHTENBERG (1982) ; KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW (1980)
In Vitro (dry, organic) matter digestibility (IV (D,O) MD) = digestibilité in vitro de la matière sèche organique	CURRENCE et SEARCY (1975) ; KNAPP» HOLT et LECHTENBERG (1974) ; JONES et al. (1985) ; NASH et EASSON (1977) ; DAVIES et WARBOYS (1978)
In vitro dry matter disappearance (IVDMD) = digestibilité de la matière sèche	KNAPP, HOLT et LECHTENBERG (1976) ; NEHRIR et al. (1978)
In vitro cell wall disappearance (IVCWD) = digestibilité des parois	KNAPP, HOLT et LECHTENBERG (1976) ; NEHRIR et al. (1978)
Apparent digestibility by lignin ratio technique of; crude protein, ether extract, crude fiber, nitrogen free extract (digestibilité apparente par la technique du ratio de lignine des matières azotées totales, extrait étheré, cellulose brute, extractif non azoté)	JOHNSON et Mc CORMICK (1976)
Neutral detergent fiber (NDF)	KNAPP, HOLT et LECHTENBERG (1976)
Acid detergent fiber (ADF)	KNAPP, HOLT et LECHTENBERG (1976) ; NEHRIR et al. (1978) ; KASPERSSON et al. (1984) 5 WOOLFORD et TETLOW (1984)
Acid detergent fiber-N (ADF-N)	KNAPP, HOLT et LECHTENBERG (1976) ; WEISS, COLENBRANDER et LECHTENBERG (1982)
Acid detergent insoluble - N (ADIN)	KASPERSSON et al. (1984) ; WEISS, COLENBRANDER et LECHTENBERG (1982)
Pepsin insoluble nitrogen = azote insoluble dans la pepsine	CURRENCE et SEARCY (1975)
Insoluble nitrogen = azote insoluble	WOOLFORD et TETLOW (1984)
Metabolizable energy (ME) = énergie métabolisable	KASPERSSON et al. (1984)

### *Techniques microbiologiques*

Les techniques microbiologiques classiques avec dénombrement et détermination des espèces rencontrées sont le plus souvent employées (KASPERSSON et al., 1984 ; WOOLFORD et TETLOW, 1984 ; KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW, 1980).

LACEY et DUTKIEWICZ (1976) ont utilisé un échantillonneur ANDERSEN pour isoler plus facilement les actinomycètes des foins moisies. Dans cette méthode, le secouage du foin dans un flux d'air détermine la libération de nuages de spores qui sont recueillies et dénombrées directement sous le microscope ou identifiées après incubation en boîtes de Petri.

La mesure de la fréquence des zones moisies au sein d'échantillons prélevés par carottage du fourrage et examinés visuellement a été utilisée par NEHRIR et al. (1978), NASH et EASSON (1977), pour estimer la qualité microbiologique de fourrages traités.

JONES et al., 1985, ont employé la teneur en chitine, mesurée selon la méthode de RIDE et DRYSDALE (1972) pour comparer la pollution fongique de plusieurs lots de fourrage.

## **3.3. LES CONSERVATEURS POUR FOINS HUMIDES**

### **3.3.1. Chlorure de sodium**

Le salage des fourrages récoltés imparfaitement secs est une pratique vraisemblablement très ancienne dans les régions à climat pluvieux. GIRARDIN et DU BREUIL (vers 1850) indiquent "qu'en Angleterre, en Ecosse et dans beaucoup de pays du Nord, on a l'habitude de saler le foin au moment où on le met en meulons" et "qu'on doit recourir au même moyen lorsque les foins sont vasés, sablés, moisies, par suite de ces pluies abondantes qui n'arrivent que trop souvent dans les régions du Nord à l'époque de la récolte et du fanage".

Le salage des foins est également connu à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle en Suisse, en Belgique, et dans plusieurs régions de France dont la Bretagne, l'Auvergne, les Alpes et la Franche Comté (Anon., 1952). Pratique à l'origine empirique, le salage est devenu en France, grâce aux travaux et écrits de Maurice de SOLAGES (1928), une véritable méthode de conservation des foins connue d'ailleurs sous le nom de "méthode de Solages".

La méthode de Solages consiste à rentrer volontairement le fourrage "aux trois quarts sec, c'est-à-dire pesant 32 à 38 % de son poids vert" et à l'étaler dans la grange par couches de 30 à 40 cm d'épaisseur, en répandant sur chaque couche, à la volée, du sel à raison de 1 à 2 kg par 100 kg de fourrage. Le fourrage "mi-sec", rentré sous la menace d'un temps pluvieux doit être salé à plus forte dose : 3 à 4 % du poids brut de fourrage. Cette méthode eut à l'époque de fervents partisans, car elle permettait d'obtenir un "foin plus abondant, plus complet, plus nutritif, plus apprécié des animaux, plus capable d'augmenter la production" (MARRE, 1928). Cette opinion s'appuyait, en particulier, sur la comparaison des foins salés et des foins fanés traditionnellement ("technique barbare" selon MARRE), qui, effectivement dans certains cas pouvait être à l'avantage des foins salés.

L'emploi de la méthode de Solages fut à l'origine de nombreux échecs de conservation, le salage n'empêchant ni le développement des moisissures, ni l'échauffement conduisant même au brunissement du foin. Les essais de STUART et JAMES (1931), sur luzerne humide, confirmèrent l'incapacité du sel à assurer une conservation correcte du fourrage, malgré l'emploi de doses atteignant 5 %.

Toutefois, la méthode de Solages fut encore longtemps utilisée et on essaya même de l'adapter à l'évolution des techniques de récolte. Epandu à l'origine sur des couches de fourrage en vrac, le sel pouvait se répartir grossièrement ; avec l'apparition des presses formant des balles tassées, cette méthode, pratiquée lors de l'engrangement, ne pouvait plus donner satisfaction. On installa donc des appareils sur les presses (SOUFFLEFORT distribué par SA GARNIER ; Saleur Distributeur automatique construit par les Ets SEUGE) pour incorporer le sel au fourrage lors de la

récolte. Des aménagements identiques sont encore proposées en 1986 par les constructeurs de matériels pour saler les foin à la récolte ; l'étude de ce procédé de conservation n'est d'ailleurs pas abandonnée (ARTOISENET et PAQUAY, 1986).

### 3.3.2. Acides organiques et produits dérivés

#### 3.3.2.1. Historique

Hormis l'acide acétique, employé depuis très longtemps pour la conservation des aliments, la mise en évidence de l'action inhibitrice ou répressive des acides organiques (et de leurs sels) sur la microflore, est beaucoup plus récente. Selon LUECK (1980), ce pouvoir conservateur a été démontré en 1865 pour l'acide formique, en 1875 pour l'acide benzoïque et en 1939 pour l'acide sorbique ; les sels de l'acide propionique ont été utilisés dès 1930 aux USA pour la conservation du pain.

C'est effectivement dans le domaine de l'alimentation humaine que l'on a cherché, en premier lieu pour des raisons commerciales évidentes, à exploiter les propriétés de ces substances; aujourd'hui, les acides sorbique, formique, propionique, lactique, acétique, borique, benzoïque et certains de leurs sels font partie des conservateurs alimentaires, objet d'une codification de la Communauté Economique Européenne (BOTTON et al., 1985).

L'étude de leur emploi pour l'alimentation animale semble avoir commencé en 1951 aux USA, avec les travaux de LEWIS sur la conservation du foin humide. C'est cependant sur les céréales, avec l'acide propionique, que les résultats les plus probants ont été obtenus (HUITSON, 1968), conduisant BP Chemicals Ltd à breveter ce procédé en France, dès 1968. L'acide propionique a été alors commercialisé pour la conservation du maïs grain humide, sous le nom de PROPCORN, les doses d'emploi recommandées par BP variant selon la durée de stockage et le taux d'humidité du grain (cf. tableau 13). Durant les années 70-80, les recherches pour transposer ce procédé à la conservation des foin humides vont se multiplier, aux USA, en France, en Allemagne et surtout en Grande-Bretagne grâce aux travaux de la Station Expérimentale de Rothamsted et du "National Institute of Agricultural Engineering" de Silsoe.

Tableau 13 : Doses de Propcorn recommandées par BP pour la conservation du maïs grain humide (BP, non daté)

TAUX D'HUMIDITE DU GRAIN	DOSE EN LITRES DE PROPCORN PAR QUINTAL DE GRAINS HUMIDES EN FONCTION DE LA DUREE DE CONSERVATION			
	- de 1 mois	1 à 3 mois	3 à 6 mois	6 à 12 mois
%	L	L	L	L
30	0,80	1,00	1,15	1,30
34	1,00	1,20	1,35	1,60
38	1,25	1,45	1,65	1,90
42	1,55	1,75	1,95	2,20
46	1,85	2,05	2,25	2,55
50	2,15	2,35	2,60	2,95

Pendant cette période, ont également été expérimentés, pour le même objet, certains sels de l'acide propionique ainsi que d'autres acides organiques (et certains de leurs sels), employés purs ou en mélange. L'ensemble de ces travaux va maintenant être passé en revue, en examinant plus particulièrement ceux, très nombreux, menés sur l'acide propionique, travaux dont les principales

conclusions s'appliquent aux autres acides organiques et produits dérivés.

### 3.3.2.2. Acide propionique

#### 3.3.2.2.1. Caractéristiques physico-chimiques

Formule :  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$  - Masse molaire : 74,08

Point d'ébullition : 140,8°C

Pression de vapeur : 2,4 mm de Hg à 20°C (annuaire ROUSSET, 1969)

L'acide propionique, produit industriellement à partir du pétrole, se présente sous la forme d'un liquide huileux miscible à l'eau, de densité 0,996 à 20°C d'odeur piquante. Il est corrosif vis-à-vis des métaux usuels et son contact avec la peau provoque des brûlures.

#### 3.3.2.2.2. Essais de laboratoire

L'action fongistatique de l'acide propionique a été en particulier vérifiée par PELHATE (1973, 1973a) sur des cultures d'espèces fongiques prédominantes des maïs grains. L'action antimicrobienne de l'acide propionique résulte principalement du fait qu'il pénètre dans les cellules et en bloque le métabolisme par effet inhibiteur sur les enzymes (LUECK, 1980).

Réparti uniformément au sein de petits lots de foin, l'acide propionique s'avère un conservateur efficace (NASH et EASSON, 1971). LACEY et LORD (1977) ont précisé la quantité d'acide propionique à utiliser selon la teneur en matière sèche du foin : rapportée à l'eau du fourrage, elle doit être au moins égale à 1,25 % pour empêcher le développement de moisissures et l'échauffement de fourrages de 50 à 75 % de matière sèche. Ce ratio correspond à une dose d'acide propionique ramenée au poids brut de fourrage de 0,625 % à 50 % de MS, de 0,5 % à 60 % de MS et de 0,375 % à 70 % de MS.

#### 3.3.2.2.3. Essais en conditions réelles

##### 3.3.2.2.3.1. Résultats

Les premiers essais en conditions réelles (Anon., 1970, 1971, 1972 et PIZARRO, 1972), cités par DAVIES et WARBOYS (1978) se sont révélés insatisfaisants, le traitement n'améliorant que légèrement la conservation. KNAPP, HOLT et LECHTENBERG (1974), en arrosant des balles de luzerne récoltée à 65 % de MS avec 1 % d'acide propionique, ont pu réduire la température maximale d'échauffement du fourrage (33°C pour le lot traité contre 46°C pour le lot témoin) et les pertes de matière sèche (7,6 % contre 15,1%) durant la conservation. NICOLAUD (1975) en pulvérisant 1,3 % d'acide propionique sur les andains avant le pressage en balles moyenne densité n'a pas pu conserver dans de bonnes conditions du trèfle à 67 % de MS.

CURRENCE et SEARCY (1975) ont réalisé plusieurs séries d'essais en traitant lors du pressage en grosses balles rondes, des fourrages de taux de matière sèche compris entre 50 et 75 %, avec 0,75 % et 1 % d'acide propionique. Les mesures faites (échauffement, digestibilité de la matière sèche et des matières azotées, qualité microbiologique) sur les fourrages traités et témoins n'ont pas mis en évidence d'amélioration suffisamment sensible pour justifier le coût du traitement.

NEHRIR et al. (1977) ont conclu de leurs essais que les acides organiques, dont l'acide propionique, appliqués à la dose de 1 à 2 %, présentaient un intérêt pour la conservation de foins humides récoltés entre 70 et 75 % de MS, en basant surtout leur opinion, sur la comparaison entre le foin traité et le foin séché au sol, ce dernier concédant une perte de 650 kg de MS par ha par rapport au foin traité.

Au cours de leurs essais, NASH et EASSON (1977) ont constaté que l'acide propionique réduisait

globalement l'échauffement et les pertes de MS, sans toutefois parvenir à empêcher totalement le développement de moisissures, malgré l'emploi de doses de traitement atteignant 4 à 5 %. Des résultats analogues, confirmant les aléas du traitement, ont été obtenus par DAVIES et WARBOYS (1978).

L'efficacité indiscutable de l'acide propionique dans les essais de laboratoire, obtenue avec moins de 1 % d'acide incorporé au fourrage, se trouve donc mise en défaut en conditions réelles, dans la majorité des essais réalisés, malgré l'emploi de taux d'application atteignant parfois 4 à 5 %.

### **3.3.2.2.3.2.. Causes des échecs rencontrés en conditions réelles**

Elles tiennent en quatre points :

- les pertes d'acide au moment de l'application et lors du stockage,
- l'hétérogénéité de l'incorporation au sein du fourrage,
- l'hétérogénéité de la teneur en matière sèche du fourrage,
- la tolérance de certains microorganismes à l'égard de l'acide propionique.

#### *Pertes d'acide*

DAVIES et WARBOYS (1978) ont mesuré, de la récolte à la fin du stockage, des pertes globales d'acide de l'ordre de 85 % dont plus de 40 % lors du traitement. CHARLICK (1974) fait état de pertes globales d'acide comprises entre 68 % et 90 %, après le stockage du fourrage traité pendant 5 mois et demi. A l'occasion d'autres travaux, CHARLICK et al. (1980) en mesurant, après le traitement, la quantité d'acide retenue par le fourrage, selon la méthode de HUGUES (1978), ont constaté un taux de rétention compris entre 41 et 46 %, soit des pertes toujours supérieures à 50 %.

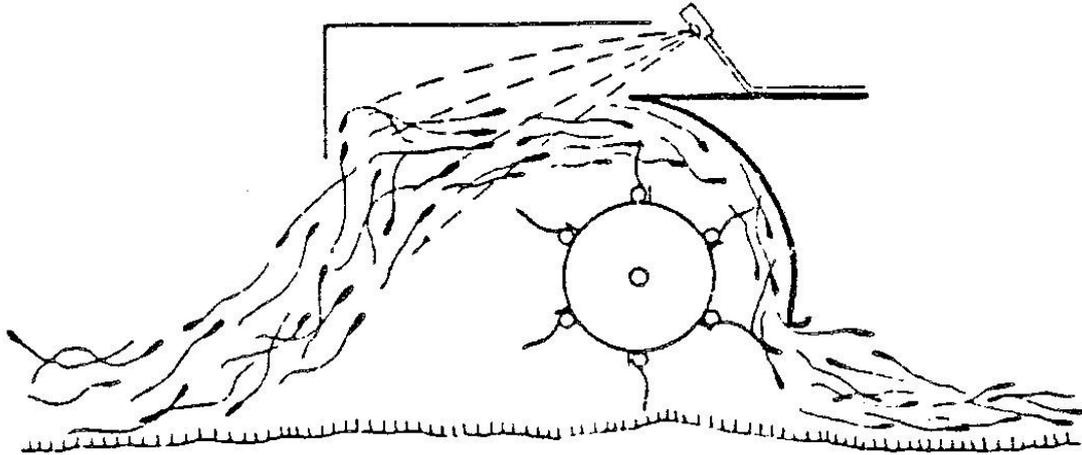
Ces pertes, lors du traitement, dues principalement à la grande volatilité de l'acide propionique, augmentent avec la température et la finesse de pulvérisation (CHARLICK et al., 1980) ; les auteurs cités ont pu réduire les pertes à 26 % en pulvérisant l'acide en gouttes d'environ 700 à 1200  $\mu$ , grâce à des buses vibrantes à jet conique (les buses classiques à miroir donnent des gouttes de taille comprise entre 50 et 400  $\mu$ , les diffuseurs à disque rotatif des gouttes de 200  $\mu$ ).

#### *Hétérogénéité de l'incorporation*

La pulvérisation directe sur les andains de fourrage lors, par exemple, de leur introduction dans la presse, se solde par une grande hétérogénéité de distribution de l'acide, les gouttelettes ne pénétrant pas au-delà de 150 mm à l'intérieur des andains (CHARLICK, 1974), dont l'épaisseur est généralement de l'ordre de 300 à 400 mm.

Pour tenter de résoudre ce problème, les chercheurs du NIAE ont séparé l'opération de traitement du pressage proprement dit, en utilisant pour appliquer l'acide au fourrage, deux types modifiés de faneurs-aérateurs. Cette technique consiste à, traiter le fourrage lors de son passage dans le faneur aérateur, à un moment où il se présente en couche mince, du fait de l'action du rotor (cf. figure 6).

Figure 6 : Schéma de principe du matériel d'incorporation développé par le NIAE (CHARLICK et al., 1980)



L'homogénéité de la distribution, quantifiée par le coefficient de variation ( $CV = \text{écart-type}/\text{valeur moyenne}$ ) de la mesure en plusieurs points de la quantité d'acide présente sur le fourrage, est améliorée par cette technique de traitement ( $CV = 42\%$  contre  $79\%$  pour le traitement sur la presse (CHARLICK et al., 1980)); points faibles de cette technique : un investissement supplémentaire auquel s'ajoute l'alourdissement du chantier de récolte, d'autant plus que le pressage doit être effectué immédiatement après le traitement, sous peine de pertes supplémentaires d'acide par évaporation. Ces inconvénients ont conduit les chercheurs du NIAE à s'intéresser aussi à un chantier combiné d'andainage-pressage dans lequel l'acide est appliqué sur le fourrage lors de son andainage, réalisé avec un andaineur frontal, le tracteur entraînant à l'arrière la presse de ramassage (KLINNER et HOLDEN, 1978).

La nécessité d'obtenir une excellente homogénéité de répartition, à l'origine des travaux du NIAE, a été confirmée en laboratoire par LORD, CAYLEY et LACEY (1981). En examinant la conservation de couches de fourrages humides traitées et témoins, placées en sandwich, LORD, CAYLEY et LACEY ont constaté que des poches de seulement 1 g de foin non traité (soit un volume d'environ 10 cm<sup>3</sup>) pouvaient être à l'origine de développements de moisissures qui, progressivement, parvenaient à coloniser des zones correctement traitées. Des résultats analogues avaient été obtenus en 1975 par SMITH et STEVENSON lors d'essais de laboratoire sur la conservation du maïs grain humide. Le développement des moisissures dans les zones non atteintes par le conservateur s'accompagne d'un échauffement global du fourrage traité plus faible que celui du fourrage témoin, mais suffisant pour n'être pas étranger aux pertes d'acides constatées durant la conservation (DAVIES et WARBOYS, 1978).

#### *Hétérogénéité de la teneur en eau du fourrage*

L'hétérogénéité de la teneur, en eau du fourrage dans les andains est importante et inévitable; le tableau 14 donne quelques exemples de cette hétérogénéité, caractérisée selon les auteurs par l'écart-type, le coefficient de variation (écart-type/moyenne) ou la plage de variation (humidités minimale et maximale). Des différences de teneur en eau de plus de 15 points peuvent être observées au sein des fourrages les plus humides (CURRENCE, SEARCY et MATCHES, 1976).

Tableau 14 : hétérogénéité de l'humidité du fourrage à la récolte (selon différents auteurs)

HUMIDITE MOYENNE en %	COEFFICIENT DE VARIATION en %	ECART-TYPE en %	PLAGE DE VARIATION en %	AUTEURS
35,5 23,9 24,5 25,8			43,0-24,0 27,4-20,7 31,0-16,0 28,0-24,0	CURRENCE, SEARCY et MATCHES (1976)
44,8 35,2 31,3 26,9 21,3		5,9 3,3 2,6 1,9 4,9		MARLEY, WILCOX et DANLEY (1976)
24,2 21,5		2,3 1,2		JOHNSON et Me CORMICK (1976)
23,64 24,13 29,50 27,76	7,62 6,74 12,99 9,03	1,8 (valeur calculée) 1,6 (valeur calculée) 3,8 (valeur calculée) 2,5 (valeur calculée)		NASH et EASSON (1977)

La dose de traitement calculée selon l'humidité moyenne du fourrage peut donc être insuffisante dans certaines zones très humides. CHARLICK et al. (1980) estiment que la quantité d'acide à apporter doit être telle que statistiquement, 95 % du fourrage soit traité à un niveau suffisant (en faisant abstraction des difficultés de répartition).

Pour LORD, CAYLEY et LACEY (1981) qui ont étudié au laboratoire la conservation de couches superposées de fourrage, de teneurs en eau différente, mais uniformément traitées, ce problème n'est pas véritablement important à condition que le produit conservateur soit partout présent.

#### Tolérance de certains microorganismes

Certaines espèces fongiques sont signalées comme étant relativement tolérantes à l'acide propionique :

- *Monascus ruber* (SMITH et STEVENSON, 1975)
- *Scopulariopsis brevicaulis* (SMITH et STEVENSON, 1975)
- *Aspergillus glaucus* (LACEY et LORD, 1977 ; LORD et LACEY, 1978)
- *Paecilomyces variotii* (KOZAKIEWICZ et CLARKE, 1973 ; LORD et LACEY, 1978)

Selon LORD et LACEY (1978), *Paecilomyces variotii* et *Aspergillus glaucus* sont non seulement tolérants à l'égard de l'acide propionique présent en quantité insuffisante, mais capables de le métaboliser pour leur croissance ; toutefois, ce phénomène peut être évité en additionnant à l'acide propionique 10 % en poids de l'une des substances suivantes: formaldéhyde, zineb, acétate phényl de mercure, 8 hydroxyquinoline et d'autres dérivés, 5-chloro, 5,7-dichloro, 5-nitroquinoline.

#### 3.3.2.3. Autres acides organiques et produits dérivés

Il s'agit, selon les cas, d'acides utilisés purs ou en mélange, de sels ou de mélanges d'acides et de sels :

##### Acides purs

Acide sorbique (LORD et LACEY, 1978)

Acide formique (LACEY et al., 1978)  
 Acide acétique (NEHRIR et al., 1978)

#### *Mélanges d'acides*

Acide propionique - acide formique (50-50) (LACEY et al., 1978)  
 Acide propionique - acide acétique (80-20) (NEHRIR et al., 1978)  
 Acide propionique - acide acétique - eau (40-57-3) (GOERING et GORDON, 1973)  
 Acide propionique - acide isobutyrique - eau (20-30-50) (40-60-0) (NEHRIR et al., 1978)

#### *Sels*

Propionate de phényl (LACEY et LORD, 1977)  
 Propionate d'éthyl (LACEY et LORD, 1977)  
 Propionate de sodium (GOERING et GORDON, 1973)  
 Propionate d'ammonium (CHARLICK et al., 1980) (LACEY et LORD, 1977)  
 Diacétate de sodium (JONES et al., 1985) '  
 Isobutyrate d'ammonium (GOERING et GORDON, 1973) (NEHRIR et al., 1978)

#### *Mélanges d'acides et de sels*

Acide propionique - propionate d'ammonium (LORD, CAYLEY et LACEY, 1981)

Selon LACEY et LORD (1977) de tous les produits testés, l'acide propionique et le propionate d'ammonium se sont avérés les plus intéressants pour la conservation des foins humides. Le propionate d'ammonium présente l'avantage, par rapport à l'acide propionique d'être moins volatil et moins corrosif ; ne contenant que l'équivalent de 57 % d'acide propionique, il doit toutefois être employé à une dose 1,75 supérieure pour obtenir la même efficacité (CHARLICK et al., 1980).

Un produit intermédiaire, de composition non précisée et appelé "ammonium bis-propanoate" par KLINNER et HOLDEN (1978) a été lancé vers 1975 en Grande-Bretagne. Contenant l'équivalent de 63 % d'acide propionique, son pouvoir de corrosion et sa volatilité sont intermédiaires entre ceux de l'acide propionique et du propionate d'ammonium; il s'agit vraisemblablement d'un mélange aqueux de ces deux produits.

### **3.3.3. Autres produits**

#### **3.3.3.1. Fongicides et phénols**

Plusieurs fongicides testés au laboratoire sur de petits lots de foin (DAWSON, MUSGRAVE et DANIELSON, 1950 ; SCHENK et KENNEDY, 1955 ; HOPKINS et WIANT, 1955) ont montré leur aptitude à empêcher le développement des moisissures pendant plus de 11 semaines ; toutefois, la distribution à des vaches laitières du foin traité avec le plus efficace d'entre eux, le trichlorophénol, s'est soldée par la présence de résidus dans le lait ; des phénols ont également été expérimentés au laboratoire par LORD et LACEY (1978). Cependant, ces produits ne présentent pas d'intérêt pratique car ils sont interdits par la législation pour la conservation des fourrages et des aliments.

#### **3.3.3.2. Spécialités commerciales**

Sous ce vocable, nous rangeons tous les produits commercialisés pour la conservation des foins humides, de composition complexe et parfois tenue secrète par les fabricants. LACEY et LORD (1977) ont testé au laboratoire 7 spécialités de ce type, baptisées "proprietary additives", renfermant outre des acides organiques et de l'eau, des alcools, des antioxydants, des essences, des arômes, des colorants, etc...

Les essais en conditions réelles de deux de ces produits ont également été réalisés par JOHNSON et Mc CORMICK (1976) et par LACEY et al. (1978). Dans tous les cas, les résultats obtenus se sont avérés insuffisants.

### 3.3.3.3. Ammoniac

#### 3.3.3.3.1. Caractéristiques physico-chimiques (PASCAL et BAUD, 1932)

L'ammoniac (formule chimique :  $\text{NH}_3$ ) se présente à 0°C et pression atmosphérique sous la forme d'un gaz incolore de densité 0,597 par rapport à l'air (masse spécifique : 0,772 g / l).

Le gaz ammoniac se liquéfie par refroidissement et/ou compression. La densité et la tension de vapeur saturante de l'ammoniac liquéfié varient avec la température (cf. tableau 15).

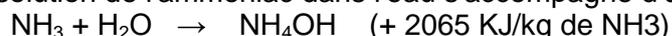
Tableau 15 : Température, densité et tension de vapeur saturante de l'ammoniac liquéfié (d'après PASCAL ET BAUD, 1932)

T en °C	d	Pa x 10 <sup>5</sup>	T en °C	d	Pa x 10 <sup>5</sup>
- 33,3	0,6715	1,01325	10	0,6207	6,15
- 20	0,6593	1,90	20	0,6067	8,57
- 10	0,6469	2,90	30	0,5918	11,66
0	0,6341	4,29	40	0,5756	15,54

Chaleur de vaporisation de l'ammoniac liquide à - 33,3°C. : 1380 KJ/Kg.

Chaleur massique du gaz à 0°C : 2,09 KJ/Kg.°C.

La dissolution de l'ammoniac dans l'eau s'accompagne d'un effet exothermique marqué :



La solution alcaline obtenue, appelée ammoniacale, peut contenir, par litre d'eau, jusqu'à 875 g d'ammoniac (1133 l) à 0°C, 460 g (602 l) à 25°C et 220 g (297 l) à 50°C. L'ammoniacale attaque le cuivre, le zinc, l'aluminium et leurs alliages. De nombreux corps adsorbent l'ammoniac (caoutchouc, métaux, charbons poreux) ; dans le cas des charbons poreux, la chaleur d'adsorption est de 1587 KJ/kg de  $\text{NH}_3$ . A de très faibles concentrations dans l'air (de 400 à 700 parties par million), l'ammoniac irrite les muqueuses (nez, yeux, gorge) ; des doses plus élevées peuvent être toxiques et même mortelles (L'AIR LIQUIDE, non daté).

#### 3.3.3.3.2. Utilisations de l'ammoniac en agriculture (hors conservation)

##### Fertilisation

L'ammoniac, produit de base pour la fabrication industrielle des engrais azotés (ammonitrates, urée ...), est également utilisé en l'état, principalement pour la fertilisation azotée des cultures sarclées de printemps (maïs, pommes de terre, betteraves) ; son apport s'effectue alors par enfouissement (CLEMENT et al., 1981).

##### Source d'azote non protéique

Les fourrages carencés en azote, destinés à l'alimentation des ruminants, peuvent être enrichis par un apport d'azote non protéique sous forme d'ammoniac; cette technique s'applique bien à l'ensilage de maïs plante entière (HUBER et SANTANA, 1972 ; ITEB, 1981 ; JOURNET et al., 1982) ; elle a été également expérimentée pour la complémentation d'ensilages de ray-grass, pauvres en azote (MULLER et PECCATE, 1982).

##### Amélioration de la valeur nutritive des pailles

Les pailles se caractérisent par une teneur moyenne élevée en parois cellulaires (86,6 % de la matière sèche), constituées pour 11,3 % d'une substance pratiquement indigestible, la lignine (KOMAR, 1982). Les incrustations de lignine sur les polyosides pariétaux (cellulose, hémicellulose, substances pectiques) contribuent à diminuer la digestibilité globale des pailles. L'ammoniac, appliqué à raison de 3 à 5 % du poids brut, agit en rompant en partie les liaisons entre la lignine et les autres constituants pariétaux et en provoquant le gonflement des parois ; la digestibilité et l'ingestibilité des pailles sont ainsi nettement améliorées par le traitement, qui a pour effet complémentaire d'augmenter la teneur en azote non protéique des pailles (SUNDSTOL, COXWORTH et MOWAT, 1978 ; KOMAR, 1982 ; CORDESSE, 1982).

#### *Détoxification des aliments contaminés par l'aflatoxine*

Il est généralement admis que l'ammoniac inactive la molécule d'aflatoxine en ouvrant son cycle lactone (VIROBEN et DELQRT-LAVAL, 1978). Le traitement par l'ammoniac a été employé avec succès pour détoxifier du maïs grain à raison de 1-1,2 % du poids brut (JENSEN et al., 1977 ; BREKKE et al., 1979 ; NOFSINGER et ANDERSON, 1979) et des tourteaux d'arachide (VIROBEN et DELORT-LAVAL, 1978), destinés à l'alimentation animale ; les techniques de désodorisation du maïs traité ont été étudiées par BREKKE et al. (1979).

#### **3.3.3.3. Conservation des céréales**

L'ammoniac a surtout été expérimenté pour la conservation du maïs grain humide, selon deux procédés distincts :

- la conservation sous forme humide du grain traité,
- le séchage lent par ventilation, conjugué à un ou plusieurs apports d'ammoniac.

#### *Conservation humide*

BOTHAST, LANCASTER et HESSELTINE (1973) ont pu conserver pendant 14 jours du maïs à 26 % d'humidité avec une dose de 2 % d'ammoniac, apportée en solution aqueuse, l'ammoniac détruisant les moisissures et levures internes et externes, tout en contrôlant la population bactérienne ; l'inhibition de la microflore, lors d'essais similaires, a été constatée par Mc GHEE, BAGLEY et BOTHAST (1979). BRITT et HUBER (1976) n'ont cependant pas pu conserver sans détérioration du maïs à 27 % avec 0,5 % d'ammoniac ; par contre, 1 % a permis de retarder le développement de la flore fongique de maïs à 25 % d'humidité (de meilleurs résultats ont été obtenus avec l'acide propionique, appliqué à la même dose).

Le brunissement du grain, d'origine non-enzymatique, explique pour BRITT et HUBER (1976) la mauvaise utilisation alimentaire de l'azote apporté par l'ammoniac.

PEPLINSKI et al. (1978) font état de pertes de M.S. de 14 % lors de la conservation pendant 410 jours de maïs à 28 % d'humidité, malgré l'emploi de 3 % d'ammoniac, apporté en solution aqueuse et sous forme gazeuse ; si les moisissures disparaissent totalement pendant le stockage, par contre la population bactérienne en partie réduite après le traitement, se développe à nouveau pendant la conservation; PEPLINSKI et al. signalent également le brunissement prononcé du grain, et sa prise en masse dans la cellule, les péricarpes présentant un état de surface collant.

#### *Séchage lent*

L'injection intermittente d'ammoniac a été employée par VANCAUWENBERGE et al., 1982 ; NOFSINGER, BOTHAST et ANDERSON, 1979 ; NOFSINGER et al., 1977) pour contrôler la microflore durant le séchage du maïs par ventilation à l'air ambiant ; l'humidité du maïs et la quantité totale d'ammoniac injectée (par rapport au poids brut) ont été respectivement dans l'ordre des auteurs cités, de 26,5 % et 0,14 % ; 23,2 % et 0,31 % ; 26 % et 0,09 %. Selon NOFSINGER et al. (1977), la population fongique a été réduite (à l'exception des *Fusarium*) mais les bactéries ont pu se développer durant les 7 premiers jours de séchage.

La réduction de la pollution fongique des grains, principalement la flore interne, a été également constatée par VANCAUWERGE et al. (1982) et par NOFSINGER, BOTHAST et ANDERSON (1979).

Les phénomènes d'absorption, de diffusion et d'équilibre entre l'ammoniac et le grain humide ont été étudiés par LANCASTER, HALL et BREKKE (1974), ainsi que par LANCASTER, STRINGFELLOW et BREKKE (1975). Le changement de coloration plus ou moins important du grain correspondrait à une réaction non-enzymatique de brunissement dans laquelle un aldose réagit avec une amine pour former des composés pigmentés et parfois aromatiques (LANCASTER, HALL et BREKKE, 1974).

#### 3.3.3.4. Conservation des fourrages

##### *Techniques de traitement et qualité de conservation*

KOEGEL, STRAUB et SHINNERS (1985), ont traité des balles moyenne densité lors du pressage au moyen de 8 aiguilles d'injection placées sur la face du piston ; le traitement de balles rondes a été effectué à poste fixe en injectant l'ammoniac par l'intermédiaire de 48 aiguilles enfoncées hydrauliquement dans chaque balle. Le fourrage a ensuite, selon le cas, été bâché ou laissé à l'air libre.

Le traitement du fourrage par fumigation en meule enveloppée entre 2 bâches étanches a été la technique la plus utilisée; elle s'apparente tout à fait à la méthode norvégienne de traitement des pailles. Les bâches ont été ôtées après le traitement, avec un délai variable : 48 h (LECHTENBERG et al., 1978) ; 4 jours, 21 jours, un mois et 4 mois (THORLACIUS et ROBERTSON, 1984), 14 jours (JONES et al., 1985) ; 56 jours (WOOLFORD et TETLOW, 1984) ou laissées en permanence sur le fourrage (LECHTENBERG et al., 1978 ; KOEGEL, STRAUB et SHINNERS, 1985). KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW (1980) ont également effectué la fumigation ammoniacale au sein de meules non bâchées.

Les doses d'ammoniac rapportées au poids brut du foin, étaient comprises lors de ces travaux entre 0,5 % et 4,8 %, avec une majorité de traitements à 1-3 % ; l'humidité des fourrages s'échelonnait entre 18 et 55 % mais surtout entre 25 et 40 %.

Les résultats obtenus dépendent de la technique de traitement et de stockage mise en œuvre, de l'humidité du fourrage et de la dose d'ammoniac apportée.

##### *\* Traitement et conservation à l'air libre*

Selon KOEGEL, STRAUB et SHINNERS (1985), cette technique ne permet pas de conserver correctement des fourrages contenant plus de 28 % d'humidité, conclusion confirmée par KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW (1980) qui ont constaté lors de leurs essais la dégradation de tous les fourrages traités non couverts, certains se dégradant même plus rapidement que les témoins. Toutefois, KOEGEL, STRAUB et SHINNERS (1985), estiment que des fourrages contenant moins de 28 % d'humidité peuvent être traités et conservés à l'air libre sans pertes de matière sèche supérieures à 5 % à condition d'apporter de 1,1 à 2,5 % d'ammoniac.

##### *\* Traitement et conservation intégrale sous bâche*

La conservation de fourrages contenant jusqu'à 50 % d'humidité est dans ce cas possible d'après KOEGEL, STRAUB et SHINNERS (1985) ; pour KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW (1980), la dose d'ammoniac apportée doit être cependant au moins supérieure à 1,5 % pour éviter la dégradation du fourrage.

##### *\* Traitement et conservation temporaire sous bâche*

Dans les essais de WOOLFORD et TETLOW (1984), des foins à 40 % d'humidité traités avec 1,2 % et plus d'ammoniac et bâchés pendant 56 jours sont restés stables lors de leur exposition à l'air. THORLACIUS et ROBERTSON (1984) ont constaté que des foins à 35 % d'humidité traités avec 1% d'ammoniac, s'échauffaient après le débâchage effectué, 4 jours et 21 jours après le traitement, de même que des foins à 30 % d'humidité traités à la même dose et débâchés 1 mois et 4 mois après le traitement ; 2 % d'ammoniac et un confinement de 21 jours, 1 mois et 4 mois par contre permettaient de stabiliser ces mêmes fourrages. WINTHER et al. (1983) font état de l'apparition de moisissures au bout de quelques mois de stockage en aérobiose de foins humides à 30-40 % d'humidité traités avec 2-3 % d'ammoniac.

##### *Effets de l'ammoniac*

\* *Élévation de température*

L'injection d'ammoniac s'accompagne dès les 2 premiers jours suivant le traitement, d'une élévation importante de température du fourrage signalée par plusieurs auteurs ; les températures maximales observées ont été de 51°C (KOEGL, STRAUB et SHINNERS, 1985), 80°C (KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW, 1980), 86°C dans les zones les plus chaudes (ATWAL et HESLOP, 1984). Selon KOEGL, STRAUB et SHINNERS (1985), cet effet exothermique ne serait pas dû uniquement à la chaleur de dissolution de l'ammoniac mais également à des réactions de liaison entre l'ammoniac et les constituants du fourrage (et plus particulièrement la lignine).

\* *Microflore*

D'après les essais de KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW, l'ammoniac inhibe sélectivement la microflore, l'effet inhibiteur s'accroissant avec la dose apportée :

0,5 % d'ammoniac suffit pour faire régresser les moisissures ; par contre, les levures semblent favorisées par 0,5 % et 1 % d'ammoniac. A l'exception des bactéries lactiques très sensibles au traitement, les bactéries mésophiles et thermophiles s'accommodent de plus de 2 % d'ammoniac et ne régressent qu'à partir de doses de 4 %. WOOLFORD et TETLOW (1984) n'ont, par contre, constaté au cours de leurs travaux qu'un effet inhibiteur global sur l'ensemble de la microflore, sans remarquer de sensibilité particulière des familles microbiennes ; selon eux, l'effet biostatique de l'ammoniac pourrait simplement être dû au relèvement du pH.

WINTHER et al. (1983) ont remarqué que les actinomycètes thermophiles résistaient mieux à l'ammoniac que les champignons et les actinomycètes mésophiles. La tolérance des actinomycètes thermophiles est également évoquée par BENHAM et REDMAN (1980).

PAHLOW (1981) estime au contraire que les actinomycètes thermophiles sont beaucoup moins résistants à l'ammoniac que les champignons et que des foins traités avec 2 % d'ammoniac ne

présentent pas de risques pathogènes du type "farmer's lung disease".

Tableau 16 : Effet inhibiteur comparé de l'ammoniac (PELHATE, 1982)

Espèces résistantes aux doses respectives de 0,5;1;2 et 4 g/l, à croissance compatible, plus ou moins limitée   
 Espèces tolérantes à ces doses, à croissance différée (après 1 semaine) 

Doses d'NH <sub>3</sub> (g/l)	0,5	1	2	4
<b>Espèces</b>				
<i>Actinomyces elegans</i>	■	■	■	■
<i>Fusarium culmorum</i>	■	■	■	■
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	■	■	■	■
<i>S. brevicaulis (album)</i>	■	■	■	■
<i>S. costantini</i>	■	■	■	■
<i>S. flava</i>	■	■	■	■
<i>Penicillium cyclopium</i>	■	■	■	■
<i>P. frequentans</i>	■	■	■	■
<i>S. fusca</i>	■	■	■	■
<i>Oedocephalum sp.</i>	■	■	■	■
<i>Chaetomium funicolium</i>	■	■	■	■
<i>Aspergillus flavus</i>	■	■	■	■
<i>P. oxalicum</i>	■	■	■	●●●●
<i>Acremonium strictum</i>	■	■	■	●●●●
<i>Verticillium lecanii</i>	■	■	■	●●●●
<i>Fusarium sacchari (subglutinans)</i>	■	■	■	●●●●
<i>V. tenerum</i>	■	■	■	●●●●
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	■	■	■	●●●●
<i>Mucor racemosus</i>	■	■	■	●●●●
<i>F. poae</i>	■	■	■	●●●●
<i>Geotrichum candidum</i>	■	■	■	●●●●
<i>A. candidus</i>	■	■	■	●●●●
<i>A. gr. glaucus</i>	■	■	■	●●●●
<i>A. nidulans</i>	■	■	■	●●●●
<i>A. ochraceus</i>	■	■	■	●●●●
<i>Candida sp. - Endomycopsis sp.</i>	■	■	■	●●●●
<i>Rhodotorula rubra</i>	■	■	■	●●●●
<i>Trichothecium roseum</i>	■	■	■	●●●●
<i>Alternaria tenuissima</i>	■	■	■	●●●●
<i>Chrysosporium pannorum</i>	■	■	■	●●●●
<i>Absidia lichtheimii</i>	■	■	■	●●●●
<i>Rhizopus stolonifer</i>	■	■	■	●●●●
<i>M. hiemalis</i>	■	■	■	●●●●
<i>A. versicolor</i>	■	■	■	●●●●
<i>P. funiculosus</i>	■	■	■	●●●●
<i>A. niger</i>	■	■	■	●●●●
<i>P. roqueforti</i>	■	■	■	●●●●
<i>Chaetomium dolichotrichum</i>	■	■	■	●●●●
<i>P. spinulosum</i>	■	■	■	●●●●

Pour LANCASTER, STRING, FELLOW et BREKKE (1975) qui ont travaillé sur le séchage lent du maïs associé au traitement par l'ammoniac, l'activité fongicide de l'ammoniac serait due à la partie volatile non fixée ou ammoniac "libre" ; les auteurs cités ont proposé une méthode de mesure de l'ammoniac "libre" consistant en la macération des grains traités dans de l'eau distillée, suivie du titrage de la solution ammoniacale résultante par l'acide sulfurique.

Selon PELHATE (1982) qui a comparé l'effet inhibiteur de l'ammoniac sur plusieurs espèces fongiques (cf. tableau 16), l'ammoniac "libre" exercerait l'effet inhibiteur recherché et l'ammoniac fixé serait garant de la rémanence du traitement.

\* *Pertes de matière sèche et valeur alimentaire*

L'inhibition de la microflore obtenue sous certaines conditions de traitement permet de réduire nettement les pertes de matière sèche : par rapport aux lots témoins, les

valeurs mesurées pour les lots traités sont voisines de zéro (THORLACIUS et ROBERTSON, 1984) ou comprises entre 2,6 % et 8,7 % (KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW, 1980 ; KOEGEL, STRAUB et SHINNERS, 1985), contre plus de 20 % pour les pertes maximales observées sur les lots témoins les plus humides. Ces valeurs sont corroborées par la bonne protection des glucides solubles procurée par le traitement, observée par WOOLFORD et TETLOW (1984).

La teneur en matières azotées totales de tous les foins est augmentée par le traitement, dans les proportions variables selon l'humidité du fourrage, la dose d'ammoniac apportée et de la durée de conservation sous bâche ; WOOLFORD et TETLOW (1984) trouvent un taux de fixation de l'ammoniac d'environ 50 % ; THORLACIUS et ROBERTSON (1984) font état d'un taux de fixation compris entre 26,5 et 72 % et KOEGEL, STRAUB et SHINNERS (1985), de 28 à 49 % ; WEISS, COLENBRANDER et LECHTENBERG (1982) de 52,3 %.

L'ammoniac préserve ou augmente la digestibilité in vitro de la matière organique du foin (KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW, 1980 ; LECHTENBERG et al. (1978), THORLACIUS et ROBERTSON, 1984 ; JONES et al., 1985). Les foins traités sont mieux ingérés que les foins humides témoins (JONES et al., 1985 ; LECHTENBERG et al., 1978 ; THORLACIUS et ROBERTSON, 1984). Toutefois, la teneur des foins en matières azotées digestibles n'augmente pas en proportion de l'azote apporté par le traitement (LECHTENBERG et al., 1978; WINTHER et al., 1983), ce qui est le signe d'une altération de la valeur azotée réelle des fourrages traités.

#### \* Toxicité de l'ammoniac

L'ammoniac, comme toutes les autres sources d'azote non protéique (urée, sels d'ammonium, ...) utilisées dans l'alimentation des ruminants peut être la cause de phénomènes pathologiques d'intoxication ammoniacale (ESPINASSE, 1984). Ce type d'accident a pour origine une concentration trop importante d'ammoniac dans le rumen, dépassant les capacités microbiennes de protéosynthèse ; l'ammoniac traverse alors la paroi du rumen, gagne le sang porte et ainsi le foie où de faibles concentrations sont normalement transformées en urée et éliminées (CORDESSE, 1982).

Les premiers symptômes d'intoxication apparaissent quand la concentration sanguine en ammoniac atteint 0,5 - 1mg/100ml ; ils s'aggravent entre 1,5 et 2,5 mg/100 ml ; la mort survient à partir de 4 - 6 mg/100 ml ; les signes cliniques de l'intoxication ammoniacale comprennent la salivation, les coliques, le météorisme, les tremblements et l'incoordination (ESPINASSE, 1984). Ce type d'accident survient généralement après l'ingestion rapide et massive de rations mal équilibrées, riches en azote non protéique ; il est aggravé, chez certains animaux, par l'existence d'une tare hépatique.

Aucun cas d'intoxication ammoniacale provenant de l'ingestion de foins humides traités à l'ammoniac n'est toutefois rapporté dans la bibliographie.

### 3.3.3.4. Urée

#### *Caractéristiques physico-chimiques*

L'urée, de formule chimique  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ , est commercialisée en agriculture pour la fertilisation azotée des sols et comme source d'azote non protéique dans l'alimentation des ruminants ; elle se présente sous la forme de petites perles de 1 à 2 mm (perlurée) (CLEMENT et al., 1981) ; l'urée peut être livrée en sacs de 50 kg ; sa manipulation ne présente aucun danger.

En milieu humide, l'urée peut être décomposée en ammoniac et en gaz carbonique, sous l'action d'uréases d'origine microbienne ou végétale (HEMMING, 1980), selon la réaction :



d'après laquelle 56,7 g d'ammoniac sont libérés par hydrolyse totale de 100 g d'urée. Cette propriété de l'urée à générer de l'ammoniac sous certaines conditions, a été jugée intéressante pour la conservation des céréales et des fourrages humides, en raison des contraintes présentées par l'emploi de l'ammoniac liquéfié.

### *Conservation des céréales*

Sur céréales, les essais en laboratoire de GHATE, BILANSKI et ROBINSON (1980) montrent que 1,65 % d'urée, mélangée uniformément, est suffisant pour contrôler en aérobiose le développement de moisissures dans du maïs grain contenant 34 % d'humidité ; le grain plus sec (24 % d'humidité) s'est moins bien conservé lors de ces essais, en raison semble-t-il du départ de l'ammoniac, mal fixé par la faible humidité du grain. Tous les grains traités présentaient une couleur brune prononcée.

Pour LOTZ (1983), 1,5 % et 2 % d'urée incorporée uniformément permettent de conserver pendant plusieurs mois en aérobiose de petits lots d'orge respectivement à 21 % et 24,6 % d'humidité ; l'effet inhibiteur sur les champignons serait dû au relèvement du pH, auquel les levures seraient d'ailleurs moins sensibles que les moisissures.

### *Conservation des fourrages*

Sur foins humides et dans des conditions de laboratoire, GHATE et BILANSKI (1979) ont constaté qu'en moyenne 60 % de l'urée apportée a raison de 1 % à 3,7 % de la MH étaient hydrolysés en 12 jours dans des fourrages contenant de 30 à 50 % d'humidité, la vitesse d'hydrolyse augmentant avec l'humidité du fourrage. Ces auteurs concluent à la possibilité de conserver pendant plus de 60 jours, en aérobiose, des fourrages à 50 % d'humidité avec 2 à 2,5 % d'urée.

Ces résultats sont confirmés par BUHLMANN et WURTELE (1981) qui signalent la bonne conservation pendant environ 2 mois de fourrages de 22 % à 50 % d'humidité, traités avec 3 % d'urée (avec une inhibition plus marquée des champignons que des bactéries) ainsi que par TETLOW (1981) pour des fourrages à 40 % d'humidité bien conservés avec 3,6 % d'urée.

Lors d'essais en conditions réelles, GHATE, BILANSKI et WINCH (1981) ont pulvérisé 5,58 %, 4,55 % et 4,4 % d'urée en solution (1 part d'urée pour 1 part d'eau) sur les andains, de fourrages d'humidités 21,5 %, 26,7 % et 27,7 %, immédiatement avant le pressage réalisé en balles rondes ; les fourrages ont été conservés en aérobiose. La pulvérisation a provoqué des pertes d'urée (de 5,5 à 29 % de l'urée distribuée); de plus, l'hydrolyse n'a été que partielle, 35 à 80 % de l'urée retenue par les andains restant sous forme non hydrolysée (80 % pour le fourrage le plus sec). L'effet améliorateur sur la conservation, par réduction de l'échauffement, a été peu prononcé et les auteurs concluent à l'intérêt de compléter le traitement par un apport d'uréases.

KASPERSSON et al. (1984) aboutissent à des résultats peu satisfaisants concernant la conservation de foins conservés en vrac en aérobiose à 31 % d'humidité, traités par couches avec 2,5 % d'urée répartie à la main de manière aussi homogène que possible. Seulement 50 % de l'urée apportée ont été hydrolysés en ammoniac et en gaz carbonique d'où des risques potentiels de toxicité évoqués par KASPERSSON et al. Ainsi que pour l'ammoniac, l'incorporation d'urée s'accompagne d'une augmentation de la teneur en azote total (GHATE et BILANSKI, 1979 ; GHATE, BILANSKI et WINCH, 1981 ; KASPERSSON et al., 1984) et en moyenne d'une légère amélioration de la digestibilité constatée par BUHLMAN et WURTELE (1981), par TETLOW (1981) mais non par GHATE et BILANSKI (1979).

### **3.3.3.5. Anhydride sulfureux (SO<sub>2</sub>)**

#### *Caractéristiques physico-chimiques*

L'anhydride sulfureux se présente à pression atmosphérique et à 20°C sous la forme d'un gaz incolore, non inflammable, d'odeur âcre et de densité 2,2 par rapport à l'air. Il se dissout dans l'eau (40 l de SO<sub>2</sub>/ L d'eau à 20°C) et se liquéfie à -10°C. L'effet antimicrobien de l'anhydride sulfureux résulte essentiellement de son action inhibitrice sur l'activité enzymatique des cellules ; cette action est plus marquée sur les bactéries que sur les moisissures et les levures (LUECK, 1980).

#### *Conservation des céréales*

Dans le domaine de la conservation des céréales, l'anhydride sulfureux a été expérimenté pour la protection antifongique du maïs grain humide, placé sous ventilation en attente de séchage, ou en assistance au séchage lent du grain.

L'anhydride sulfureux se révèle un conservateur plus efficace que l'ammoniac (VANCAUWENBERGE et al., 1982) ; à l'inverse de ce dernier, il ne modifie fondamentalement pas la couleur du grain (VANCAUWENBERGE et al., 1982 ; ITCF, 1982). Par contre, il détruit en partie la thiamine (vitamine B1) et peut laisser une odeur piquante au grain. Les parois galvanisées des cellules de stockage sont, d'autre part, susceptibles d'être attaquées par des doses trop élevées de  $\text{SO}_2$ .

#### *Nota*

L'anhydride sulfureux a été expérimenté également pour empêcher la fermentation prématurée des sucres du maïs plante entière et du sorgho fourrager, ces deux produits étant conservés en silo pour la production d'éthanol ; une dose de 0,5 % s'avère suffisante (SMITH et al., 1985 ; ECKHOFF et al., 1985).

#### *Conservation des fourrages*

La conservation de foins humides avec l'anhydride sulfureux a fait l'objet d'essais de la part de HARRISON (1985) : l'anhydride sulfureux a été appliqué lors du pressage, réalisé en balles rondes, à raison de 0,7 % du poids brut de foins contenant 30 % d'humidité ; les balles témoins et traitées ont été conservées en aérobiose et en sacs hermétiques; selon HARRISON, l'anhydride sulfureux, dans les deux configurations (aérobiose et sacs) n'a pas eu d'effet améliorateur significatif sur la qualité de la conservation (échauffement et pertes de matière sèche).

En comparaison avec l'ammoniac anhydre, l'anhydride sulfureux a été peu étudié pour la conservation des foins humides ; ceci s'explique vraisemblablement par sa moins grande diffusion commerciale et son coût plus élevé, inconvénients signalés par VANCAUWENBERGE et al. (1982). Il n'apporte, en outre, pas d'éléments nutritifs valorisables par les animaux et peut s'avérer toxique, comme le montrent des essais sur porcs nourris à partir de rations contenant 0,83 % de métabisulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5 = 67,39\%$  d'équivalent  $\text{SO}_2$ ), LUECK (1980).

## **4. CONCLUSION DE L'ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

Malgré le développement récent et important de l'ensilage, la fenaison reste encore en France la méthode principale de conservation des fourrages herbacés.

La fenaison a largement bénéficié des progrès de la mécanisation, surtout au plan de l'efficacité des chantiers de fanage et de récolte; mais elle reste à peu près aussi tributaire qu'autrefois des caprices météorologiques, en dépit de la mise au point de faucheuses conditionneuses et de la ventilation en grange, technique efficace dont l'emploi ne peut cependant se généraliser pour des raisons économiques.

En cas de conditions météorologiques favorables, un fanage bien conduit permet d'élever le taux de matière sèche à 82-84 %, soit un état de siccité qui assure la préservation quasi intégrale de la valeur alimentaire du fourrage durant le stockage.

Engrangé plus humide sous la menace de précipitations ou en raison de la mauvaise appréciation de son état de siccité, le fourrage est le siège de mécanismes de détérioration qu'il est possible d'imputer à la respiration du végétal, à l'action des microorganismes et à des phénomènes physico-chimiques. L'échauffement représente le symptôme le plus caractéristique du processus de détérioration : il traduit, en effet, l'existence de phénomènes cataboliques oxydatifs, se maintenant au détriment de la matière organique du fourrage ; il peut être à l'origine d'une dégradation de la valeur azotée ; enfin, dans des conditions bien particulières, il est parfois l'amorce d'un phénomène exothermique cumulatif conduisant à l'inflammation spontanée du fourrage.

La préservation de la valeur nutritive du fourrage durant le stockage a été recherchée grâce à l'emploi de conservateurs destinés à inhiber le développement de la microflore. Pendant longtemps, le chlorure de sodium a été le seul conservateur utilisé à grande échelle par les

éleveurs; malgré des résultats controversés, cette technique reste encore d'actualité.

L'emploi de l'acide propionique a fait l'objet de nombreuses études, menées principalement par les anglais qui ont cherché à améliorer l'homogénéité du traitement grâce à la mise de point de matériels spécifiques d'incorporation. Simultanément, plusieurs spécialités commerciales ont été mises sur le marché et ont bénéficié en France, d'un certain succès auprès des éleveurs. Face aux inconvénients des conservateurs se présentant sous forme liquide ou solide, les recherches se sont portées sur l'utilisation de conservateurs gazeux dont l'ammoniac, en raison des qualités potentielles de ce produit, déjà mises à profit pour le traitement des pailles. Globalement, les résultats obtenus avec l'ammoniac apparaissent prometteurs, mais des incertitudes subsistent toutefois sur la technique de traitement à mettre en œuvre et la valeur alimentaire réelle des fourrages traités.

## ETUDE EXPERIMENTALE

## INTRODUCTION

Nous avons cherché au cours de nos travaux à démontrer les mécanismes responsables de l'échauffement des foins humides, en examinant plus particulièrement la phase initiale de montée en température ; celle-ci comporte, en effet, presque toujours un pic fugitif dont l'origine n'est pas clairement établie.

Dans ce but, nous avons étudié au cours du chapitre I, l'évolution physico-chimique et microbiologique de fourrages récoltés à divers états de siccité et recherché la corrélation éventuelle entre le développement de la microflore et l'échauffement ; cette étude a permis également d'observer les particularités et la dynamique des cortèges floristiques microbiens, de la récolte à la fin du stockage.

Les hypothèses dégagées au cours de cette première phase, ont été vérifiées dans le chapitre II grâce à une étude analytique séparée des métabolismes végétaux et microbiens. La mesure de l'intensité respiratoire de végétaux coupés, selon leur état de siccité et la température, nous a permis d'établir le bilan thermodynamique de la respiration de fourrages humides mis en tas. L'influence du métabolisme microbien a, d'autre part, été déterminée en comparant la conservation de fourrages stérilisés et de fourrages contaminés.

La responsabilité de la microflore se révélant prépondérante dans la détérioration des foins humides, et pouvant même être à l'origine de risques pathogènes, nous avons étudié dans le chapitre III, l'emploi de méthodes chimiques susceptibles d'inhiber les développements microbiens.

Nous avons examiné plusieurs conservateurs :

- l'acide propionique, en cherchant à l'incorporer de manière simple sur les nouvelles presses à balles rondes se substituant progressivement aux presses traditionnelles "moyenne densité" ;
- les spécialités commerciales, utilisées par de nombreux éleveurs ;
- le chlorure de sodium dont l'emploi reste encore aujourd'hui d'actualité tout en étant très controversé ;
- et enfin, l'ammoniac qui, outre un effet conservateur, allie d'autres avantages potentiels pour l'alimentation des ruminants ; dans le cas de l'ammoniac, nous avons surtout cherché à mettre au point une technique de traitement satisfaisante et à préciser, avec le CRZV de Theix la valeur alimentaire des fourrages traités.

Pour l'évaluation de ces conservateurs, effectuée au laboratoire et/ou en conditions réelles, nous sommes appuyés sur la conservation comparée de fourrages traités et de fourrages témoins, sur la base de mesures d'échauffement, de qualité microbiologique, de pertes de matière nutritive et de modifications de valeur alimentaire.

## MATERIELS ET METHODES

# 1. METHODES DE MESURE DES PARAMETRES DE RECOLTE ET DE CONSERVATION DES FOINS HUMIDES

## 1.1. ECHANTILLONNAGE

Les échantillons destinés aux analyses biochimiques et microbiologiques sont prélevés manuellement dans l'andain à la récolte, puis au cœur des lots expérimentaux après conservation.

L'échantillonnage pendant la conservation est réalisé mécaniquement à l'aide d'une carotteuse animée par un moteur électrique de 600 W permettant de prélever des carottes de 50 cm de long et de 7 cm de diamètre; les cavités créées sont rebouchées avec du fourrage sec afin d'éviter de perturber les phénomènes d'échauffement.

## 1.2. METHODES BIOCHIMIQUES

### *Teneur en matière sèche*

La teneur en matière sèche est obtenue par séchage à l'étuve à 105°C pendant 24 h ; l'évolution du degré de siccité du fourrage sur le terrain est suivie avec une étuve rapide à gaz qui permet d'obtenir une bonne estimation de la teneur en matière sèche en moins d'une heure (Annexe 1).

### *Matières minérales et matière organique*

L'échantillon préalablement séché, à 105°C pendant 24 h est incinéré pendant au moins 5 h dans un four à moufle porté à 600°C. Les matières minérales sont pesées et rapportées à la matière sèche initiale; la matière organique est obtenue par différence.

### *pH*

25 g de fourrage sont placés dans un bécher de 500 ml et recouverts d'eau distillée. L'ensemble est mis à macérer pendant 15 h à 5°C. La mesure du Ph est effectuée avec un pH-mètre électronique sur le filtrat laissé 3 h à température ambiante.

### *Pertes de matière sèche durant la conservation*

Elles sont estimées, soit directement par mesure de la teneur en matière sèche et pesée, soit indirectement par mesure de la variation de concentration des matières minérales (Annexe 2).

### *Matières Azotées Totales*

Les matières azotées totales sont déterminées à partir du dosage de l'azote total selon la méthode de KJELDAHL. (Annexe 2).

### *Cellulose brute*

La cellulose brute est estimée selon la méthode de WEENDE (Annexe 3).

### *Constituants pariétaux totaux*

La teneur en constituants pariétaux totaux est déterminée par la méthode au détergent neutre (N.D.F.) de VAN SOEST et WINE (1967) (Annexe 4).

### *Glucides solubles*

La teneur en glucides solubles est dosée selon la méthode de SOMOGYI (1952) (Annexe 5).

### *Digestibilité in vitro*

La digestibilité de la matière organique est estimée par attaque dans une solution de cellulase

après un prétraitement dans une solution acide de pepsine, selon la méthode d'AUFRERE (1982) (Annexe 6).

Les matières azotées non digestibles sont calculées selon les propositions de DULPHY (non publiée) à partir du dosage des matières azotées totales insolubles dans la pepsine (Annexe 6).

### 1.3. METHODES IN VIVO

La valeur alimentaire des fourrages (ingestibilité, digestibilité) est mesurée sur des béliers maintenus en cages à métabolisme (DEMARQUILLY et BOISSEAU, 1976) (Annexe 7).

### 1.4. METHODES PHYSIQUES – THERMOMETRIE

L'échauffement est mesuré en continu à l'aide de thermocouples Cu-Constantan, reliés à un enregistreur papier MECI disposant de 16 voies de mesure; pour les essais en conditions réelles, ce suivi n'est permanent que pendant la phase initiale de montée en température (8 à 10 jours) ; la phase ultérieure, stationnaire puis lentement décroissante de l'échauffement, est contrôlée par des mesures périodiques (2 fois 2 h/jour) commandées par une horloge.

Le nombre et la disposition des thermocouples sont choisis en fonction du volume et de la forme du matériel végétal ; l'absence de références sur la distribution de la température au sein des balles rondes a nécessité la réalisation d'une expérience préliminaire (cf. chapitre I) pour déterminer la meilleure implantation des points de mesure. L'échauffement est caractérisé par la courbe de température, la température maximale et la somme S des écarts de température avec l'ambiance :

$$S \text{ en } ^\circ\text{C} \times \text{jour} = \int_0^t (T_f - T_a) dt$$

où :

- $T_f$  = température moyenne du fourrage (moyenne des différents points de mesure)
- $T_a$  = température ambiante
- $t$  = durée pendant laquelle  $T_f > T_a$

Pour simplifier le calcul de S, la température ambiante est supposée constante sur 24 h et égale à la moyenne des températures maximale et minimale de la journée considérée.

### 1.5. METHODES MICROBIOLOGIQUES

#### 1.5.1. Milieux de culture

Les milieux de culture doivent être suffisamment diversifiés et sélectifs pour permettre une expression aussi complète que possible de la microflore : bactéries, Actinomycètes, levures et moisissures. Les milieux de culture pour bactéries et Actinomycètes ont été rendus sélectifs par l'addition de cycloheximide (20 mg/l).

La sélectivité à l'égard des champignons a été réalisée par une combinaison streptomycine (100 mg/l)-pénicilline (50 mg/l) ajoutées après la stérilisation du milieu. L'apport de rose Bengale (35 mg/l), en ralentissant la croissance des moisissures, limite l'envahissement des milieux par certains champignons luxuriants, les Mucorales notamment, et facilite l'observation, les isollements et les dénombrements.

*Milieu Tryp-case-Soja (TS)*

Le milieu tryp-case-soja (BIOMERIEUX) gélosé à 20 g/l permet la croissance de la plupart des germes bactériens hétérotrophes.

*Milieu Glycérol-Asparagine (AM) utilisé pour l'isolement des Actinomycètes mésophiles*

- Eau distillée : 1000 ml ; glycérol : 10 g ; Asparagine anhydre : 1 g ; K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> : 1 g ; solution de sels minéraux: 1 ml ; agar : 12 g. pH 7.4. Stérilisation à 120°C pendant 20 mn.
- Solution de sels minéraux : eau distillée : 100 ml ; Fe SO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O : 0,1 g ; Mn CL<sub>2</sub> 4 H<sub>2</sub>O : 0,1 g ; Zn SO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O : 0,1 g.

*Milieu glucose - extrait de levure-malt (AT)*

Ce milieu recommandé par CORBAZ, GREGORY et LACEY (1963) a été utilisé pour l'isolement des Actinomycètes thermophiles (AT).

. Eau distillée : 1000 ml ; Glucose : 4 g ; Extrait de levure (Difco) : 4 g ; Extrait de malt (Difco) : 10 g ; CO<sub>3</sub> Ca : 2 g ; Agar : 15 g. pH ajusté à 7,2. Stérilisation à 120°C pendant 20 mn.

*Milieu d'Emerson*

Le milieu d'Emerson favorise la recherche des champignons thermophiles.

. Eau distillée : 1000 ml ; Extrait de levure (Difco) : 4 g ; Amidon soluble (Merck): 15 g ; K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>: 1 g ; Mg SO<sub>4</sub> : 0,5 g ; bacto-agar: 20 g. pH ajusté à 7,0. Stérilisation à 120°C pendant 20 mn.

*Milieu "Foin"*

. Eau distillée : 1000 ml ; 20 g de foin broyé ; 25 g d'agar. Stérilisation à 120°C pendant 20 mn.

Le foin utilisé est obtenu par séchage à 40°C du fourrage vert.

*Milieu "Nutrient Agar"*

Ce milieu convient pour la culture des bactéries.

. Eau distillée : 1000 ml ; Peptone : 10 g ; Extrait de viande Lab-Lemo (Oxoid) : 10 g ; NaCl : 5 g ; Agar : 15 g. pH ajusté à 7,2. Stérilisation à 120°C pendant 20 mn.

*Milieu M.E.A.*

Ce milieu favorise le développement d'un grand nombre de moisissures et de levures. Il est aussi utilisé pour la détermination des *Penicillium* et des *Aspergillus*.

. Eau distillée : 1000 ml ; bacto-peptone (Difco) : 1 g ; Glucose : 20 g ; Extrait de malt (Merck) : 20 g ; Agar: 20 g. Stérilisation à 115°C pendant 20 mn.

*Milieu sélectif pour les moisissures osmophiles (MO)*

Ce milieu est utilisé notamment pour la recherche des *Aspergillus* (*Eurotium*) du groupe *Glaucus*.

. Eau distillée : 1000 ml ; NaCl : 100 g ; Extrait de malt (Merck) : 50 g ; Agar : 15 g. pH ajusté à 6,5. Stérilisation à 115°C pendant 20 mn.

*Milieu d'entretien des levures*

. Eau distillée : 1000 ml ; Extrait de levure : 3 g ; Extrait de malt : 3 g ; Peptone : 5 g ; Glucose : 10 g. Stérilisation 15 mn à 120°C.

**1.5.2. Méthodes d'ensemencement et de dénombrement**

Les dénombrements microbiens ont été réalisés par la méthode des dilutions.

*Préparation des dilutions*

Le diluant utilisé est le milieu tryptone-sel.

. Eau distillée: 1000 ml ; Bacto-tryptone : 1 g ; NaCl : 8 g. Stérilisation à 120°C pendant 20 mn.

10 g de foin à analyser sont fragmentés aseptiquement en particules inférieures à 1 cm, mis à macérer dans 200 ml de diluant tryptone-sel stérile et broyés dans un "waring blendor" pendant 2 minutes. La suspension obtenue, séparée des grosses particules, est immédiatement transférée

dans un tube stérile. Elle constitue la suspension mère (dilution  $10^0$ ) destinée à la réalisation des dilutions décimales jusqu'à la dilution  $10^{-9}$  dans du milieu tryptone-sel en prenant toutes les précautions d'usage (homogénéisation de chaque suspension avant dilution, changement de pipette à chaque dilution).

#### *Ensemencement*

Les milieux sélectifs, coulés en boîtes de Pétri, ont étéensemencés en surface à l'aide de 0,1 ml de chaque dilution soigneusement réparti avec un étaloir de verre. Pour chaque condition, deux répétitions ont été réalisées.

#### *Incubation*

Les milieux de cultureensemencés ont été incubés, suivant le cas, à 25°C, à 37°C et à 50°C, boîtes en position renversée. A 50°C, pour éviter tout dessèchement prématuré du milieu de culture, les boîtes ont été au préalable groupées dans des enceintes métalliques renfermant un récipient avec de l'eau.

#### *Dénombrement*

Après incubation, chaque germe présent dans la suspensionensemencée donne naissance à une colonie bactérienne ou à un thalle fongique. Lors des dénombrements, nous n'avons retenu que les boîtes comportant de 30 à 300 colonies, les données inférieures à 30 n'étant pas significatives, celles supérieures à 300 pouvant être faussées par des concurrences ou des inhibitions entre microorganismes.

Soit :

- X le nombre de microorganismes comptés sur une boîte (ou la moyenne de 2 boîtes)
- a le n° compris entre 1 et 9 correspondant aux différentes dilutions (de  $10^{-1}$  à  $10^{-9}$ )

Compte tenu du protocole décrit précédemment, le nombre n de microorganismes par gramme de fourrage analysé est donné par la formule :

$$N = 200.X.10^a$$

Dans le cas de certaines levures et de la plupart des moisissures, les dénombrements espèce par espèce peuvent être réalisés immédiatement au seul examen des caractères cultureux. En revanche, les dénombrements bactériens spécifiques impliquent un échantillonnage des colonies puis une identification faisant intervenir l'étude de caractères biochimiques.

L'échantillon prélevé sur chaque boîte est constitué de la racine carrée du nombre total de colonies bactériennes dénombrées.

#### *Isolement en culture pure*

Les microorganismes prélevés en vue d'une identification ont été d'abord repiqués en boîte de Pétri, sur un milieu permettant leur croissance; pour en vérifier la pureté, ils ont ensuite été conservés sur milieu gélosé en tubes vissés.

### **1.5.3. Méthodes d'identification**

#### *Levures et moisissures*

Les levures ont été identifiées par le Dr. L. RODRIGUES de MIRANDA du Centraalbureau voor Schimmelcultures de Delft (Pays-Bas). Quelques moisissures de détermination délicate ou incertaine ont été confiées au Dr SAMSON du Centraalbureau voor Schimmelcultures de Baarn (Pays-Bas) qui dispose d'une vaste collection de référence.

#### *Bactéries*

L'identification des souches bactériennes mésophiles, isolées à 25°C et 37°C, a été généralement

arrêtée à la famille (cf. Annexe 8), ces microorganismes présentant peu d'intérêt dans le phénomène d'échauffement du matériel végétal ; en revanche, les bactéries thermophiles, isolées à 50°C ont été identifiées jusqu'à l'espèce. Les Actinomycètes quant à eux ont été confiés au Dr SAMSON.

L'identification des familles et espèces bactériennes rencontrées a nécessité la mise en œuvre de différents tests :

*\* Coloration de Gram*

Elle a pour but de séparer les bactéries en deux catégories : Gram + et Gram - et doit être réalisée sur des frottis fixes de cultures de moins de 24 heures.

Elle comporte les phases successives suivantes: coloration au violet cristal pendant 1 mn 30 s suivie d'un traitement au lugol pendant un temps identique.

Après lavage à l'eau, décoloration dans l'alcool à 95° pendant 30 s suivie d'un nouveau lavage à l'eau. Coloration à la fuchsine 10 % pendant 1 à 2 minutes, puis lavage à l'eau et séchage.

Les bactéries Gram + positif apparaissent violettes ; les bactéries Gram – négatif sont roses.

Une méthode de contrôle de la validité d'une coloration de Gram réalisée sur une bactérie à déterminer est d'utiliser des cultures témoins de bactéries connues. Une autre technique récente, simple et rapide, dite technique à la potasse KOHN et HENNEMAN, (1977) permet de vérifier le caractère Gram + ou Gram - d'une bactérie :

A une goutte de potasse à 3 % déposée sur une lame de verre, on mélange une colonie de la bactérie à tester prélevée sur une culture de 24 heures en milieu gélosé. Si après 1 minute environ le mélange devient visqueux et filant, la bactérie est dite KOH+. Dans le cas contraire, elle est KOH-. Les bactéries KOH+ sont Gram négatif, les bactéries KOH- sont Gram positif.

Nous avons utilisé cette technique conjointement avec la coloration de Gram pour les cas litigieux.

*\* Coloration de spores*

Elle a été réalisée sur les bactéries Gram + pour l'identification de la famille des Bacillaceae.

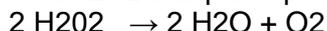
Des frottis fixés de cultures âgées de 8 jours, sur gélose nutritive, sont placés sur une platine chauffante et recouverts de vert malachite. Les lames sont maintenues sur la platine pendant 10 minutes, après l'émission des premières vapeurs en ajoutant, si nécessaire, quelques gouttes d'eau distillée quand le colorant prend une teinte irisée. Après lavage pour éliminer le maximum de vert malachite, la préparation est colorée à la safranine pendant 30 secondes, puis lavée et séchée. Les spores sont colorées en vert, les formes végétatives en rouge. Les spores sont caractérisées par leur position centrale, terminale ou subterminale et par leur caractère déformant ou non-déformant pour la cellule.

*\* Test cytochrome-oxydase*

Sur un disque imprégné de diméthyl-p-phénylène-diamine (disques commercialisés par BIOMERIEUX) préalablement placé sur une lame de verre et humecté, on dépose en stries, à l'aide d'une effilure de pipette Pasteur, une portion de colonie bactérienne à tester. Une réaction positive, donc la présence d'oxydase, se traduit par l'apparition immédiate d'une coloration mauve plus ou moins foncée.

*\* Test catalase*

Sur une lame de verre propre, on réalise une suspension de la culture bactérienne à identifier dans une goutte d'eau oxygénée à 10 vol. Un dégagement immédiat de bulles de gaz (O<sub>2</sub>) provenant de la décomposition d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indique la présence d'une catalase :



*\* Galerie d'identification Api 20 E (Entérobactéries)*

Cette galerie utilisée en France depuis près de 25 ans, constitue un instrument d'emploi facile et fiable pour la détermination des bactéries Gram -, anaérobies facultatives, à métabolisme

fermentatif, cytochrome, oxydase négatives, appartenant à la famille des Entérobactériaceae. Elle est également utilisée maintenant, en association avec la galerie Api 50 CH, pour l'identification spécifique de bacilles habituellement Gram + positif aérobies, sporulés du genre *Bacillus* : Les tests figurant sur la galerie Api 20 E sont décrits, à titre d'exemple, dans l'Annexe 9.

*\* Galerie d'identification API 20 NE*

Les bactéries Gram négatif ne présentant pas les caractères des Enterobacteriaceae, notamment celles oxydase + à métabolisme oxydatif, ont été déterminées à l'aide de galeries API 20 NE et du catalogue analytique correspondant.

Cette galerie permet de réaliser 20 tests biochimiques : réduction des nitrates ; production d'indole ; fermentation du glucose; arginine dihydrolase; hydrolyse de l'urée (uréase); hydrolyse de l'esculine ( $\beta$ -glucosidase); hydrolyse de la gélatine (protéase)  $\beta$ -galactosidase ; assimilation du glucose, arabinose, mannose, mannitol, N-acetyl-glucosamine, maltose, gluconate, caprate, adipate, malate, citrate, phenyl-acétate.

*\* Galerie d'identification Api 50 C (Bacillus)*

La galerie Api 50 CH est constituée de 5 bandes de 10 tubes qui contiennent, sous forme déshydratée, des substrats différents appartenant à une même famille chimique : oses et dérivés (hétérosides, poly-alcools, acides uroniques). Ces substrats sont les suivants :

Bande n° 1		Bande n° 2		Bande n° 3		Bande n° 4		Bande n° 5	
N° tube	Substrat	N° tube	Substrat	N° tube	Substrat	N° tube	Substrat	N° tube	Substrat
0	TÉMOIN	10	GALACTOSE	20	$\alpha$ MÉTHYL MANNOSIDE	30	MÉLIBIOSE	40	D TURANOSE
1	GLYCÉROL	11	GLUCOSE	21	$\alpha$ MÉTHYL GLUCOSIDE	31	SACCHAROSE	41	D LYXOSE
2	ERYTHRITOL	12	FRUCTOSE	22	N ACÉTYL GLUCOSAMINE	32	TRÉHALOSE	42	D TAGATOSE
3	D ARABINOSE	13	MANNOSE	23	AMYGDALINE	33	INULINE	43	D FUCOSE
4	L ARABINOSE	14	SORBOSE	24	ARBUTINE	34	MELEZITOSE	44	L FUCOSE
5	RIBOSE	15	RHAMNOSE	25	ESCULINE	35	RAFFINOSE	45	D ARABITOL
6	D XYLOSE	16	DULCITOL	26	SALICINE	36	AMIDON	46	L ARABITOL
7	L XYLOSE	17	INOSITOL	27	CELLOBIOSE	37	GLYCOGENE	47	GLUCONATE
8	ADONITOL	18	MANNITOL	28	MALTOSE	38	XYLITOL	48	2 CETO GLUCONATE
9	$\beta$ MÉTHYL XYLOSIDE	19	SORBITOL	29	LACTOSE	39	GENTIOBIOSE	49	5 CETO GLUCONATE

Les galeries, utilisées pour la détermination de *Bacillus* thermophiles, ont été incubées à 55°C pendant 24 heures avec deux relevés des résultats à 12 et 24 heures, les profils biochimiques obtenus avec cette galerie et la galerie Api 20 E ont été envoyés au Laboratoire de Recherche API pour identification par le service informatique. L'Annexe 10 donne des exemples de profils individuels de souches de *Bacillus*.

## 2. METHODES D'ESSAIS DES CONSERVATEURS POUR FOINS HUMIDES

### 2.1. ESSAIS EN LABORATOIRE

#### 2.1.1. Sur milieux de culture

Le conservateur à étudier est incorporé immédiatement avant le coulage en boîte de Pétri, à la concentration désirée, au milieu nutritif gélosé stérilisé et en surfusion (vers 45°C); cette technique permet de minimiser les pertes de matière active pour les conservateurs volatils.

Les boutures de thalles fongiques, de dimensions 1 à 2 mm, sont prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur coudée, à la marge de cultures mères dans la zone mycélienne, puis ensemencées sur la surface des milieux nutritifs refroidis, au centre géométrique des boîtes de Pétri.

Après incubation à 22°C et 37°C selon le caractère mésophile ou thermophile des espèces choisies, les croissances respectives des thalles sont mesurées (diamètre de la culture en mm) et comparées à celles des témoins, ensemencés sur milieu sans conservateur, quand ceux-ci ont atteint leur taille maximale. Le taux de croissance est exprimé en % du témoin, à partir de moyennes portant sur 3 répétitions.

### 2.1.2. Sur petits lots de foin

#### *Flacons de 2 l*

Les conservateurs liquides sont incorporés par pulvérisation sur le fourrage tronçonné en brins de 5 cm, soit sous forme pure, dans le cas du fourrage frais, soit dilués dans l'eau de réhumidification dans le cas de l'utilisation de fourrages conservés (cf. chapitre II).

Les fourrages témoins et traités sont ensuite répartis à raison d'environ 150 g par flacon et de 3 répétitions par traitement ; les conservateurs solides sont, eux, incorporés manuellement dans chaque flacon pour éviter des différences de dosage au sein d'un même traitement. Un matelas de coton hydrophile de 5 cm d'épaisseur placé sur l'ouverture des flacons permet de ralentir la dessiccation du fourrage, tout en assurant une aération suffisante par diffusion.

Après incubation de l'ensemble des lots à 20-22°C pendant 3 semaines, la pollution fongique est appréciée visuellement et les pertes de matière sèche mesurées par bilan direct.

#### *Enceintes calorifugées à aération contrôlée*

Cette technique d'essais, mise au point pour les besoins de l'étude est décrite en détail dans la partie expérimentale, chapitre II. Chaque enceinte reçoit environ 3 kg de fourrage humide (frais ou réhumidifié), tronçonné en brins de 5 cm, avec ou sans traitement. Le débit d'aération est ajusté à 5 l d'air/h.kg de fourrage ; 3 thermocouples par enceinte, connectés à un appareil enregistreur, assurent le suivi de l'échauffement.

Après 3 semaines de conservation, la contamination fongique du fourrage extrait des enceintes est appréciée globalement par examen visuel ou fait l'objet d'analyses microbiologiques. Les pertes de matière sèche sont estimées par bilan direct sur le contenu intégral des enceintes, déduction faite des prélèvements destinés aux analyses microbiologiques.

## 2.2. ESSAIS EN CONDITIONS REELLES

#### *Récolte*

La parcelle utilisée, de forme rectangulaire ou carrée, doit être de peuplement homogène. La surface totale correspondant aux différents lots de fourrage de l'essai est fauchée aussi rapidement et régulièrement que possible avec une faucheuse-conditionneuse, de manière à :

- améliorer la vitesse de dessiccation, facteur de sécurité,
- obtenir des andains réguliers et homogènes, tant en quantité de matière par mètre linéaire - pour les bilans globaux "matière sèche" - qu'en teneur en matière sèche.

Les andains, non éparpillés, sont retournés au moins journalièrement. L'étuve rapide à gaz permet de suivre la dessiccation du fourrage avec un temps de réponse inférieur à 60 minutes. Aux différents stades de siccité prévus par le protocole, le fourrage est récolté, soit avec une autochargeuse pour le fourrage séché ensuite par ventilation tiède, soit avec une presse moyenne densité ou une presse à balles rondes pour les autres lots (humide témoin, humide traité et séché au sol).

Pour les essais prévoyant un bilan "matière sèche", les lots sont constitués d'un nombre identique d'andains, de même longueur et d'égale équidistance sur la parcelle. Les lots humides, témoin et

traite, sont pressés en même temps avec des matériels identiques, ou avec un léger décalage, dans le cas de l'utilisation d'un seul matériel de récolte; un essai préalable, permet de déterminer la vitesse de pressage (en t/h) et d'ajuster en conséquence le débit du matériel d'incorporation (en l/h), quand le conservateur doit être appliqué sur la presse.

### *Conservation*

Dans le cas des conservateurs agissant sous forme solide ou liquide, les balles sont conservées sous abri, en tas parallélépipédiques de volumes au moins égaux à 10 m<sup>3</sup> pour les balles moyenne densité, disjointes et axe horizontal pour les balles rondes ; dans le cas des conservateurs agissant sous forme gazeuse, les balles sont stockées en meules bâchées.

Les fourrages des différents lots font l'objet des mesures décrites dans le paragraphe "Méthodes de mesure des paramètres de récolte et de conservation des foins humides".

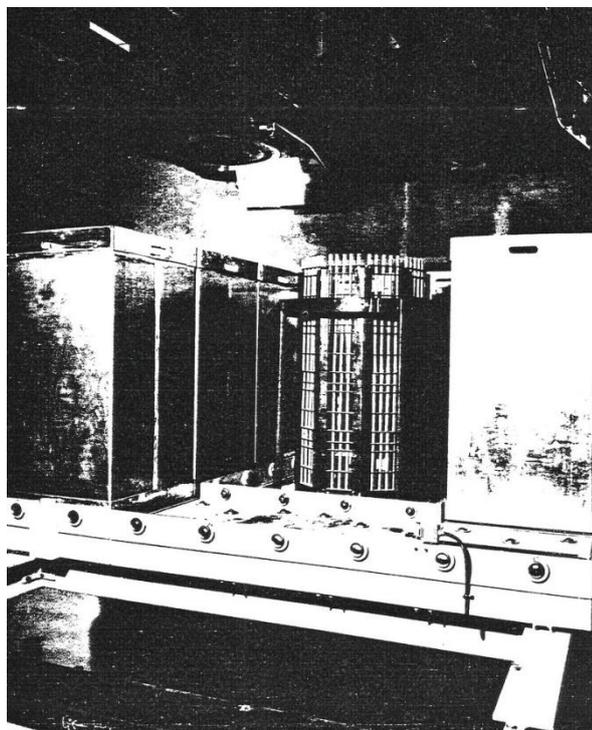
## **3. AUTRES METHODES MISES EN ŒUVRE**

### **3.1. STERILISATION**

Pour certaines expériences touchant au déterminisme des phénomènes d'échauffement du matériel végétal, des fourrages ont été stérilisés par irradiation gamma, par l'oxyde d'éthylène ou par l'alcool et le chlorure de mercure.

*Photographie 1 : Irradiateur "pilote et recherche" de capacité 300 000 curies*

#### *Irradiation gamma*



Le fourrage, disposé dans les enceintes calorifugées à aération contrôlée décrites au chapitre II, a été soumis à un rayonnement gamma issu d'une source radioactive de Cobalt 60, dans l'irradiateur "pilote et recherche" de capacité 300 000 curies construit en 1969 par la Société CONSERVATOME à DAGNEUX dans l'Ain (photographie 1).

#### *Oxyde d'éthylène*

Ce type de stérilisation a été réalisé dans les installations du C.R.Z.V. de Theix, sur du fourrage placé dans des enceintes calorifugées à aération contrôlée.

Les enceintes communiquant via un filtre avec l'atmosphère du stérilisateur, la succession des opérations de stérilisation est la suivante :

- vide d'air voisin de 0 mm de Hg pendant 45 mn,

- traitement pendant 12 h à 50°C sous 1,6 bar avec un mélange d'oxyde d'éthylène (15 %) et de gaz carbonique (85 %), en atmosphère humide,
- purge de l'oxyde d'éthylène grâce à 5 mises en dépression successives du stérilisateur.

#### *Alcool et chlorure de mercure*

Le matériel végétal, placé dans une gaze de nylon, est plongé 3 secondes dans l'alcool à 50 %, puis rincé immédiatement dans un premier bain de chlorure de mercure à 2,5 %; il est ensuite immergé durant 5 minutes dans un second bain de chlorure de mercure à 2,5 %, puis rincé dans l'eau distillée stérile.

### **3.2. RESPIROMETRIE**

Les mesures d'activité respiratoire de végétaux coupés ont été réalisées grâce au respiromètre différentiel GILSON; cet appareil permet de mesurer avec une précision de l'ordre de microlitre soit au 1/1000 de cm<sup>3</sup>, des variations de volumes gazeux provoquées par un système quelconque placé dans une enceinte maintenue à pression constante. Les variations de volumes gazeux peuvent être positives, comme dans le cas d'une émission de gaz carbonique par un processus fermentaire, ou négatives s'il s'agit, par exemple, d'une absorption d'oxygène (cas de la respiration aérobie d'un système biologique). La description et le mode opératoire du respiromètre GILSON sont donnés par l'Annexe II.

## RESULTATS

CHAPITRE I  
ETUDE DE L'EVOLUTION PHYSICO-CHIMIQUE  
ET MICROBIOLOGIQUE DE FOINS HUMIDES

# 1. ETUDE DE L'EVOLUTION PHYSICO-CHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DE FOINS HUMIDES

Nous nous proposons au cours de ce chapitre de suivre l'évolution physico-chimique et microbiologique de foins humides et d'en dégager des enseignements sur les mécanismes de biodétérioration, impliqués en particulier dans le processus d'échauffement.

## 1.1. EVOLUTION DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES

L'évolution de la température, de la matière sèche, du poids, du pH, survenant au cours du stockage de balles rondes a été étudiée sur divers types de fourrage dont nous donnerons les caractéristiques au fur et à mesure des analyses.

### 1.1.1. Température

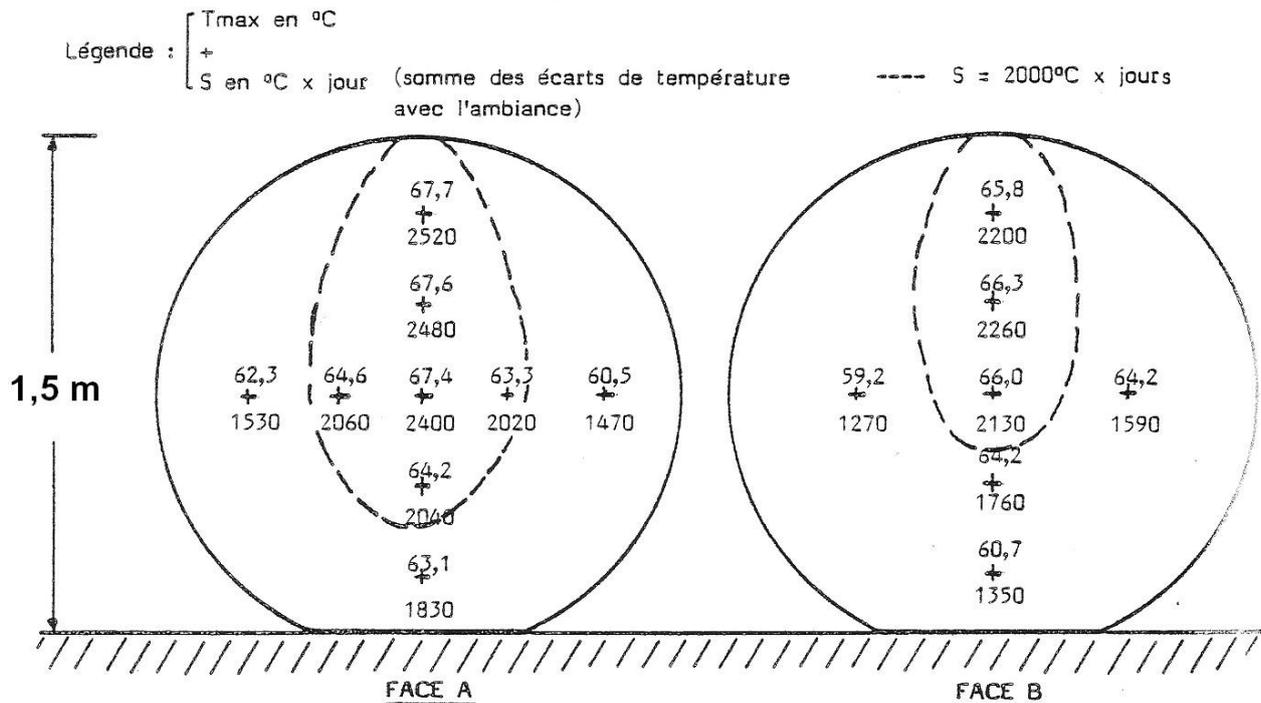
Le suivi de la température au sein des balles rondes a nécessité la mise au point d'une méthode rationnelle visant à utiliser le nombre minimal de points de mesure, compatible avec l'obtention d'une image fidèle de l'échauffement. Le choix du nombre et de la localisation des points de mesure exige de bien connaître la distribution de la température au sein d'une grosse balle ronde.

#### *Distribution de la température*

Une balle d'un fourrage de brome à 69,4 % de matière sèche, de 1,50 m de diamètre et d'un poids de 623 kg a été équipée de 16 thermocouples reliés à un appareil enregistreur multivoie. La balle reposant sur une partie de sa circonférence, les thermocouples ont été placés dans deux plans parallèles aux faces planes et distants de 0,40 m de chacune d'entre elles (9 thermocouples sur la face A et 7 sur la face B). Les températures ont été suivies pendant toute la phase d'échauffement qui a duré 2 mois et demi.

La figure 7 montre la position des thermocouples au sein de la balle et indique pour chacun d'eux la température maximale mesurée accompagnée de la somme des écarts de température avec l'ambiance calculée en °C x jour sur la durée totale de l'échauffement.

Figure 7 : Distribution de la température maximale et de la somme des écarts de température avec l'ambiance au sein d'une balle ronde d'un fourrage de brome récolté à 69,1% 5 de MS



Les valeurs obtenues se distribuent selon un plan symétrique vertical passant par l'axe de la balle.

Les températures maximales atteintes et les sommes des écarts de température décroissent du centre de la balle vers les zones périphériques latérales et inférieures.

Fait remarquable, la zone périphérique supérieure connaît un échauffement aussi marqué que celui manifesté par la zone centrale et la courbe équipotentielle correspondant à  $2000^{\circ}\text{C} \times \text{jours}$  est très nettement déformée vers le haut; cette élévation de température plus active dans la région supérieure s'explique par un phénomène convectif de cheminée provoqué par l'échauffement.

Le traitement des résultats par un programme d'ajustement de courbes montre que la somme S des écarts de température est bien corrélée avec la valeur  $\Delta T$  ( $\Delta T$  = température maximale - température ambiante) par une loi de la forme :

$$S = 5,4 \cdot 10^{-4} \cdot \Delta T^{3,87} \quad r = 0,945$$

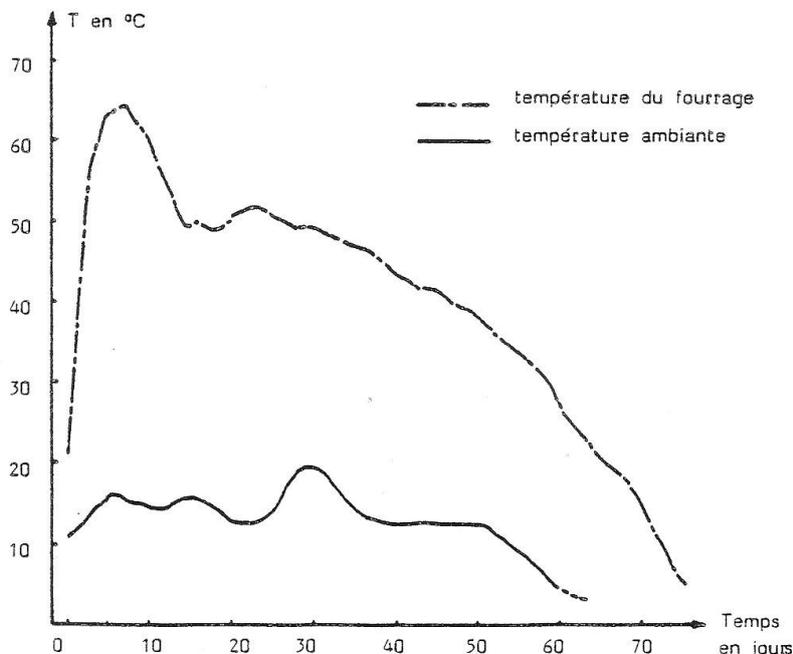
(°Cxjour)      (°C)

Les observations montrent bien que l'échauffement n'est pas homogène au sein d'une balle ronde posée sur le sol. Sur le plan pratique on peut en conclure que 2 à 3 points de mesure placés à 30 ou 40 cm des faces planes, dans la partie centrale et supérieure d'un plan vertical passant par l'axe de la balle suffisent pour déterminer les conditions thermiques de conservation des zones les plus sujettes à dégradation.

#### *Evolution de la température moyenne*

La figure 8 montre l'évolution de la température moyenne de la balle de fourrage de brome précédemment décrite. La température s'élève de plusieurs dizaines de degrés dans les jours qui suivent le pressage pour atteindre  $65^{\circ}\text{C}$  environ avec un maximum à  $67,7^{\circ}\text{C}$  dans la partie supérieure de la balle après 6 jours. A partir de ce moment, la température décline lentement et revient à l'ambiance après deux mois et demi de stockage.

Figure 8 : Evolution de la température moyenne d'une balle ronde d'un fourrage de brome récolté à 69,4 % de MS



#### *Influence du taux de matière sèche sur l'échauffement*

L'influence du taux de matière sèche sur l'évolution de la température a été étudiée par comparaison de deux balles d'un fourrage âgé de fétuque de première coupe, distinguées dans le texte par les numéros 1 et 2. Les deux balles ont été récoltées consécutivement mais à des taux

de matière sèche distincts en raison de durées de fanage différentes pour les deux fourrages :

- 49 h pour le fourrage de la balle 1 ;
- 7 h pour le fourrage de la balle 2.

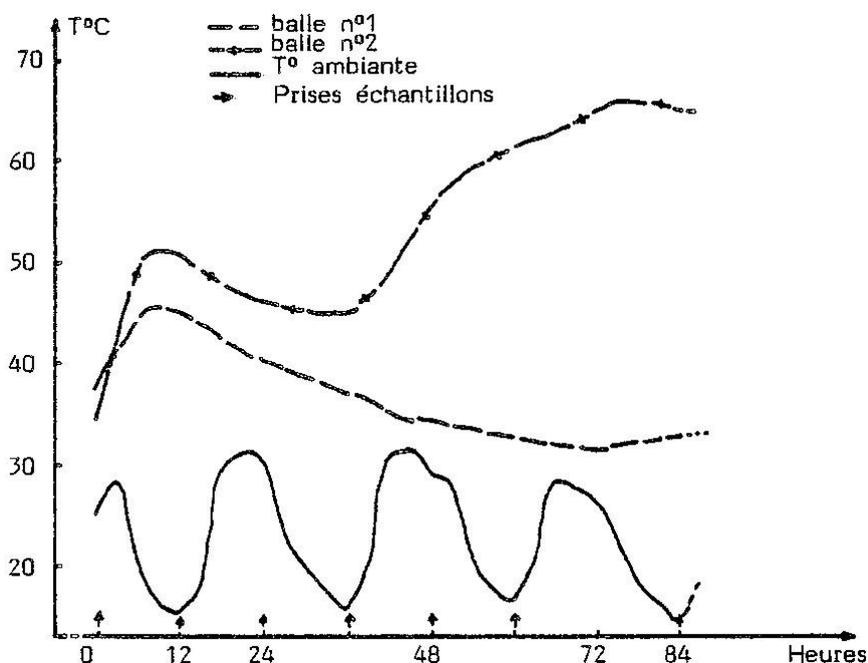
Les caractéristiques de ces deux balles, qui seront aussi utilisées pour d'autres mesures et des analyses microbiologiques, sont données dans le tableau 17.

Tableau 17 : Caractéristiques physiques des balles 1 et 2

	Dimensions	Poids en Kg	M.S. totale en Kg	Taux de matière sèche
BALLE 1	Largeur : 1,2 m Diamètre : 1,4 m	289	210	72,8 % ± 3,7 % Val. mini : 65,8 % Val. maxi : 78,0 %
BALLE 2	Largeur : 1,2 m Diamètre : 1,4 m	401	212	54,7 % ± 4,3 % Val. mini : 46,9 % Val. maxi : 61,3 %

La figure 9 montre l'évolution comparée de la température moyenne au sein des deux balles pendant les premières heures du stockage. On constate, dans les deux cas, la présence d'un premier pic de température dont le sommet est atteint après 8-9 heures avec toutefois des différences dans l'intensité de l'échauffement. Pour la balle, la plus sèche, la température maximale du premier pic s'élève à 45°C avec un gradient maximal de 1°C/h contre 52°C et un gradient de l'ordre de 2,3°C/h pour la balle 2 plus humide.

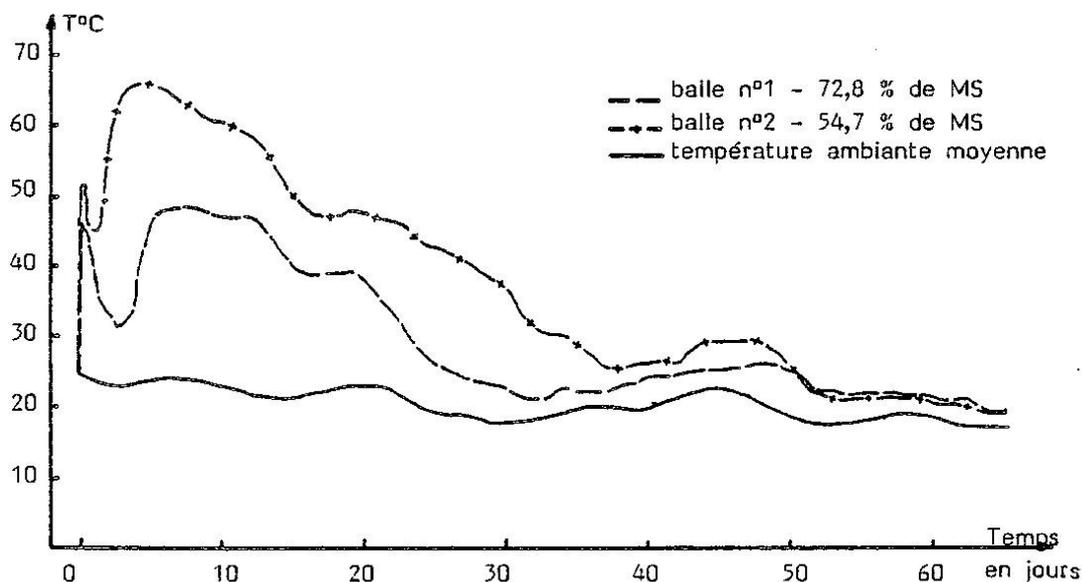
Figure 9 : Evolution comparée de la température des fourrages à 72,8 et 54,7 % de matière sèche, durant les trois premiers jours de stockage



A cette élévation de température succède une phase de décroissance plus courte et moins prononcée pour la balle 2 (7°C sur 24 heures) que pour la balle 1 (14°C sur 60 heures), suivie d'une nouvelle accentuation de la thermogenèse et donc de la formation d'un second pic (figures 9 et 10). Pour la balle 2, la température maximale atteinte lors de cette deuxième phase d'échauffement survient au cours du 3ème jour et s'élève à 65°C; pour la balle 1, la température

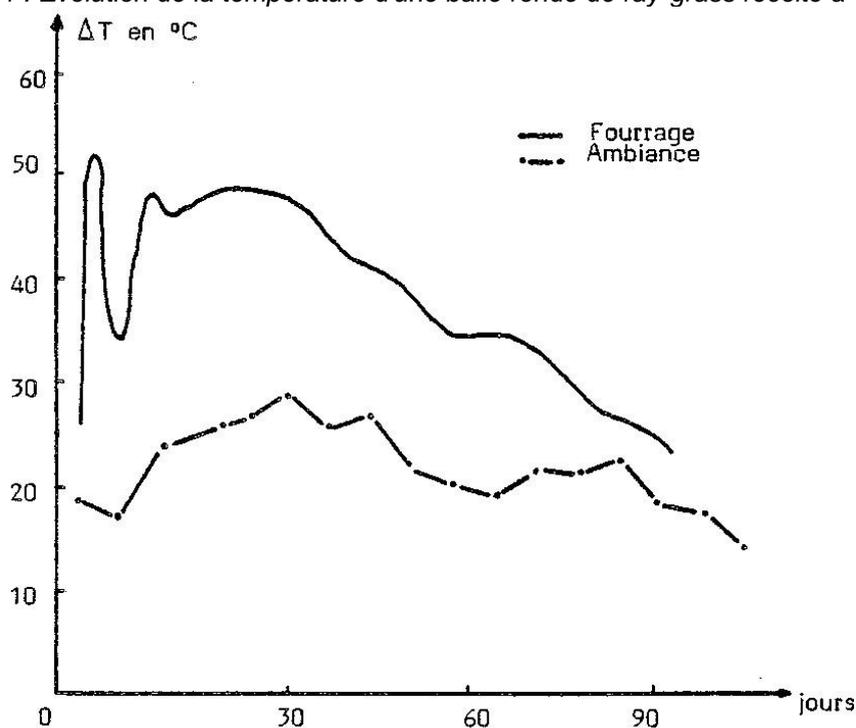
maximale avoisine 48°C après un délai de 6 jours. La température se maintient ensuite à ce niveau pendant une dizaine de jours environ, puis s'abaisse lentement pour rejoindre après deux mois de stockage les valeurs de la température ambiante.

Figure 10 : Evolution comparée de la température des fourrages à 72,8 et 54,7 % de matière sèche, durant le stockage



Ce phénomène d'échauffement, caractérisé par la succession de deux phases d'échauffement, a été rencontré aussi dans le cas de balles rondes de ray-grass récoltées à des taux de matière sèche compris entre 69 et 77 % et dont on voit sur les figures 11 et 12 l'enregistrement du premier pic de température. Dans le cas de la balle de brome à 69,4 % de MS, ce pic initial n'est pas distinct.

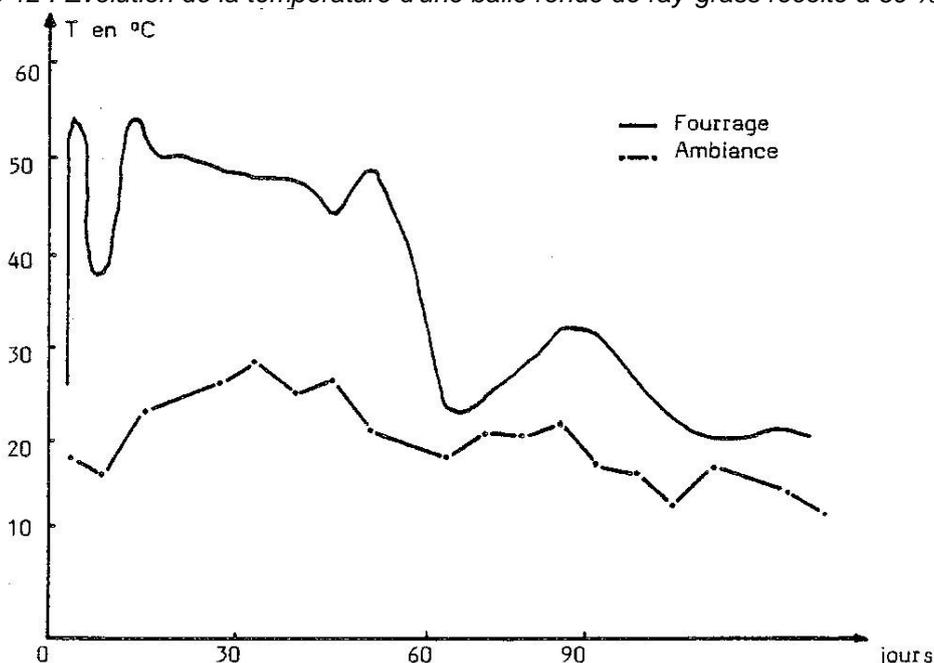
Figure 11 : Evolution de la température d'une balle ronde de ray-grass récolté à 77 % de MS



Il est intéressant de remarquer sur les enregistrements de la figure 9 que l'inertie thermique et le

pouvoir isolant du fourrage sont tels que les variations de la température ambiante ne se répercutent pas sur la température interne des balles.

Figure 12 : Evolution de la température d'une balle ronde de ray-grass récolté à 69 % de MS



En résumé, l'intensité de l'échauffement dépend du taux de matière sèche. La thermogenèse est plus accusée pour le fourrage le plus humide mais comporte presque toujours deux phases distinctes : une élévation très rapide et fugace de température relayée par un échauffement plus lent, plus intense, se prolongeant au cours du stockage. La deuxième phase d'échauffement se manifeste avec un retard croissant pour un taux de matière sèche plus élevé.

### 1.1.2. Taux de matière sèche

Sous l'action de l'échauffement, le taux de matière sèche des balles 1 et 2 expérimentales, s'élève nettement dès les premiers jours de stockage, de 6 à 7 points après 84 heures (tableau 18). En fin de stockage, la différence atteint une quinzaine de points pour la balle 1 la plus sèche (72,8 contre 87,3) et 27 points pour la balle 2 plus humide au départ (54,7 contre 82,0). L'écart du taux de matière sèche entre les deux balles, de 18 points au départ (72,8 contre 54,7) est réduit à 5 points après 2 mois et demi de stockage (87,3 contre 82,0).

Tableau 18 : Evolution au cours du stockage du taux de matière sèche et du pH d'un fourrage

Temps en h après le pressage	Taux de matière sèche en %		pH	
	Balle 1	Balle 2	Balle 1	Balle 2
0 (témoin du champ)	72,8	54,7	6,73	6,69
12	75,6	55,4	6,57	6,51
24	70,8	56,6	6,46	6,32
36	75,2	56,5	5,78	5,89
48	80	59,7	-	-
60	79,1	59,1	6,75	6,38
84	79,1	60,9	6,63	5,82
75 x 24 (fin de stockage)	87,3	82,0	5,95	7,55

Notons que l'hétérogénéité du fourrage est à l'origine de certaines variations à l'exemple des échantillons prélevés dans la balle 1 dont le taux de matière sèche s'écarte parfois de la courbe moyenne de dessiccation. Nous verrons plus loin les conséquences de cette hétérogénéité sur le développement de la flore microbienne.

En conclusion, au cours du stockage, le taux de matière sèche s'élève et dépasse 80 %. Dès les premiers jours, le fourrage perd rapidement de son humidité.

### 1.1.3. pH

Les fluctuations du pH (tableau 18) ne permettent pas de dégager une tendance particulière, mais dans l'ensemble les valeurs observées au cours du stockage sont légèrement inférieures à celle du champ. Le pH se maintient toujours à un niveau relativement élevé par rapport aux valeurs qu'il peut atteindre dans le cas d'ensilages où il descend parfois jusqu'à 3,5.

## 1.2. EVOLUTION MICROBIOLOGIQUE

Les balles 1 et 2 dont nous avons décrit les caractéristiques au cours de ce chapitre, ont servi aussi aux analyses microbiologiques pour suivre l'évolution de la flore fongique et bactérienne durant le processus d'échauffement. En raison de l'élévation très rapide de la température, nous avons dû, pendant les premiers jours de l'expérimentation, procéder à des analyses répétées de 12 h en 12 h.

La flore de fin de stockage, après la chute de la température, a été déterminée lors d'un dernier prélèvement effectué 75 jours après le pressage. Les milieux de culture pour bactéries (trypcase-soja), pour Actinomycètes (AM et AT) et pour champignons (MEA, milieux d'Emerson et hypersalé) ont été, après ensemencement, incubés à 25,37 et 50°C pour faciliter l'expression aussi complète que possible de la flore et rechercher l'évolution de populations présentant des exigences différentes à l'égard de la température.

Plus d'une centaine de souches fongiques et près de 300 souches bactériennes ont été isolées en culture pure pour une étude taxonomique.

### 1.2.1. Champignons

Les résultats sont résumés dans les tableaux 19 et 20.

#### 1.2.1.1. Flore du champ

Présente dans le fourrage au moment du pressage, elle est composée d'espèces du sol ou communément saprophytes sur les substrats végétaux morts, appartenant notamment aux genres *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Phaeoseptoria*, *Phoma*, *Ascochyta*. Ce sont essentiellement des Hyphomycètes et des Coelomycètes auxquels s'associent quelques levures : *Aureobasidium pullulans*, *Kluyveromyces thermotolerans*, *Metschnikowia pulcherima*, *Sporobolomyces roseus* et *Trichosporon beigellii*.

On y trouve même pour la balle 2 un Ascomycète coprophile : *Sporormiella minima*. Il est certain que cette liste s'allongerait considérablement avec la multiplication des analyses.

Dans la balle 1, la plus sèche et siège d'un échauffement modéré, cette flore du champ se maintient jusqu'à la soixantième heure et disparaît ensuite complètement des analyses. Pour la balle 2, plus humide et dont l'échauffement est plus intense, la flore du champ disparaît précocement, après le deuxième jour. Quelques espèces, comme *Alternaria alternata* réapparaissent sporadiquement par la suite, probablement, à la faveur d'une hétérogénéité du taux de matière sèche du fourrage et d'un échauffement local moindre. Les espèces du champ sont mésophiles voire psychrotolérantes ; elles ont toutes été isolées sur les milieux incubés à 25°C, jamais à 37 ou 50°C.

Tableau 19 : balle n°1 (72,8 % de MS) ; flore fongique du fourrage durant la phase initiale de l'échauffement et en fin de stockage ; nombre de germes par g de fourrage

Prélèvement Espèces		Temps en h		T en °C							
		0 (flore du champ)	12	24	36	48	60	84	75x24 (fin de stockage)		
<b>FLORE DU CHAMP</b>											
<b>MUCORALES</b>	Rhizopus oryzae		$8 \times 10^1$								
<b>DEUTEROMYCETES</b>	<b>HYPHOMYCETES</b>	Acremonium sp.			$10^2$						
		Alternaria alternata	$6 \times 10^3$	$8 \times 10^3$			$5 \times 10^4$				
		A. tenuissima					$5 \times 10^3$				
		Arthrinium phaeospermum			$10^2$		$5 \times 10^2$				
		Chrysosporium		$8 \times 10^1$							
		Cladosporium cladosporioides	$6 \times 10^3$	$8 \times 10^1$				$5 \times 10^3$			
		C. herbarum	$6 \times 10^4$								
		Colletotrichum dematium		$8 \times 10^1$	$10^2$			$5 \times 10^3$			
		Epicoccum purpurascens						$5 \times 10^2$	$4 \times 10^2$		
		Fusarium avenaceum						$5 \times 10^2$			
		Fusarium poae	$6 \times 10^3$								
	P. raistrickii	$6 \times 10^2$		$10^2$	$4 \times 10^2$	$5 \times 10^2$					
	Penicillium 1		$8 \times 10^3$								
<b>COELOMYCETES</b>	Coniothyrium cerealis		$1,6 \times 10^3$	$10^3$		$5 \times 10^3$					
	Ascochyta sp.	$6 \times 10^3$				$5 \times 10^3$	$2 \times 10^2$				
	Phoma herbarum	$6 \times 10^2$									
	Phaeoseptoria sp.	$6 \times 10^4$									
	Levures	$6 \times 10^2$		$4,4 \times 10^4$	$4,2 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$				
<b>FLORE DE STOCKAGE</b>											
<b>MUCORALES</b>	Absidia corymbifera				$4 \times 10^4$		$5 \times 10^3$			$2 \times 10^5$	
	Rhizomucor miehei				$4 \times 10^3$			$8 \times 10^8$			
	R. pusillus				$4 \times 10^4$		$4 \times 10^3$	$8 \times 10^8$	$7 \times 10^5$		
<b>HYPHOMYCETES</b>	Aspergillus fumigatus				$2 \times 10^2$		$4 \times 10^2$	$4 \times 10^4$	$2 \times 10^4$		
	Humicola lanuginosa							$2 \times 10^3$			
	Paecilomyces variotii									$2,8 \times 10^6$	
	Penicillium cyclopium									$4 \times 10^4$	
<b>ASCOMYCETES</b>	Emericella nidulans						$4 \times 10^2$			$2 \times 10^4$	
	Eurotium amstelodami									$1 \times 10^5$	

Tableau 20 : balle n°2 (54,7 % de MS) ; flore fongique du fourrage durant la phase initiale de l'échauffement et en fin de stockage ; nombre de germes par g de fourrage

Prélèvement Espèces →		Temps en h								
		0 (flore du champ)	12	24	36	48	60	84	75x24 (fin de stockage)	
		T en °C								
		25	51	46	45	55	61	65	20	
<b>FLORE DU CHAMP</b>										
PERONOSPORALES	Pythium sp.	2,2x10 <sup>3</sup>								
	MUCORALES	Mucor racemosus	2x10 <sup>2</sup>							
DEUTEROMYCETES	HYPHOMYCETES	Alternaria alternata	2,2x10 <sup>3</sup>	1x10 <sup>3</sup>				2x10 <sup>5</sup>		
		A. tenuissima	2x10 <sup>2</sup>	4x10 <sup>2</sup>						
		A. (Pleospora infectoria)	2,2x10 <sup>3</sup>							
		Cladosporium cladosporoides		2x10 <sup>2</sup>	2x10 <sup>2</sup>			4x10 <sup>5</sup>		
		C. herbarum	2,2x10 <sup>4</sup>							
		Colletotrichum dematium	2,2x10 <sup>3</sup>							
	P. raistrickii	2x10 <sup>2</sup>								
	COELOMYCETES	Phaeoseptoria sp.			6x10 <sup>2</sup>					
		Coniothyrium cerealis	2,2x10 <sup>4</sup>		2x10 <sup>2</sup>					
	ASCOMYCETES	Sporomiella minima		4x10 <sup>2</sup>						
	Levures	6x10 <sup>3</sup>						2x10 <sup>5</sup>		
<b>FLORE DE STOCKAGE</b>										
MUCORALES	Absidia corymbifera				1x10 <sup>4</sup>	4x10 <sup>5</sup>	6x10 <sup>4</sup>	6x10 <sup>5</sup>	1,4x10 <sup>5</sup>	
	Rhizomucor miehei				4x10 <sup>4</sup>	2x10 <sup>4</sup>	2,8x10 <sup>5</sup>			
	R. pusillus				2x10 <sup>5</sup>	3,6x10 <sup>7</sup>	3,2x10 <sup>6</sup>	7,2x10 <sup>5</sup>	2x10 <sup>6</sup>	
HYPHOMYCETES	Aspergillus fumigatus				10 <sup>3</sup>	4x10 <sup>4</sup>	6x10 <sup>3</sup>	8x10 <sup>4</sup>	1x10 <sup>6</sup>	
	Humicola lanuginosa							1,6x10 <sup>4</sup>	4,2x10 <sup>6</sup>	
	Paecilomyces variotii								4,7x10 <sup>6</sup>	
	Penicillium 2								6x10 <sup>4</sup>	
ASCOMYCETES	Emericella nidulans								1,6x10 <sup>5</sup>	
	Eurotium amstelodami								4x10 <sup>6</sup>	

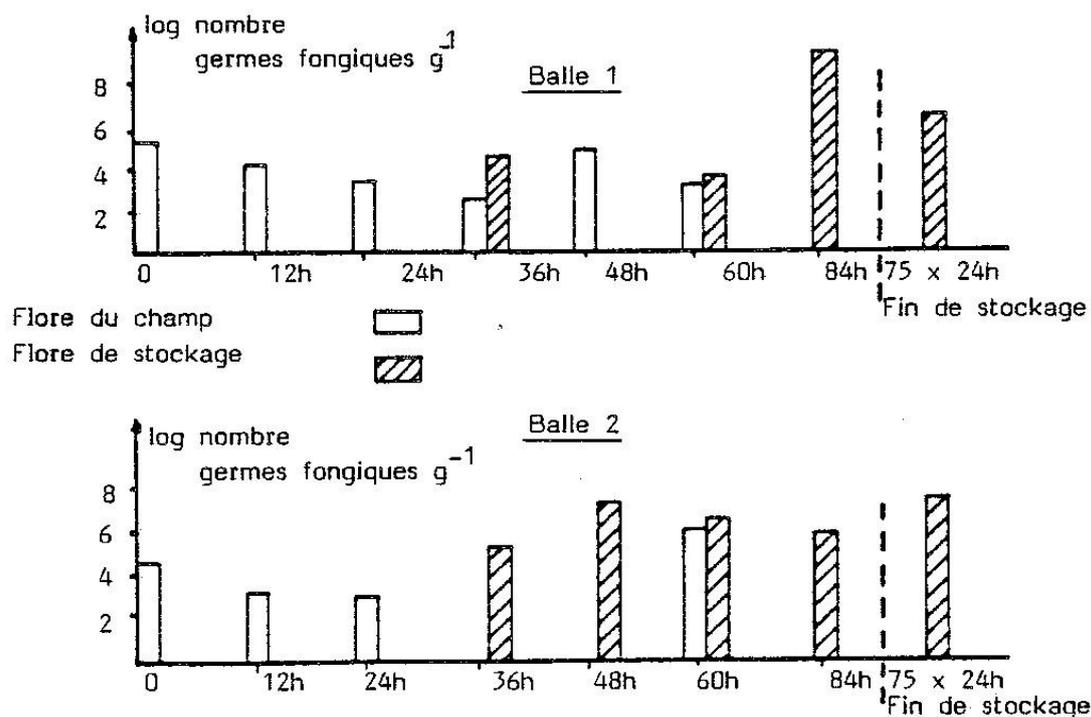
L'élimination rapide de la flore du champ résulte d'une thermosensibilité des espèces rencontrées

qui sont détruites dès la première phase d'échauffement au cours de laquelle la température avoisine 50°C. Des expériences que nous avons menées sur diverses espèces, cultivées sur milieu gélosé (MEA) pendant 15 jours à 25°C puis exposées à 50°C pendant des temps variables démontrent cette sensibilité (tableau 21). La plupart des champignons du champ sont détruits en 24 h à 50°C : les thalles traités à cette température ou leurs boutures sporales et mycéliennes replacés à 25°C ne peuvent reprendre leur croissance. Seul, *Arthrynum phaeospermum* et *Penicillium raistrickii* résistent à un traitement de 24 heures. *Coprinus sp.* peut encore se développer après 48 heures à 50°C. Notons que dans aucun cas, il n'y a eu reprise de croissance à partir de boutures de mycélium jeune prélevées à la marge des thalles traités. La thermorésistance est le fait du mycélium âgé ou des spores.

### 1.2.1.2. Flore de stockage

A la, flore du champ succède une flore qualifiée de stockage, de caractère thermophile ou thermotolérant, moins diversifiée, qui s'installe dès la 36ème heure après le pressage. Ces champignons appartiennent aux genres *Absidia*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Humicola*. Pour chaque balle, le nombre total de germes isolés peut dépasser  $10^7$  par gramme de fourrage, nombre très supérieur à celui trouvé pour les espèces du champ (figure 13).

Figure 13 : Evolution des flores fongiques des balles 1 et 2 durant le stockage



### 1.2.1.3. Flore de fin de stockage

En fin de stockage, dans les deux balles apparaissent *Paecilomyces variotii*, *Emericella nidulans*, *Eurotium amstelodami* plus xérophiles que les précédents et donc mieux adaptées à un fourrage dont le taux de matière sèche a fortement augmenté. Ces champignons ne sont pas des thermophiles typiques mais sont thermorésistants. *P. variotii* supporte des températures élevées lors de processus d'échauffement ou de pasteurisation. Les ascospores d'*E. amstelodami* survivent à un taux de 85 % après exposition pendant 10 minutes à 60°C (PITT et CHRISTIAN, 1970) et nous avons montré que ce champignon résistait - ainsi que *Eurotium chevalieri* et *E. herbariorum* - à une température de 50°C pendant au moins 14 jours (tableau 21). *E. nidulans* n'est détruit qu'après un séjour de 25 minutes à 63°C (MARSHALL et WALKLEY, 1952).

Tableau 21 : action de la durée d'exposition à 50°C sur la reprise de croissance à 25°C d'espèces fongiques mésophiles

- pas de reprise de croissance  
+ reprise de croissance

ESPECE	DUREE D'EXPOSITION A 50°C (en h)			
	24	48	7x24	14x24
<b>HYPHOMYCETES</b>				
Alternaria (Pleospora infectoria)	-			
A. alternata	-			
A. tenuissima	-			
Arthrinium phaeospermum	+	+	-	
Chrysosporium sp.	-			
Cladosporium cladosporioides	-			
Cl. herbarum	-			
Colletotrichum dematium	+	-		
Epicoccum purpurascens	-			
Fusarium poae	-			
F. avenaceum	-			
Penicillium raistrickii	+	-		
<b>COELOMYCETES</b>				
Coniothyrium cerealis	-			
Ascochyta sp.	-			
Phoma herbarum	-			
Phaeoseptoria sp.	-			
<b>ASCOMYCETES</b>				
Eurotium amstelodami	+	+	+	+
E. chevalieri	+	+	+	+
F. herbariorum	+	+	+	+
Emericella nidulans	+	+	+	+
<b>BASIDIOMYCETES</b>				
Coprinus sp.	+	+	-	

En conclusion, après de la flore thermophile, s'installe après abaissement de la température, une flore plus xérophile caractérisée par sa possibilité de survie durant le processus d'échauffement.

Le tableau 22 présente les résultats obtenus lors d'analyses de foin de ray-grass et de luzerne à deux taux d'humidité, après 6 mois de stockage. Une comparaison avec les tableaux 19 et 20 concernant les deux balles expérimentales précédentes, montre une grande similitude dans la composition des flores.

Tableau 22 : flore fongique après 6 mois de stockage de foins de ray-grass et de luzerne récoltés en balles rondes

ESPECE	LOT	RAY-GRASS		LUZERNE	
	MS en % à la récolte	67,3	75,9	61,8	68,1
<b>MUCORALES</b>					
<i>Absidia corymbifera</i>		+++	++	+	+
<i>Rhizomucor pusillus</i>		+		+	+
<i>Rhizopus stolonifer</i>					+
<i>R. oryzae</i>		++		+	
<b>HYPHOMYCETES</b>					
<i>Aspergillus fumigatus</i>		+++	+	+	
<i>A. flavus</i>		+		+	+
<i>A. niger</i>		+		+	+
<i>Thermomyces lanuginosus</i>		+		+	
<i>Penicillium verrucosum</i> var. <i>cyclopium</i>					+++
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>			+		
<i>Sagenomella sclerotialis</i>		+++	+++	+++	
<i>Mycelia sterilia</i>			+++		
<b>ASCOMYCETES</b>					
<i>Emericella nidulans</i>		++	+	++	+
<i>Eurotium chevalieri</i> var. <i>intermedius</i>			+++	+++	+++
<i>Thermoascus crustaceus</i>		+	+++	+++	+++
<b>LEVURES</b>					
<i>Stephanoascus ciferrii</i>				+++	

Légende : +++ très abondant ; ++ abondant ; + peu abondant

On retrouve les espèces caractéristiques de stockage thermophiles ou thermotolérantes et celles de fin de stockage auxquelles s'ajoutent à l'état de trace *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Scopulariopsis brevicaulis*. *Eurotium amstelodami* a fait place à *E. chevalieri*, autre espèce du groupe *Aspergillus glaucus*, également xérophile et thermotolérante. A noter le développement très abondant d'une espèce osmophile, nouvelle pour la science, dénommée *Sagenomella sclerotialis* par GAMS et BRETON (1978). Ce champignon que nous avons isolé à la fois de ray-grass et de luzerne à 25°C, jamais à 37 ou à 50°C, constitue comme les *Eurotium* une espèce mésophile de fin de stockage, probablement thermorésistante par ses sclérotés, affectant les substrats peu humides. La rare levure ascomycète isolée seulement à 25°C, *Stephanoascus ciferrii* abondante dans la balle de luzerne à 61,8 % de MS pourrait être, elle aussi, en raison d'une thermorésistance des ascospores, une espèce de fin de conservation.

#### 1.2.1.4. Remarques sur la biologie des champignons de stockage

Mucorales :

*Absidia corymbifera*

Cosmopolite et isolé de nombreux substrats, il colonise précocement les composts de paille (CHANG et HUDSON, 1967), les céréales ensilées (PELHATE, 1968 ; le foin (DI MENNA,

CARTER et CORDES, 1972), affecte de préférence les pH neutres ou faiblement acides (EVANS, 1971) et présente un optimum de croissance à 35-37°C tout en tolérant des températures inférieures à 20°C et supérieures à 50°C. Nous l'avons isolé à 25°C et 37°C.

Cette espèce est un agent de mucormycoses des poumons, sinus, cornée et autres organes de l'homme et des animaux à sang chaud, et responsable aussi d'avortements du bétail (MOREAU, 1974).

#### *Rhizomucor miehei*

Voisine de *R. pusillus*, cette espèce homothallique forme des zygotes à 37°C. Elle ne pousse pas à 22°C, n'évolue que très lentement à 25-30°C et croît relativement bien à 57°C (COONEY et EMERSON, 1964). Nous l'avons isolée aux trois températures d'incubation: 25°C, 37°C et 50°C. Isolé du sol, de composts, de céréales ensilées et de foin, pathogène, il aurait été aussi isolé du cerveau et autres organes d'un veau.

#### *Rhizomucor pusillus*

Espèce cosmopolite, isolée fréquemment de divers types de composts (KLOPOTEK, 1962 ; FERGUS et AMELUNG, 1971), d'excréments, de foin en cours d'échauffement (RESZ, 1968), de céréales s'échauffant ou en décomposition (AWAO et MITSUGI, 1973) du sol, etc... Sa croissance est lente à 20°C, optimale à 50°C et inhibée à 57°C. Il survit à un traitement à la chaleur à 68°C pendant 45 minutes (FERGUS et AMELUNG, 1971) et requiert pour sa croissance mycélienne un minimum de 0,2 % d'oxygène (DEPLOEY et FERGUS, 1975). *R. pusillus* est un agent de mycoses de nombreux organes : tractus digestif, cerveau, cœur, poumons, ganglions lymphatiques, pharynx et responsable d'avortement du bétail.

Il peut atteindre l'homme et divers animaux: cheval, chien, vache, mouton, cochon, lapin. Les extraits mycéliens sont toxiques (DAVIS et al., 1975).

#### *Fungi imperfecti :*

##### *Aspergillus fumigatus*

Ce champignon thermotolérant est très largement répandu dans le monde et extrêmement commun. Il a été isolé de nombreux sols, de divers types de composts (MALIK et SANDHU, 1973), de foin échauffé (RESZ, 1968), de céréales ensilées (SMITH et LYNCH, 1973) et autre substrats. Ses activités cellulolytiques lui permettent de croître sur les fibres de coton et de jute. Il se satisfait de pH compris entre 3,7 et 7,8 (JENSEN, 1931) et croît de 12 à 57°C avec un optimum entre 37°C et 43°C (FRANZ, 1975). Il supporte une température de 63°C pendant 25 minutes (BOLLEN, 1969), peut dans certaines conditions pousser dans une atmosphère composée de 100 % d'azote (TABAK et COOKE, 1968) et tolère in vitro 10 % de CO<sub>2</sub> (MUJUMDAR et BHIDE, 1970). *A. fumigatus* est un agent d'aspergillose pulmonaire chez les mammifères et surtout chez les oiseaux, causant parfois de grands ravages dans les élevages de poulets. Chez l'homme immunocompromis, il peut être à l'origine d'infections invasives graves initialement pulmonaires ou d'affections cardiovasculaires, du système urinaire et du cerveau. Il élabore de nombreux métabolites dont plusieurs, toxiques, peuvent provoquer des symptômes convulsifs, tétaniques, paralytiques, hémorragiques et des nécroses expérimentales du foie et des reins (MOREAU, 1974).

##### *Paecilomyces variotii*

Champignon thermotolérant répandu dans les régions chaudes et arides. Fréquemment isolé du sol et de nombreux substrats dont: bois et ses dérivés (SASAKI et YOSHIDA, 1971), foin (SAMSON, 1974), composts (KNOESEL et RESZ, 1973), céréales (MOUBASHER, ELNAGHY et ABDEL-HAFEZ, 1972), denrées alimentaires (SAMSON, 1974), etc... C'est une espèce faiblement xérophile (PITT et CHRISTIAN, 1970) et thermophile modérée avec une température de croissance optimale entre 25°C et 35°C, se développant jusqu'à 45-48°C (MARSHALL et WALKLEY, 1952). Nous ne l'avons isolé qu'à 37°C et 50°C. Pathogène pour l'animal dont il peut infecter divers organes (SAMSON, 1974) et plus rarement pour l'homme (TURESSON, 1916), sa toxicité a été reconnue (SAMSON, 1974).

*Thermomyces lanuginosus*

Ce champignon, très commun, typiquement thermophile, présente une température minimale de croissance aux environs de 30°C (OHTOMO, SUGIYAMA et ITZUKA, 1975) et un optimum à 47-52°C (JODICE et al., 1974/1975) ce que confirment nos isollements. Il est détruit par une exposition à 68°C pendant 45 minutes (FERCUS et AMELUNG, 1971) ou à 100°C pendant 5 minutes (OHTOMO, SUGIYAMA et ITZUKA, 1975). Il colonise le matériel végétal en voie de décomposition ou d'échauffement durant la phase de maintien d'une température élevée (TANSEY et BROCK, 1978) et vit en association avec des champignons cellulolytiques (HEDGER et HUDSON, 1974) dont il peut stimuler les activités. Il a été impliqué dans des avortements de bovins, dans la maladie du "poumon du fermier" et s'est avéré toxique expérimentalement (DAVIS et al., 1975).

*Ascomycetes :**Emericella nidulans*

C'est un champignon très commun, typiquement tellurique mais aussi isolé de très nombreux substrats. Sa croissance linéaire optimale a lieu entre 26°C et 40°C avec un minimum à 11-13°C et un maximum à 47-48°C (BILAI et ZAKHARCHENKO, 1971) ce qui confirme nos isollements puisque nous ne l'avons jamais rencontré sur milieu incubé à 50°C. *E. nidulans* tolère des tensions d'oxygène très basses (CARTER et BULL, 1971) et des pH s'échelonnant de 2 à 12 avec un optimum à 6-7. Isolé de sols sahariens, son caractère xérophile est démontré par le fait qu'il tolère de fortes concentrations en chlorure de sodium (MOUCHACCA, POLY et JOLY, 1970). Il élabore de très nombreux métabolites dont certains toxiques et antibactériens (MOREAU, 1974). Rarement pathogène pour l'homme et agent de mycétomes (EMMONS et al., 1977), il a été impliqué chez l'animal dans des lésions pulmonaires et des aspergilloses de volailles.

*Eurotium amstelodami*

Très largement répandu avec une préférence pour les régions tropicales ou subtropicales. Isolé de sols, de denrées alimentaires (RAPER et FENNEL, 1965), de composts (CHANG et HUDSON, 1967), de foin chauffés (RESZ, 1968) etc... En raison de sa xérophilie, on le rencontre fréquemment sur les substrats pauvres en eau disponible, milieux hypersalés ou riches en sucre. La température optimale de croissance est 35°C avec un maximum à 43-46°C. Les céréales contaminées par *E. amstelodami* sont toujours toxiques pour le lapin et la souris. Il a été isolé d'aspergilloses animales et humaines.

**1.2.2. Bactéries****1.2.2.1. Flore du champ**

Dans les deux balles, la flore du champ est constituée de bactéries mésophiles ( $2,5 \times 10^8$  bactéries g<sup>-1</sup>) essentiellement Gram + sporulés (*Bacillus*), Gram - oxydase - à métabolisme fermentatif (Enterobactériacées) ou oxydase + ou - à métabolisme oxydatif (Pseudomonadacées) et en moins grand nombre des micrococcacées et des corynéformes. Aucune bactérie n'a été isolée à 50°C.

**1.2.2.2. Flore de stockage**

Elle comporte comme précédemment des Entérobactéries, la plus abondante étant *Enterobacter agglomerans* biotype 4, des *Bacillus*, des microcoques, des corynéformes et de nombreux *Pseudomonas* dont *Ps. fluorescens*, *Ps. maltophilia*, *Ps. putida*, *Ps. stutzeri*. A 50°C, se développent exclusivement des *Bacillus* : *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. stearothermophilus*, *B. amyloliquefaciens*. *B. licheniformis* et *B. stearothermophilus* sont les plus représentés (tableau 23).

L'étude de la température de croissance de ces *Bacillus* montre qu'aucun ne se développe à 15°C; toutes les souches poussent à 30 et à 50°C. Seul *B. stearothermophilus* manifesté une croissance

à 65°C. Les Actinomycetes sont représentés par *Thermoactinomyces candidus*, toujours isolé à 50°C et dont nous avons vérifié la croissance à 65°C.

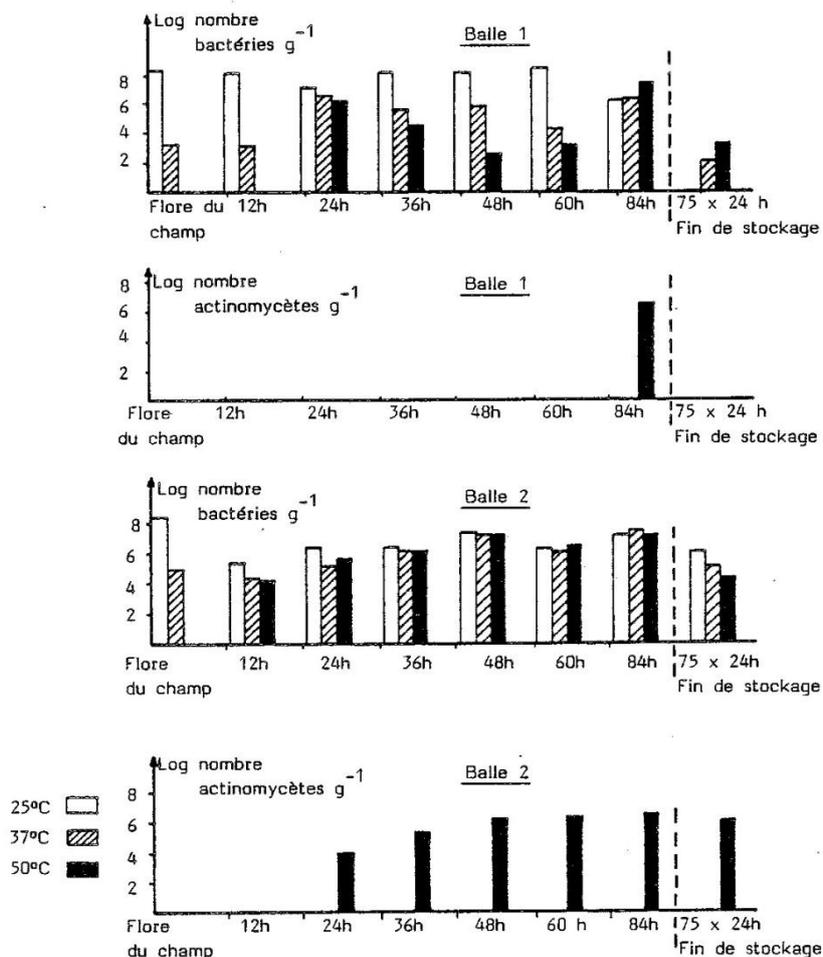
Dans la balle n°1, la plus sèche et dont l'échauffement est moins accentué, on note le maintien encore à 60 et 84 heures après le pressage des *Pseudomonas* (*Ps. putida*, *Ps. stutzeri*) et d'*Enterobacter agglomerans* 4. Les *Bacillus*, absents au départ des isolements à 50°C, se font très abondants à partir de la 84<sup>ème</sup> heure en même temps qu'apparaît l'actinomycète *Thermoactinomyces candidus*.

Tableau 23 : distribution des espèces du genre *Bacillus* isolées à 50°C en fonction du temps de stockage dans les balles 1 et 2

Temps de stockage	12h		24h		36h		48h		60h		84h		Fin de stockage	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>B. amyloliquefaciens</i>						+								
<i>B. licheniformis</i>			+	+		+	+	+		+	+	+		+
<i>B. megaterium</i>					+									
<i>B. pumilus</i>											+	+		
<i>B. stearothermophilus</i>		+	+	+	+				+	+	+	+		+

Pour la balle n°2, la plus humide et siège d'un échauffement plus intense, les entérobactéries et les *Pseudomonas* disparaissent dès la 36ème heure alors qu'on note la présence quasi exclusive des *Bacillus* à toutes les températures d'isolement. Les micrococcacées encore présentes après 84 heures d'échauffement semblent devoir bien résister. L'élévation rapide de la température favorise en outre, le développement précoce des actinomycètes isolés dès la 24ème heure et dont on dénombre  $5 \times 10^6$  germes/g après 60 heures de stockage (figure 14).

Figure 14 : Evolution de la flore bactérienne et "actinomycétale" des balles 1 et 2



### 1.2.2.3. Flore de fin de stockage

En fin de stockage, seuls les échantillons de la balle 2 renfermaient un grand nombre de bactéries, encore incomptables à la dilution  $10^{-3}$ .

La flore mésophile isolée à 25°C comporte en grande abondance un coccobacille jaune-orangé, Gram variable, oxydase – et catalase +, avec un arrangement angulaire des cellules, caractéristique des corynébactéries. Cette bactérie, dont il faudrait entreprendre une étude plus approfondie, pourrait être l'équivalent des *Eurotium* de la flore fongique de fin de stockage qui présentent à la fois un caractère mésophile, xérophile et une résistance à l'échauffement. En effet, chez les corynéformes, et en particulier dans le genre *Arthrobacter*, il existe des espèces halophiles et thermorésistantes. Avec cette bactérie, nous avons trouvé *Staphylococcus xylosus*, de nombreux *Bacillus* se partageant entre les espèces *B. licheniformis* et *B. subtilis* et un *Pseudomonas*. Dans les cultures incubées à 50°C se développent abondamment *Bacillus stearothermophilus* et *Thermoactinomyces candidus* dont la multiplication a été favorisée dans le fourrage par l'échauffement et qui se maintiennent après la chute de la température. Au total 281 souches bactériennes ont été isolées et caractérisées.

## 1.3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les fourrages humides sont le siège d'un échauffement fonction de leur taux de matière sèche lors du pressage, résultat qui confirme les expériences menées par MARLEY, WILCOX et DANLEY (1976), NASH et EASSON (1977), LACEY et al., 1978. Cet échauffement se déroule en deux phases traduites sur les courbes de température par la présence de deux pics, également signalés par NASH (1972).

Le premier pic d'élévation de la température, très rapide et relativement fugace puisque d'une

durée de 8 heures environ ne paraît pas corrélée avec l'évolution des populations fongiques et bactériennes comme le montre l'exemple de nos balles 1 et 2 (figures 13 et 14) :

*Pour la balle 1*

Pendant la phase initiale d'échauffement de durée 8 h portant la température à 45°C, il n'y a pas d'augmentation notable et généralisée à l'ensemble du fourrage de la population microbienne au sein de laquelle la flore thermophile n'a d'ailleurs pas encore fait son apparition. Durant la phase suivante, de léger refroidissement du fourrage suivi d'un palier de la température à 30°C, on assiste par contre, à l'essor des espèces thermophiles.

*Pour la balle 2*

Pendant 8-9 h, on observe un échauffement rapide du fourrage jusqu'à 52°C, mais on ne dénombre que  $4 \times 10^4$  *Bacillus* thermophiles/g de fourrage. De 8-9 h à 24 h, le refroidissement du fourrage correspond, dans le temps, à une augmentation des *Bacillus* de  $4 \times 10^4$  à  $8 \times 10^5$ /g (soit une population multipliée par 20) et l'apparition de  $10^4$  actinomycètes par g.

Cet échauffement initial paraît lié aux cas de fourrages humides, donc de végétaux probablement encore vivants et siège d'activités respiratoires; en effet, il n'a jamais été rapporté pour les composts de déchets divers (THIERRY, 1986). Durant cette phase, on constate la disparition des espèces fongiques du champ mésophiles et thermosensibles et le maintien de la flore bactérienne.

La deuxième phase, très longue et beaucoup plus accentuée, s'accompagne d'une prolifération de microorganismes thermophiles ou thermotolérants à l'image de ce que l'on connaît des composts (TANSEY et BROCK, 1978). Les moisissures, pour la plupart impliquées dans des mycoses ou des toxicoses humaines et animales, sont des espèces classiquement rencontrées dans les milieux en voie d'échauffement tels que semences ensilées (PELHATE, 1968), composts (FERGUS et AMELUNG, 1971) ou foins (FESTENSTEIN et al., 1965 ; LE BARS et ESCOULA, 1974). La flore bactérienne, quant à elle, se caractérise, en début d'échauffement, par une population abondante composée d'espèces appartenant notamment aux genres *Pseudomonas* et *Enterobacter* accompagnées de micrococccacées et de bactéries corynéformes. GARCIA (1981) a isolé des *Micrococcus* et des *Corynebacterium* de composts de bagasses de canne à sucre, et TEAGUE (1974) de tabac brun fermenté. Les composts peuvent héberger également des *Pseudomonas* (FINSTEIN et MORRIS, 1975 ; CLARK, RYLANDER et LARSSON, 1983 ; DESCHAMPS et LEBEAULT, 1980), et des *Enterobacter* (BERTOLDI et al., 1980; CLARK, RYLANDER et LARSSON, 1983).

L'échauffement se poursuivant, on observe l'expansion progressive des Actinomycètes (*Thermoactinomyces candidus*) et du genre *Bacillus* plus thermophile et thermorésistant par ses spores, l'espèce *B. licheniformis* étant la plus représentée, comme l'ont déjà signalé FESTENSTEIN et al. (1965), avec *B. stearothermophilus* apte à se développer encore à plus de 75°C (LARPENT et LARPENT-GOURGAUD, 1985).

La présence de *Bacillus* a été fréquemment signalée dans différents types de substrats fermentés ou compostés ; par exemple: *B. subtilis*, *B. pumilus* et *B. megaterium* dans du tabac brun fermenté (TEAGUE, 1974) ; *B. brevis*, *B. subtilis* et *B. coagulans* dans du compost de bagasses de canne à sucre (GARCIA, 1981) ; *B. stearothermophilus* et *B. subtilis* dans divers composts (BERTOLDI et al., 1985), *B. licheniformis* dans du foin humidifié (GREGORY et al., 1963).

Après abaissement de la température et retour à l'ambiance, une flore de fin de stockage se développe dans un fourrage alors beaucoup plus sec, comportant des espèces à la fois thermorésistantes et xérophiles tels les *Aspergillus* du groupe *glaucus* (*Eurotium*) adaptés à des substrats pauvres en eau comme les foins secs (FESTENSTEIN et al., 1965). Les corynébactéries pourraient être les représentants bactériens de cette flore xérophile.

En conclusion, l'échauffement en deux étapes des foins humides paraît résulter de deux phénomènes biologiques d'origine différente : le premier lié au végétal siège d'activités respiratoires, le second en relation avec le développement de microorganismes thermophiles. C'est l'implication de ces deux phénomènes dans l'échauffement des foins humides que nous étudierons au cours du prochain chapitre.

## CHAPITRE II

# ETUDE EXPERIMENTALE DES MECANISMES IMPLIQUES DANS L'ECHAUFFEMENT DES FOINS HUMIDES

## 2.. ETUDE EXPERIMENTALE. DES MECANISMES IMPLIQUES DANS L'ECHAUFFEMENT DES FOINS HUMIDES

### 2.1. RESPIRATION DU VEGETAL ET THERMOGENESE

Pour établir le rôle de la respiration du végétal dans le pic initial d'échauffement, nous allons préciser la variation de l'intensité respiratoire avec le taux de matière sèche jusqu'à l'état de siccité limite correspondant à l'arrêt de la respiration. Puis, nous examinerons l'influence des températures élevées (40-50°C), observées dans le pic initial, sur les valeurs prises par la respiration. A partir de ces informations, nous relierons par un bilan thermodynamique, les phénomènes respiratoires et la thermogénèse.

Les mesures d'intensité respiratoire ont été réalisées après une expérience préliminaire décrite ci-après, destinée à vérifier l'intérêt d'une stérilisation préalable des végétaux étudiés avant les mesures.

#### 2.1.1. Activité respiratoire comparée de folioles de luzerne, témoins et stérilisées

Dans les travaux de GREENHILL (1959) et SIMPSON (1961), menés sur l'activité respiratoire de feuilles de luzerne et de ray-grass selon le taux de matière sèche et la température, il n'est pas fait état de la stérilisation préalable des végétaux étudiés avant leur introduction dans le dispositif de mesure. Or, ceux-ci hébergent de nombreux microorganismes aérobies composant la flore du champ (cf. chapitre I) dont l'activité métabolique respiratoire peut interférer sur les mesures.

Stériliser les végétaux avant toute mesure d'activité respiratoire pour éviter cette interaction des microorganismes présente cependant des inconvénients : risques d'altération des enzymes respiratoires et/ou de modification des caractéristiques physiques du matériel végétal étudié, en particulier la teneur en matière sèche, difficultés expérimentales, ...

Il était donc important de s'assurer de l'utilité réelle de cette opération en comparant l'activité respiratoire de végétaux témoins et de végétaux stérilisés.

##### *Matériels et méthodes*

Les mesures d'activité respiratoire ont été réalisées à l'aide d'un respiromètre différentiel GILSON sur des folioles de luzerne témoins et stérilisées, par trempage dans des solutions aqueuses d'alcool et de chlorure de mercure, selon une technique communément utilisée au laboratoire pour des études de physiologie végétale.

Les mesures, effectuées à 30°C, ont porté sur des folioles relativement humides (taux de MS compris entre 30 et 50 %) pour limiter les risques d'une éventuelle réhumidification du végétal lors des opérations de stérilisation.

##### *Résultats*

Les valeurs d'intensité respiratoire des folioles témoins et des folioles désinfectées exprimées en  $\mu\text{l d'O}_2 / \text{mn} \cdot \text{g MS}$  ne sont pas significativement différentes (tableau 24).

Tableau 24 : Intensité respiratoire comparée de folioles de luzerne, témoins et stérilisées

TAUX DE MS en %	INTENSITE RESPIRATOIRE DE LA LUZERNE TEMOIN En $\mu\text{l d'O}_2 / \text{mn} \cdot \text{g MS}$	INTENSITE RESPIRATOIRE DE LA LUZERNE STERILISEE En $\mu\text{l d'O}_2 / \text{mn} \cdot \text{g MS}$
33.8	77.7 $\pm$ 3.1	80.9 $\pm$ 3.2
35.9	65.3 $\pm$ 6.5	68.6 $\pm$ 6.8
49.5	57.6 $\pm$ 5.0	53.7 $\pm$ 4.7

Dans nos conditions de mesure, l'activité métabolique respiratoire des microorganismes de la flore du champ s'avère donc très inférieure à celle des végétaux étudiés et tout à fait indétectable avec le respiromètre GILSON.

Ce fait n'est pas surprenant dans la mesure où l'humidité relative (HR) de l'atmosphère des fioles, de l'ordre de 65 %, ne permet pas aux microorganismes de se développer; ceux-ci restent dans un état de vie ralentie, caractérisé par des échanges quasiment nuls avec le milieu environnant.

En conséquence, les mesures d'intensité respiratoire seront effectuées par la suite, selon les méthodes de GREENHILL (1959) et SIMPSON (1961), c'est-à-dire sur des végétaux sains, séchés dans de bonnes conditions (HR = 65 %) mais non stérilisés.

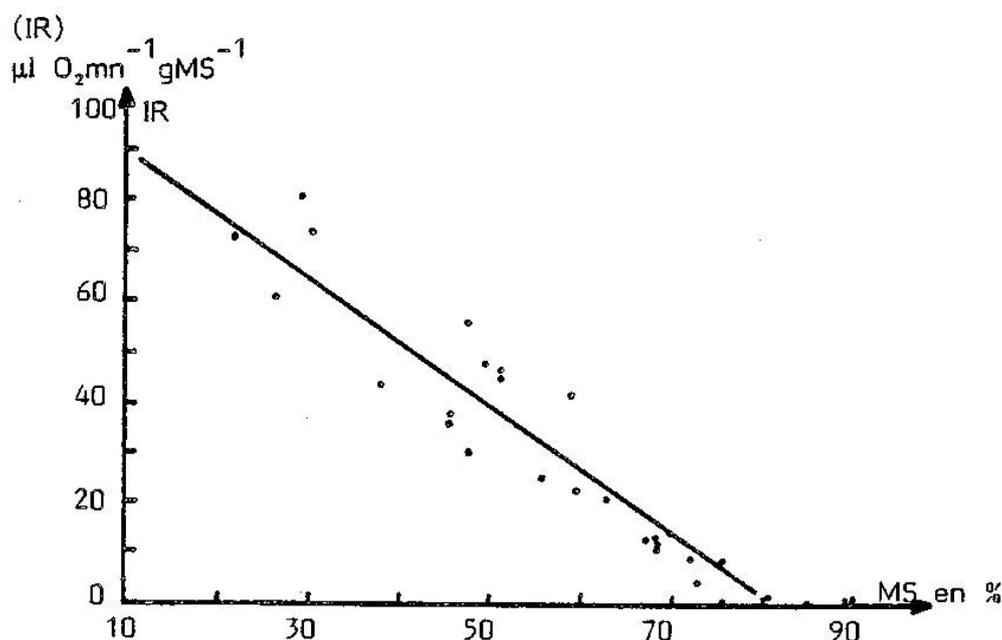
### 2.1.2. Variation de l'intensité respiratoire au cours de la dessiccation

Les mesures d'intensité respiratoire IR ont été effectuées à 30°C sur des folioles d'un fourrage de trèfle parvenu au stade "floraison" pour des teneurs en MS comprises entre 22,1 et 89 %.

Les valeurs obtenues sont reportées sur la figure 15. L'intensité respiratoire décroît régulièrement au cours de la dessiccation, selon l'équation de régression linéaire :

$$\begin{array}{l} \text{IR à } 30^{\circ}\text{C} \\ (\mu\text{l d'O}_2 / \text{mn} \cdot \text{g MS}) \end{array} = 102,0 - 1,26 \text{ MS} \quad (r = 0,948) \quad \begin{array}{l} (\text{en } \%) \end{array}$$

Figure 15 : Variations de l'intensité respiratoire à 30°C de folioles de trèfle, avec la teneur en MS



Nous avons cherché à rapprocher cette équation des valeurs d'intensité respiratoire mesurées vers 20°C par GREENHILL (1959), SIMPSON (1961), MELVIN et SIMPSON (1963) sur différents fourrages pendant leur dessiccation.

A partir des graphiques donnés par ces auteurs, reliant l'intensité respiratoire en  $\mu\text{l d'O}_2 / \text{mn} \cdot \text{g MS}$  à la teneur en eau (calculée par rapport à la matière sèche), nous avons déterminé par régression linéaire les relations  $\text{IR} = f(\text{MS})$  pour chacun des cas rapportés (tableau 25).

Pour ramener à 30°C les équations données, par exemple, par GREENHILL (1959) à 20,5°C et SIMPSON (1961) à 22°C pour des feuilles de trèfle au stade floraison, il a été tenu compte de la loi de variation de la respiration avec la température, établie par WOOD et PARKER (1971), sous la forme du coefficient  $e^{0,069T}$ .

Ce coefficient vaut :

4,11 pour T = 20,5°C

4,56 pour T = 22°C

7,92 pour T = 30°C

En pondérant les équations de GREENHILL et SIMPSON respectivement par les coefficients

7.92 / 4.11 et 7.92 / 4.56

On obtient donc :

IR à 30°C : 129,5 - 1,66 MS (Selon GREENHILL)

IR à 30°C = 84,8 - 1,15 MS (d'après SIMPSON)

La formule établie lors de nos propres essais se situe entre ces deux équations :

IR à 30°C = 102,0 - 1,26 MS

Tableau 25 : Variations de l'intensité respiratoire avec le taux de matière sèche  $IR = f(MS)$  selon la nature du végétal et la température (d'après les auteurs cités)

ESPECE VEGETALE	STADE	ORGANE	T en °C	IR = f (MS) μC02 /mn.g.MS	AUTEUR
Ray-grass	Début épiaison	Plante entière	21	27,1 - 0,37 MS (r = 0,994)	MELVIN et SIMPSON (1963)
	id.	id.	20,5	39,8 - 0,55 MS (r = 0,990)	GREENHILL (1959)
	Montaison	id.	21	45,1 - 0,63 MS (r = 0,994)	MELVIN et SIMPSON (1963)
	id.	id.	20,5	35,9 - 0,52 MS (r = 0,950)	GREENHILL (1959)
	id.	Feuilles	20,5	49,4 - 0,68 MS (r = 0,991)	GREENHILL (1959)
Trèfle	Début floraison	Plante entière	20,5	46,3 - 0,65 MS (r = 0,979)	GREENHILL (1959)
	Floraison	id.	20,5	51,5 - 0,68 MS (r = 0,999)	GREENHILL (1959)
	Début floraison	Feuilles	20,5	56,9 - 0,79 MS (r = 0,988)	GREENHILL (1959)
	Floraison	id.	22	48,8 - 0,66 MS (r = 0,992)	SIMPSON (1961)
	id.	id.	20,5	67,2 - 0,86 MS (r = 0,979)	GREENHILL (1959)
Luzerne	Bourgeon <sup>†</sup>	Plante entière	22	72,2 - 1,02 MS (r = 0,977)	SIMPSON (1961)

### *Arrêt de la respiration*

D'après notre équation, la respiration cesse complètement vers 81% de MS ; cette valeur est un peu supérieure aux indications de GREENHILL (1959) pour qui la respiration s'arrête à une teneur en eau comprise entre 30 et 40 % (par rapport à la MS, valeurs qui correspondent à des taux de MS (par rapport à la matière humide) respectivement de 76,9 % et de 71,41 % (soit un taux moyen de 74,2 %). WOOD et PARKER (1971) situent, quant à eux, l'arrêt de la respiration à un taux de MS compris entre 73 % et 80 %. NASH (1978) estime que les pertes de matière sèche, de l'ordre de quelques %, observées lors de la conservation de foin correctement fanés, pourraient être dues, en partie, à la respiration du fourrage qui ne s'arrêterait véritablement qu'au-delà de 85 % de matière sèche.

Le taux de matière sèche critique, à partir duquel l'activité respiratoire s'arrête complètement, est malaisé à déterminer à l'aide d'un respiromètre, en raison de l'inévitable hétérogénéité entre les taux de matière sèche des folioles d'une même fiole du respiromètre de GILSON (la mesure porte sur l'ensemble du contenu de la fiole), voire de l'hétérogénéité constatée au niveau d'une foliole, la nervure, par exemple, restant longtemps plus humide que le limbe.

La précision des instruments de mesure utilisés (respiromètre de WARBURG pour GREENHILL et SIMPSON, respiromètre de GILSON dans notre cas) et la durée de la période de mesure peuvent également s'avérer insuffisantes pour déceler un métabolisme très ralenti ; une perte de matière sèche de 2 % pendant un stockage de 6 mois représente en effet, une diminution de volume gazeux de 0,36 µl/heure dans les fioles du respiromètre de GILSON, compte tenu du poids de fourrage utilisé, soit une valeur qui ne peut pas être détectée au cours d'une expérience ne durant que 3 à 4 h, comme dans notre cas.

Malgré cette incertitude sur la "mort" effective du végétal, la résistance de son métabolisme respiratoire vis-à-vis de la dessiccation apparaît tout à fait étonnante ; les expériences réalisées montrent bien, qu'en deçà de 75-80 % de matière sèche, la respiration reste active et donc susceptible d'élever la température du fourrage, s'il est insuffisamment refroidi par le milieu ambiant. Aussi, pour bien comprendre la dynamique des phénomènes d'échauffement, il nous est apparu nécessaire de préciser certains aspects des travaux de WOOD et PARKER (1971) et de mesurer les variations de l'intensité respiratoire selon le taux de matière sèche et la température.

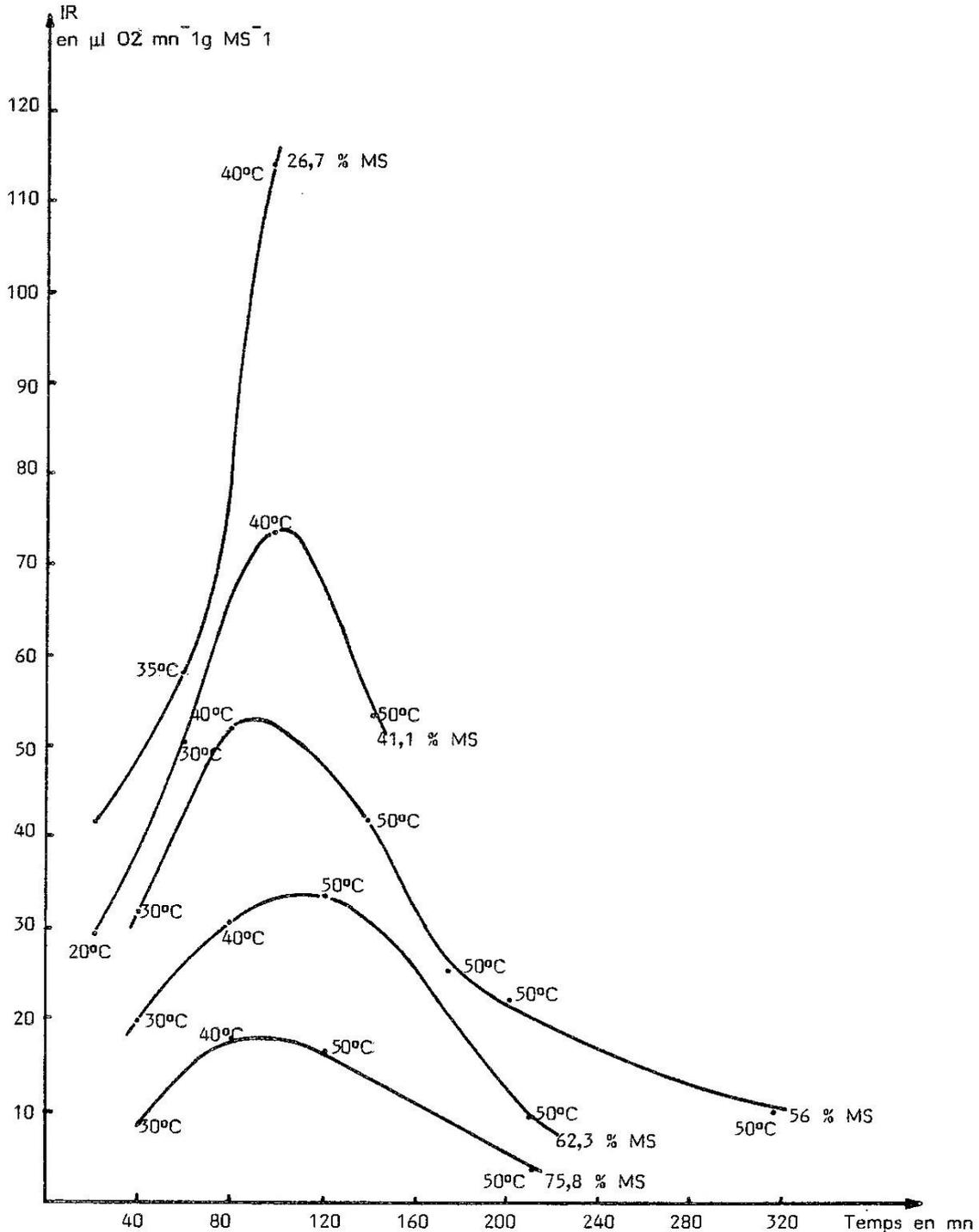
### **2.1.3. Influence de la température et de la teneur en matière sèche sur l'intensité respiratoire**

Les mesures d'intensité respiratoire ont été effectuées sur des folioles d'un fourrage de luzerne au stade "début floraison", pour des teneurs en MS comprises entre 26,7 % et 75,8 %.

Au cours d'une même expérience, les folioles ont été exposées successivement à des températures croissantes (30°C, 40°C et 50°C), sachant que la montée en température s'est faite progressivement par l'intermédiaire du réchauffage du bain-marie du respiromètre de GILSON ; les fourrages présentant les taux de MS les plus élevés ont été maintenus plusieurs heures à 50°C.

Figure 16 : Variations de l'intensité respiratoire de folioles de luzerne selon le taux de matière sèche et le temps d'exposition à des températures croissantes

Chaque courbe correspond à une teneur en MS différente ; les températures croissantes imposées au matériel végétal apparaissent dans leur chronologie, au travers des chiffres de température portés sur les courbes. Exemple : la température du fourrage à 75,8 % de MS a été augmentée successivement de 10°C toutes les 40 mn (de 30 à 50°C), puis maintenue pendant plus de 90 mn à 50°C.



La figure 16 donne les résultats de ces mesures. Quel que soit le taux de matière sèche considéré, la température active considérablement la respiration dans l'intervalle 30°C - 40°C :

- à 41,1 % de MS, l'intensité respiratoire à 40°C (IR 40) vaut environ 1,5 fois l'intensité respiratoire à 30°C (IR 30);
- à 56 % de MS,  $IR_{40} = 1,64 IR_{30}$  ;

- à 26,7 % de MS, IR40 = 2,70 IR30.

1,5 ; 1,64 et 2,70 correspondent au  $Q_{10}$  .

$$Q_{10} = (\text{Intensité respiratoire à } T + 10^{\circ}\text{C}) / (\text{Intensité respiratoire à } T)$$

qui normalement est compris entre 1,5 et 2,5 pour les plantes herbacées (WOOD et PARKER, 1971).

Nota : le  $Q_{10}$  de 2,70 est vraisemblablement dû au ralentissement momentané de l'activité métabolique du matériel végétal (faible IR30) provoqué par la température extérieure très fraîche (+5°C) lors du prélèvement des échantillons sur la parcelle.

L'action de la température sur la respiration est donc bien conforme à celle que l'on rencontre pour tous les phénomènes métaboliques, dont la vitesse de réaction  $V$  obéit, en règle générale, à la loi d'Arrhenius :  $V : Ce^{kT}$  .

D'après les courbes de la figure 16, l'intensité respiratoire maximale serait observée dans la plage de températures 40°C - 50°C, sans qu'il soit possible de préciser davantage, en raison de la durée des mesures et des effets thermiques de dénaturation qui se produisent dans l'intervalle de temps et qui diminuent la quantité d'enzymes susceptibles de prendre part à la respiration (HELLER, 1969).

Le maintien du végétal à 50°C se traduit d'ailleurs par une diminution très nette de l'intensité respiratoire qui, par exemple, est divisée par 4 au bout de 3 h d'exposition à 50°C pour des folioles de luzerne présentant un taux de matière sèche de 56 %.

Nos mesures à 50°C confirment les observations de WOOD et PARKER (1971) à 30, 35 et 45°C, relatives à l'existence d'un pic initial d'intensité respiratoire pour chacune de ces températures. Selon HELLER (1969), la respiration intense observée à des températures aussi élevées ne constitue en fait qu'une "exaspération paraphysiologique, une sorte de fièvre déjà pathologique".

La responsabilité du végétal semble donc bien en cause dans le pic initial d'échauffement au cours duquel sont observées des températures de l'ordre de 50°C.

Il reste maintenant à vérifier, à partir d'un bilan thermodynamique, que le métabolisme respiratoire du végétal est capable à lui seul de provoquer la même cinétique d'échauffement.

## 2.1.4. Bilan thermodynamique de la respiration du fourrage humide

### 2.1.4.1. Cas général

La respiration génère de la chaleur dont une partie est cédée au milieu environnant par conduction et convection, l'autre partie contribuant à élever la température du fourrage. Dans le cas d'un fourrage disposé à même le sol, en couche mince (andain), aucune élévation de température du fourrage n'est possible car les échanges par conduction et convection sont très importants.

Quand les dimensions  $L$  du tas augmentent, les échanges conductifs et convectifs ne croissent que proportionnellement à  $L^2$  (surface), par contre, la production de chaleur augmente proportionnellement à  $L^3$  (volume). Les échanges avec le milieu environnant deviennent alors insuffisants pour évacuer la chaleur produite par la respiration, d'où l'installation du processus d'échauffement.

Prenons pour simplifier, l'exemple d'un volume de fourrage très grand se rapprochant d'un milieu infini; le refroidissement par conduction et convection est alors négligeable et le phénomène d'échauffement se déroule dans des conditions adiabatiques.

*Hypothèses de calcul*

La respiration s'exerce au détriment du glucose selon l'équation :



L'intensité respiratoire (IR) est donnée par la formule (GREENHILL, 1959 ; WOOD et PARKER, 1971) :

$$IR = (a - b MS) \frac{e^{kT}}{e^{kT'}}$$

(a et b sont les coefficients déterminés à la température T').

Soit :

c la chaleur spécifique du fourrage sec (en Kcal / °C .kg )

t le temps (en h)

T<sub>0</sub> la température du fourrage à t = 0 (en °C)

D'après le bilan thermodynamique de la respiration (Annexe 12), l'évolution de la température T du fourrage est donnée par la formule :

$$T = - \frac{1}{k} \ln (- kKt + e^{-kT_0}) \quad (1)$$

$$\text{avec } K = \frac{0,3 (a - bMS) MS}{e^{kT'} \times 100 \left(1 - \frac{MS}{100} (1 - c)\right)} \quad (2)$$

*Application numérique*

c : 0,34 Kcal / °C . kg ; cette valeur correspond à la chaleur spécifique des bois secs tendres (TERRIEN et GUINIER, 1981) et se situe à mi-chemin entre celles adoptées par KOEGEL, STRAUB et SHINNERS. (1985) et par WOOD et PARKER (1971), pour la paille et le foin secs, soit respectivement 0,22 et 0,4 k.cal / °C .kg

$$T' = 20,5^\circ\text{C}$$

$$IR = 35,9 - 0,52 MS \text{ (ray-grass plante entière au stade "montaison" – GREENHILL (1959))}$$

k : 0,069 (WOOD et PARKER, 1971. Cette valeur correspond à un Q<sub>10</sub> de 2)

D'après (1), T augmente d'autant plus vite que K est grand. Or K varie avec MS (2), selon une loi parabolique à concavité tournée vers le bas dont la valeur maximale est obtenue vers 40 % de matière sèche dans l'exemple considéré (cf. tableau 26).

Tableau 26 : Valeurs de K selon le taux de matière sèche

MS en %	65	60	55	50	45	40	35	30	25	20
K	0,171	0,338	0,458	0,537	0,582	0,598	0,587	0,553	0,500	0,428

La loi de variation de K montre que le fourrage s'échauffe d'autant plus vite qu'il est humide, mais qu'en-deçà d'une certaine teneur en MS la vitesse d'échauffement diminue légèrement pour deux raisons : l'accroissement de chaleur spécifique et la diminution de la quantité d'enzymes prenant part à la respiration, rapportée au poids de fourrage humide.

Le temps nécessaire pour que la température s'élève de T<sub>0</sub> à T est donné par la formule :

$$t = \frac{e^{-0,069T_0} - e^{-0,069T}}{0,069K} \quad (3)$$

En admettant la validité de cette formule dans l'intervalle 25-50°C, durant le pic d'intense respiration signalé par WOOD et PARKER (1971) et observé durant nos essais, nous allons estimer l'ordre de grandeur de la vitesse d'échauffement de 25 à 50°C, provoqué par la respiration du végétal à partir de deux exemples :

1. MS = 65                      K = 0,171 (tableau 26)  
                                   ==> t = 12,4 h
2. MS = 60                      K = 0,338  
                                   ==> t = 6,3 h

D'après le tableau 25, des feuilles de ray-grass ou de trèfle produiraient à une teneur en MS identique, des échauffements encore plus intenses.

Nous en concluons qu'en conditions adiabatiques et en présence d'oxygène en quantité suffisante, la respiration du fourrage humide est bien capable, à elle seule, d'élever la température de 25°C à 50°C, en l'espace de quelques heures.

L'exemple 2 peut être rapproché du fourrage de fétuque à 54,7 % de MS dans lequel nous avons constaté un échauffement de 30 à 52°C, durant les 8-9 premières heures suivant le pressage (cf. chapitre I).

En conditions réelles, et pour un fourrage donné, la vitesse d'échauffement donnée par la formule (3) représente a priori une valeur maximale, en raison des phénomènes de dénaturation des enzymes respiratoires, commençant surtout à partir de 40°C (HELLER, 1969) et peut-être d'un renouvellement insuffisant de l'oxygène à l'intérieur du fourrage.

Comme le montre, en effet, le bilan rapide ci-dessous, établi pour un fourrage à 60 % de MS, l'oxygène présent dans l'atmosphère interstitielle du fourrage n'est pas suffisant pour assurer, sans renouvellement, un échauffement de 25°C : compte tenu de la valeur de la chaleur spécifique à ce taux de MS, soit 0,60 Kcal /°C.kg, l'énergie nécessaire pour élever de 25°C la température d'un kg de fourrage humide est de :

$$0,60 \times 25 = 15 \text{ Kcal, fournies par la combustion de } 3 \text{ l d'O}_2.$$

De densité apparente voisine de 220 kg/m<sup>3</sup> (cf. balle 2. chapitre I), le fourrage humide occupe globalement un volume de 4,5 l/kg, soit :

- 1,0 l réellement occupé par le matériel végétal (dont la densité intrinsèque peut être rapprochée de celle de granules de luzerne, de l'ordre de l'unité) ;
- 3,5 l d'atmosphère interstitielle correspondant seulement à 0,7 l d'O<sub>2</sub>

#### 2.1.4.2. Cas des fourrages "secs" (75-80 % de MS)

En raison de leur taux de siccité, ces fourrages ne devraient pas être le siège d'échauffements de type "enzymatique respiratoire", c'est-à-dire d'échauffements intervenant immédiatement après le pressage ; or, nous avons rencontré de tels phénomènes dans des fourrages récoltés à 74.4 ; 74.8 ; 75.5 et 78.2 % de MS (ZWAENEPOEL et al., 1979) ; NASI-I (1978) signale le comportement analogue de fourrages à 73 % de MS.

L'explication de ce phénomène réside vraisemblablement dans l'hétérogénéité de la teneur en MS du fourrage, qui n'a pas été prise en compte dans l'établissement de notre modèle mathématique simplifié du processus d'échauffement.

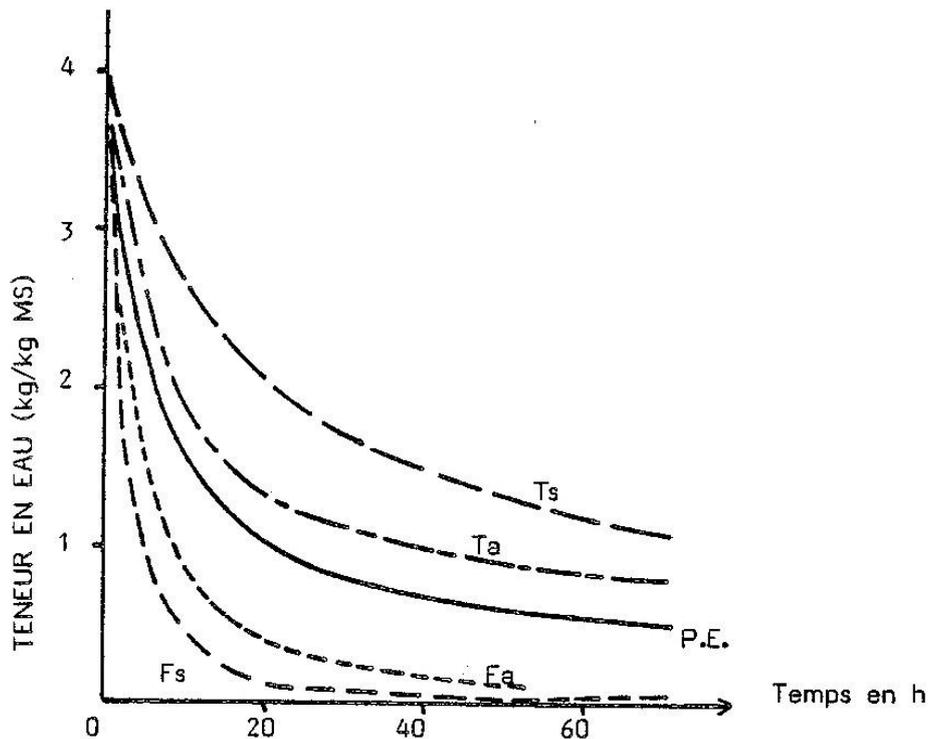
L'hétérogénéité de la teneur en MS du fourrage se manifeste en effet, à deux niveaux :

- au niveau de la plante ("microhétérogénéité") ;
- au niveau de l'andain ("macrohétérogénéité").

#### Microhétérogénéité

Les tiges et les feuilles, organes constitutifs des plantes fourragères, présentent des comportements différents face à la dessiccation ; JONES (1979) a étudié au laboratoire la dessiccation de plantes entières ou d'organes séparés (feuilles, tiges, parties de tiges) soumis à un flux d'air de température et d'humidité relative constantes. Les résultats obtenus avec du ray-grass italien au stade "tout début épiaison" placé dans un flux d'air de vitesse 1 m/s, de température 20°C et d'humidité relative 50 %, sont reportés dans la figure 17. On constate que les feuilles se dessèchent plus vite que les tiges, et qu'elles ont de ce fait, un taux de matière sèche constamment plus élevé que celui de la plante entière.

Figure 17 : Courbe de dessiccation de la plante entière (P.E.) de ray-grass italien au stade début épiaison du 1er cycle, de ses tiges suivant qu'elles sont séparées (Ts) ou non (Ta) des limbes, et des limbes suivant qu'ils sont séparés (Fs) ou non (Fa) de la tige (20°C - 50 % : HR - 1m/s) (DEMARQUILLY, 1986, d'après JONES, 1979)



Après 60 h de séchage, les teneurs en matière sèche des limbes, des tiges et de la plante entière sont respectivement de 90 %, 54,6 % et 64,3 %. Selon DEMARQUILLY (1986), la dessiccation plus rapide des limbes notamment par comparaison aux tiges couvertes en partie de gaines, résulte de la faible épaisseur des limbes (l'eau est proche de la surface), de leur rapport surface/volume plus élevé et de leur résistance beaucoup plus faible à la diffusion de l'eau par suite de la présence de stomates en plus grand nombre et d'une moindre résistance de la cuticule. Les légumineuses (luzerne, trèfle) présentent un comportement très analogue, sinon plus marqué que les graminées, qui est à l'origine, lors de la fenaison, de pertes importantes de feuilles fragilisées par la dessiccation (SHEPHERD, 1959).

Sachant que la méthode classique de mesure de la teneur en matière sèche des fourrages

consiste à prélever des échantillons de 200 à 300 g, nous pouvons conclure qu'un fourrage quelconque composé de plantes entières, présentant un taux de matière sèche moyen de 7.5 %, contiendra au niveau des tiges en particulier, des cellules végétales plus humides possédant un métabolisme respiratoire toujours actif.

#### *Macrohétérogénéité*

La macrohétérogénéité du fourrage des andains a été évoquée dans la revue bibliographique à propos de l'acide propionique; aussi, nous rappellerons seulement que CURRENCE, SEARCY et MATCHES (1976) indiquent, pour des fourrages d'humidité moyenne 23.9 %, 24.5 % et 25.8 %, la présence, dans les andains, de poches plus humides atteignant 27,4 %, 31 % et 28 % de teneur en eau.

Macrohétérogénéité et microhétérogénéité peuvent ainsi certainement se conjuguer pour assurer, au sein de fourrages présumés secs, l'échauffement initial.

L'étude quantifiée de ce phénomène devrait faire intervenir des mesures d'humidité séparées sur les parties constitutives des plantes pour tous les profils d'humidité constatés au sein des andains ; nous n'avons pas réalisé ces opérations qui sortaient du cadre de nos travaux.

### **2.1.5. Conclusion**

La respiration du végétal diminue au cours de la dessiccation mais ne s'arrête complètement que pour des taux de matière sèche très élevés atteignant 75-80 %.

En raison de la microhétérogénéité et de la macrohétérogénéité de la teneur en matière sèche des andains, subsistent cependant toujours dans les fourrages présentant cet état moyen de siccité, des cellules végétales respirant encore activement. Les températures élevées 40-50°C exacerbent momentanément l'intensité respiratoire qui retombe ensuite à une valeur plus basse.

A partir de ces constatations, nous avons montré, grâce à un bilan thermodynamique, que la respiration était capable de provoquer l'échauffement rapide des foins humides entassés. En nous appuyant sur les résultats des analyses microbiologiques opérées pendant le pic initial d'échauffement (chapitre I), nous parvenons ainsi à la conclusion selon laquelle **la respiration du végétal est à l'origine du pic initial d'échauffement des foins humides**. Rappelons que cette hypothèse avait été avancée par NASH (1978) et par KASPERSSON et al. (1984).

Il s'agit en quelque sorte pour le végétal d'un "suicide thermique" qui, du fait de sa fugacité, n'a certainement que peu d'incidences sur la qualité nutritionnelle ; par contre, il favorise l'essor des espèces microbiennes thermotolérantes et thermophiles.

## **2.2. DEVELOPPEMENT DES MICROORGANISMES ET THERMOGENESE**

L'étude analytique du métabolisme des microorganismes avec ses conséquences sur l'échauffement et les pertes de matière sèche a nécessité la mise au point d'une technique de laboratoire avec laquelle nous avons pu comparer l'influence de la stérilisation sur la conservation de foins humides, mettant ainsi en évidence le rôle joué par la microflore.

Une expérience complémentaire, à partir de foins stérilisés puis recontaminés avec des germes fongiques a permis de confirmer les premières conclusions obtenues.

### **2.2.1. Mise au point d'une technique de laboratoire pour l'étude de la conservation des foins humides**

A l'exemple de LACEY et LORD (1977), nous avons cherché à mettre au point au laboratoire une technique d'étude de la conservation des foins humides qui permette de répondre à un double objectif :

- pouvoir étudier de façon analytique l'influence du métabolisme des microorganismes sur la conservation, en liaison avec la disponibilité en oxygène ;
- pouvoir tester rapidement et au moindre coût l'efficacité de produits conservateurs, en s'affranchissant des contraintes des essais en conditions réelles, en particulier le caractère saisonnier et l'étroite dépendance des conditions météorologiques.

La technique des bocaux de 0,5 l ne convenait pas aux objectifs de notre étude car elle ne permet pas au fourrage de s'auto-échauffer; les pertes de matière sèche provoquées par le développement de la flore mésophile, très privilégiée dans ces conditions, sont d'autre part, difficilement mesurables avec précision, en raison des faibles quantités de fourrage mises en jeu. Dans les flacons DEWAR de 4,5 l, l'échauffement peut se développer normalement, mais l'aération s'effectue par diffusion et ne peut donc pas être contrôlée.

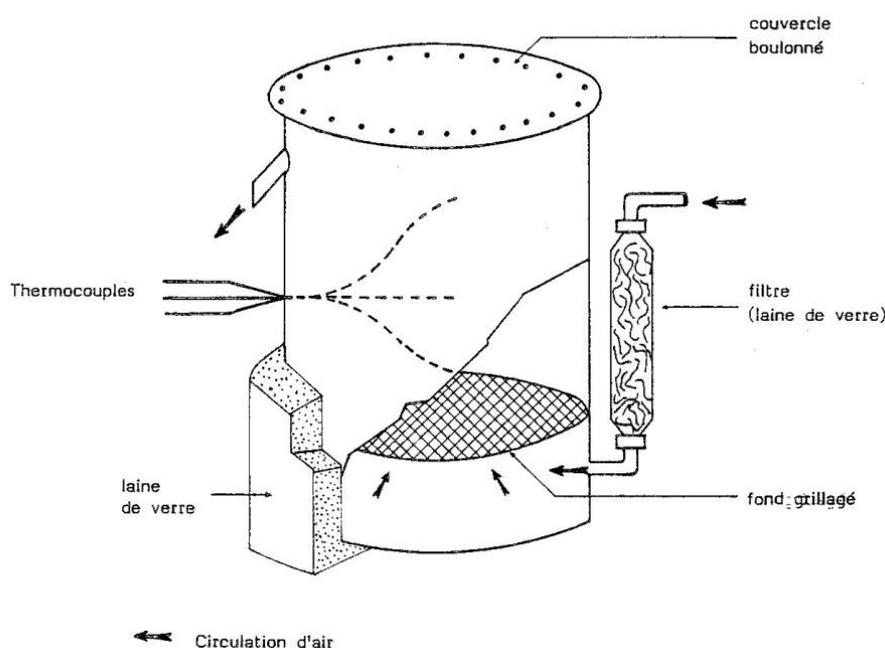
Les enceintes de 220 l à aération contrôlée de LACEY et LORD (1977) nous ont semblé, d'autre part, peu commodes d'emploi (volume trop important et difficultés d'échantillonnage en fin de conservation). Aussi, avons-nous étudié l'utilisation d'enceintes calorifugées de volume réduit (25 l), reliées à un circuit d'amenée d'air, de débit facilement réglable.

### 2.2.1.1. Utilisation d'enceintes calorifugées à aération contrôlée

#### *Description*

Ces enceintes sont de forme cylindrique, de diamètre 30 cm et de hauteur 45 cm (cf. Figure 18). Réalisées en tôles de 3,5 mm d'épaisseur assemblées par soudure, elles comportent un couvercle boulonné contre un joint en caoutchouc assurant l'étanchéité de la fermeture et un faux-fond grillagé sur lequel va reposer le fourrage (poids total d'une enceinte : 16,5 kg). Un filtre placé sur l'arrivée d'air permet d'éviter l'introduction dans l'enceinte de germes de l'atmosphère extérieure ; la mesure de la température interne de l'enceinte, isolée par 10 cm de laine de verre, s'effectue grâce à 3 thermocouples introduits par un orifice latéral et reliés à un appareil enregistreur MECI équipé de 16 voies.

Figure 18 : Schéma de l'enceinte calorifugée à aération contrôlée



Ainsi conçues, ces enceintes peuvent être fermées de façon parfaitement hermétique ou parcourues par un flux d'air, fourni par un compresseur, et de débit réglable grâce à un robinet placé sur le circuit d'amenée. Le débit est mesuré à l'aide de débitmètres d'air à flotteur.

Chaque enceinte de capacité utile 25 l peut contenir de 2,5 à 3,5 kg de fourrage tronçonné en brins d'environ 5 cm (le tronçonnement permet d'obtenir une densité plus élevée et plus homogène et d'éviter ainsi le passage préférentiel de l'air dans des zones moins denses).

#### *Choix du débit d'aération*

Le débit d'aération, s'il est insuffisant, peut ralentir le métabolisme du système biologique étudié ; trop important, il est, par contre, susceptible de provoquer artificiellement le refroidissement et le séchage du fourrage.

Nous avons donc cherché le débit optimal d'aération correspondant à nos enceintes en mesurant, au cours d'une expérience préliminaire, son influence sur la température maximale d'échauffement atteinte par un fourrage de ray-grass dont la teneur en MS a été abaissée à 64 % par réhumidification. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 27.

*Tableau 27 : influence du débit d'aération sur la température maximale d'échauffement en enceintes calorifugées à aération contrôlée d'un fourrage de ray-grass réhumidifié (MS : 64 %)*

Débit d'aération en l d'air/h.kg de fourrage	0	2.8	5.5	8.3	11.1	13.8
Température maximale atteinte en °C	25	47	46	46	46	47

Comme on pouvait s'y attendre, aucun échauffement n'a été constaté dans l'enceinte non aérée ; pour les autres enceintes, les températures maximales d'échauffement, atteintes après un délai de 4-5 jours, se révèlent très comparables :  $46^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

A noter qu'une diminution fortuite durant 24 h du débit le plus faible de 2,8 à 1,3 l d'air/h-kg de fourrage, a provoqué un infléchissement très net de la courbe d'échauffement, l'oxygène n'étant plus introduit en quantité suffisante.

Cette expérience montre qu'au-delà d'une valeur minimale comprise, dans nos conditions, entre 1,3 et 2,8 l d'air/h-kg de fourrage, le débit d'aération peut varier et atteindre 13,8 l/h-kg de fourrage sans que se modifie véritablement l'allure des phénomènes d'échauffement ; une certaine latitude est donc permise, dans le choix du niveau d'aération, que sauf indication contraire, nous avons fixé par la suite à 5 l d'air/h-kg de fourrage pour éviter les inconvénients d'une diminution accidentelle du flux d'air dans le circuit alimenté par le compresseur.

#### **2.2.1.2. Comparaison de la conservation de fourrages frais et de fourrages séchés réhumidifiés**

FESTENSTEIN (1966), LACEY et LORD (1977) ont fréquemment utilisé la réhumidification pour mener des expériences sur les foin humides, qu'il s'agisse de l'étude des répercussions biochimiques de l'échauffement ou de l'évaluation de l'efficacité de produits conservateurs, LACEY et LORD indiquant explicitement que les fourrages séchés réhumidifiés et les fourrages frais, partiellement séchés se comportent de la même manière, au cours de la conservation.

Nous avons voulu vérifier que cette méthode pouvait être utilisée avec nos enceintes de laboratoire, en comparant sous l'angle de l'échauffement et des pertes de MS la conservation d'un fourrage mixte (trèfle, fétuque, ray-grass) séché à 65,5 % de MS et du même fourrage séché à 87,7 % de MS puis réhumidifié à 66 % de MS.

La réhumidification a été opérée en étalant le fourrage sur une bâche imperméable et en

l'aspergeant d'eau, en proportion adéquate à l'aide d'un pulvérisateur ; le brassage et le retournement du fourrage au cours de la pulvérisation ont été systématiquement pratiqués pour obtenir une homogénéité de réhumidification aussi bonne que possible.

Les résultats obtenus après 30 jours de conservation sont donnés par les figures 19 et 20 et par le tableau 28.

L'allure générale de l'échauffement est très voisine pour les deux types de fourrages, avec un pic à 45°C atteint après 3-4 jours ; on remarque toutefois une différence de comportement durant les deux premiers jours de conservation :

- le fourrage frais séché s'est échauffé immédiatement, sa température s'élevant à 27-29°C, après seulement 2,5 h de conservation (d'après les relevés de température, heure par heure) ; la température a ensuite décliné pour se maintenir légèrement au-dessus de la température ambiante ; l'échauffement principal s'est amorcé à  $t_0 + 48$  h, l'élévation de température atteignant 1°C/h ;
- par rapport au fourrage frais séché, le fourrage séché réhumidifié n'a pas présenté ce faible et fugitif pic de température en début de conservation ; par contre, l'échauffement principal s'est amorcé plus rapidement ( $t_0 + 10$  h), l'élévation de température atteignant 0,5 - 0,7°C/h.

Figure 19 : Courbes d'échauffement en enceintes à aération contrôlée d'un fourrage frais séché (MS = 65.5 %)

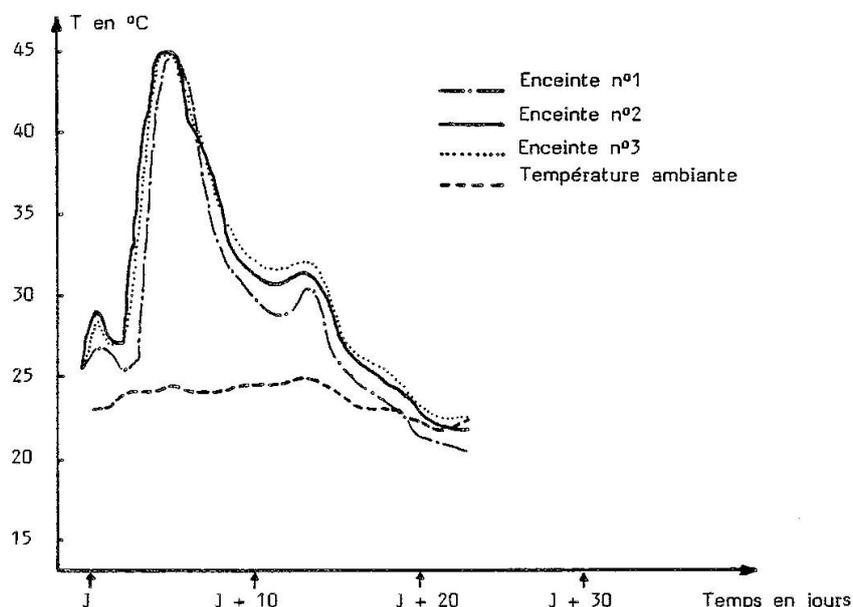
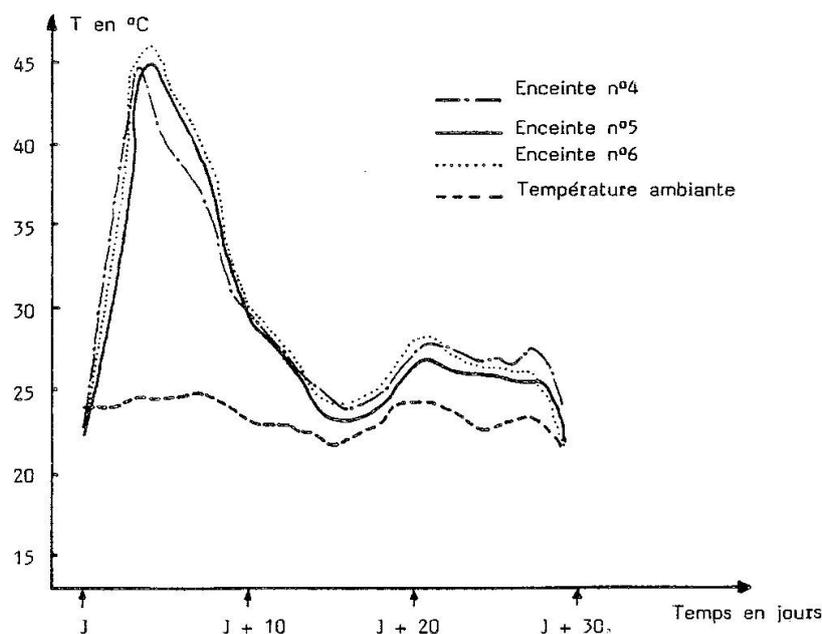


Figure 20 : Courbes d'échauffement en enceintes à aération contrôlée d'un fourrage réhumidifié (MS = 66,0 %)



Le pic initial fugitif dans le cas du fourrage frais séché, peut être attribué à la respiration du végétal, celui-ci présentant encore un métabolisme respiratoire actif à la différence du fourrage séché réhumidifié (vérification faite avec le respiromètre de GILSON) ; le taux de renouvellement de l'oxygène n'a cependant pas été suffisant pour assurer le maintien d'une respiration élevée.

Le contenu de chaque enceinte présentait le même état de conservation :

- développement généralisé de moisissures (feutrage blanc ou vert selon les zones), à l'origine de l'émission de nuages de spores lors des manipulations ;
- présence de zones très humides, en état de décomposition, sur la périphérie et en partie supérieure.

Les pertes de matière sèche données dans le tableau 28, sont respectivement pour chaque enceinte, de 20,6 %, 26,4 % et 27,6 % (moyenne: 24,86 %) pour le fourrage frais séché et de 21,6 %, 19,2 % et 19,0 % (moyenne : 19,93 %) pour le fourrage séché réhumidifié ; on observe donc une différence moyenne de 5 % entre les pertes de matière sèche des deux fourrages, la valeur plus faible observée pour le fourrage séché réhumidifié s'expliquant peut-être par des pertes en glucides déjà subies lors de la dessiccation sur la parcelle.

Tableau 28 : Pertes de matière sèche durant la conservation en enceintes aérées d'un fourrage frais séché et d'un fourrage sec réhumidifié

Enceinte no	FOURRAGE FRAIS SECHE			FOURRAGE SEC REHUMIDIFIE		
	1	2	3	4	5	6
Teneur en matière sèche avant conservation en %	65,5	65,5	65,5	66,0	66,0	66,0
Teneur en matière sèche après conservation en %	63,4	60,0	59,6	66,0	70,2	67,6
Pertes de matière sèche (en % de la matière sèche initiale)	20,6	26,4	27,6	21,6	19,2	19,0
Pertes moyennes de matière sèche (en % de la matière sèche initiale)	24,86 ± 3,7			19,93 ± 1,4		

Malgré l'échauffement, la teneur en matière sèche du fourrage a peu évolué durant la conservation puisque l'on observe une variation de - 4,5 % en moyenne pour le fourrage frais séché et de + 2 % en moyenne pour le fourrage sec réhumidifié par rapport aux teneurs initiales. Ce phénomène est dû à la formation d'eau, métabolite de la combustion des sucres et au degré élevé de confinement des enceintes. Le débit d'air insufflé correspond, en effet, seulement à un renouvellement de l'atmosphère intérieure toutes les deux heures ; l'eau formée n'est pas évacuée suffisamment rapidement et peut donc se condenser dans les zones les plus froides, allant jusqu'à provoquer pour le fourrage frais séché, un abaissement de la teneur moyenne en matière sèche.

### Conclusion

Les enceintes à aération contrôlée étudiées sont de volume 10 fois inférieur à celles utilisées par LACEY et LORD (1977) ; elles permettent néanmoins de reproduire de façon satisfaisante les phénomènes d'échauffement et de pertes de MS observées avec les foin humides. Du fait d'un volume réduit, l'ensemble de leur contenu soit environ 3 kg de foin peut être étuvé intégralement pour déterminer les pertes de MS lors de la conservation, sans risques d'imprécision tenant aux difficultés habituelles d'échantillonnage de volumes importants de foin ;

Nous avons, d'autre part, vérifié, en accord avec FESTENSTEIN (1966), LACEY et LORD (1977) que des fourrages humides, frais séchés ou secs réhumidifiés, se comportaient, au laboratoire dans les conditions décrites, de façon quasiment identique au cours de la conservation (échauffement, pertes de MS, développement de la microflore).

L'utilisation de fourrages séchés dans de bonnes conditions et réhumidifiés en place de fourrages frais séchés paraît donc justifiée pour des études portant sur les conséquences biochimiques de l'échauffement ou sur les méthodes à mettre en œuvre pour combattre le processus microbien de détérioration.

## 2.2.2. Stérilisation par irradiation de foin humides - Influence sur la conservation

### Matériels et méthodes

L'expérience dont le schéma est donné par la figure 21 a été réalisée à partir de 6 enceintes remplies chacune de 3,5 kg de ray-grass italien (taux de MS = 55,7 ± 1,3 %), puis fermées hermétiquement ; 4 d'entre elles numérotées 3, 4, 5, 6 ont été soumises à une irradiation gamma de l'ordre de 2,8 Mrad.

Immédiatement après l'irradiation, le degré de stérilisation microbiologique atteint a été contrôlé sur l'enceinte 5. Les enceintes témoins 1, 2 et irradiées 3, 4 ont ensuite été connectées sur le circuit d'aération, dont on a fait varier le débit, de façon indépendante pour chacune d'entre elles, selon les besoins de l'expérience. Après environ 2 ou 3 semaines de conservation selon les cas, ont été opérés les contrôles (analyses microbiologiques, bilan matière sèche) indiqués sur la figure 21.

Figure 21 : Schéma de l'expérience avec les 6 enceintes (de 1 à 6)

1	2	3	4	5	6
Témoin Non irradié	Témoin Non irradié	Irradiation	Irradiation	Irradiation	Irradiation
Aération	Aération	Aération	Aération	Pas d'aération	Pas d'aération
Mesures d'échauffement	Mesures d'échauffement	Mesures d'échauffement	Mesures d'échauffement	non	non
Bilan de matière sèche après conservation	Analyse microbiologique après conservation	Analyse microbiologique après conservation	Bilan de matière sèche après conservation	Analyse microbiologique 24 h après l'irradiation	Analyse microbiologique Bilan de matière sèche après conservation

## Résultats

### \* Température

L'évolution de la température moyenne du fourrage des quatre enceintes aérées est donnée par la figure 22 sur laquelle a également été porté le débit d'air insufflé.

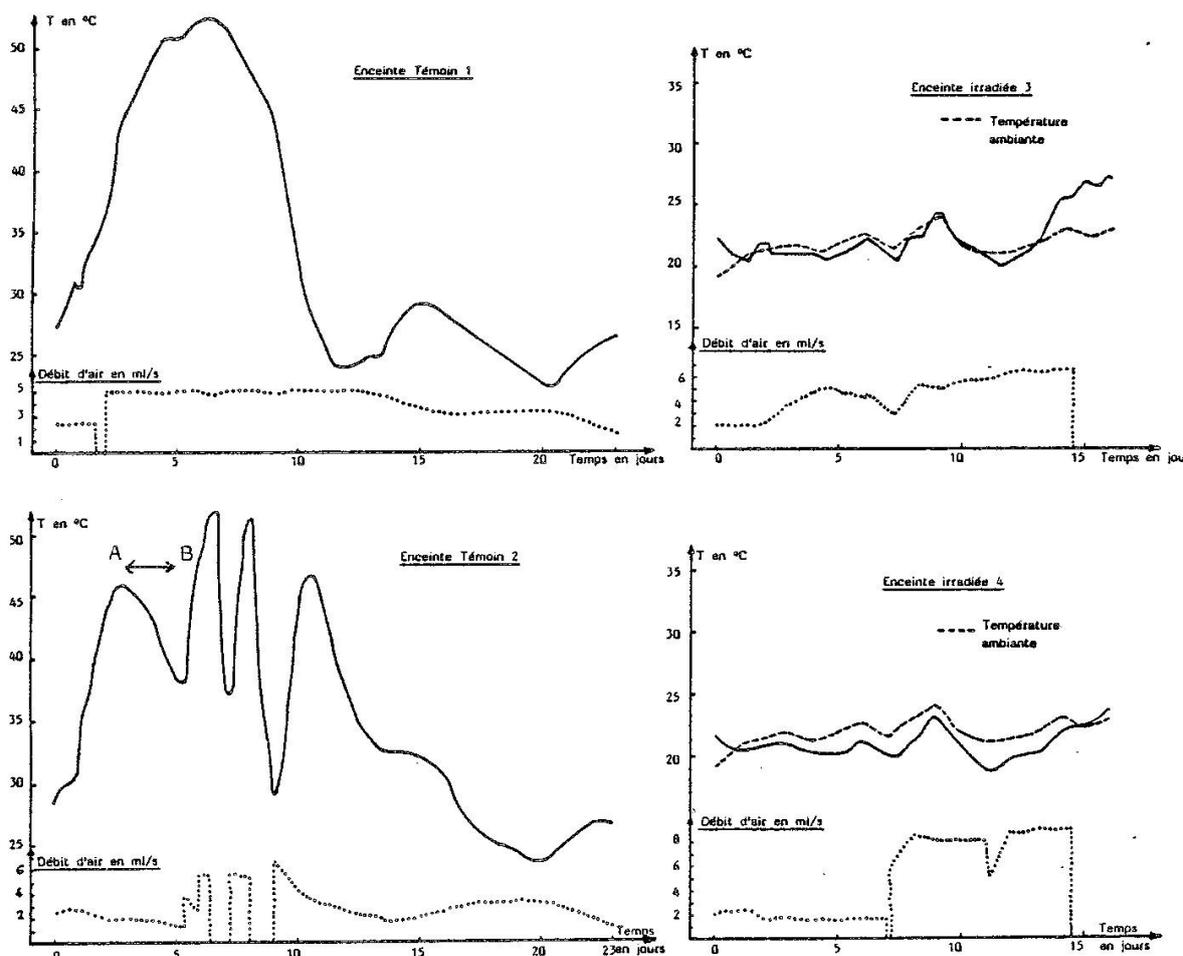
Les fourrages témoins (non irradiés) se sont échauffés rapidement et de manière importante : la température atteint par exemple, 52°C en l'espace de 6 jours pour l'enceinte 1 et 46°C en 2,5 jours pour l'enceinte 2.

L'échauffement dépend essentiellement du niveau d'aération admis, comme le montrent les fluctuations de température de l'enceinte 2, parfaitement corrélées avec les variations du débit d'air :

- l'abaissement de la température (partie AB) correspond la diminution du débit d'air au-dessous de 2 ml/s, soit moins de 2,1 l d'air / h.kg de fourrage ;
- l'arrêt complet de l'aération est suivi par une chute brutale de la température qui peut toutefois recommencer à croître, dès la remise en route de l'aération, avec une dynamique remarquable.

En revanche, la température des fourrages irradiés est restée légèrement inférieure de quelques °C à la température ambiante pendant la conservation, avec cependant une amorce d'échauffement après 13 jours dans l'enceinte 3.

Figure 22 : Evolution de la température et du débit d'air dans les enceintes 1, 2, 3 et 4



## \* Pertes de matière sèche

Les pertes de matière sèche des enceintes 1, 4 et 6 sont données dans le tableau 29.

L'échauffement constaté dans l'enceinte 1 s'est bien exercé au détriment de la matière sèche du fourrage qui a diminué de 29,8 %.

Tableau 29 : Pertes de matière sèche des fourrages témoin, irradié aéré, irradié non aéré

ENCEINTE	HUMIDITE INITIALE %	MATIERE SECHE INITIALE (g)	MATIERE SECHE FINALE (g)	HUMIDITE FINALE %	PERTES DE M.S.	
					En g	En %
1 Témoin	44.3	1949.2	1367.3	44.3	581.9	29.8
4 Irradiée aérée	44.3	1949.2	1844	44.7	105.2	5.3
6 Irradiée non aérée	44.3	1949.2	1862.9	45.1	86.3	4.4

Ce phénomène s'est accompagné, également, comme dans les expériences précédentes, d'une notable diminution de la teneur en MS. Les fourrages irradiés aéré et non aéré n'accusent par contre, que de faibles pertes de matière sèche : 5.3 et 4.4 %.

### Flore microbienne

Le fourrage irradié de l'enceinte 5, contrôlé le lendemain de la radurisation présentait une légère odeur d'ensilage due très certainement à l'établissement de fermentations lactiques pendant le confinement précédant l'irradiation ; il ne contenait après celle-ci, qu'une population microbienne extrêmement réduite, composée d'une dizaine de bactéries et de moins de 500 germes fongiques par gramme, soit un haut niveau de stérilisation (à titre de comparaison, la flore du champ du fourrage étudié dans le chapitre I hébergeait plus de  $10^8$  bactéries et de l'ordre de  $10^5$  germes fongiques). L'identification de la flore fongique survivante a révélé essentiellement la présence d'*Aspergillus* du groupe *glaucus* : *Eurotium repens*, *E. amstelodami*.

L'analyse qualitative comparée de la flore fongique des fourrages témoin, irradiés aéré et non aéré des enceintes 2, 3 et 6 est donnée par le tableau 30. Le fourrage témoin, siège d'un échauffement important présente une prolifération considérable de *Absidia corymbifera* et de *Aspergillus fumigatus*. Ce sont surtout ces deux champignons qui confèrent au foin son aspect moisi. Nous avons noté aussi un bon développement de *Emericella nidulans*, du *Mucor pusillus* et d'un *Paecilomyces* encore présents à la dilution  $10^{-8}$ .

Tableau 30 : Flore fongique comparée des fourrages témoin, irradié aéré et irradié non aéré, après conservation

ESPECES ISOLEES	Enceinte 2 FOURRAGE TEMOIN	Enceinte 3 FOURRAGE IRRADIE AERE	Enceinte 6 FOURRAGE IRRADIE NON AERE
MUCORALES			
<i>Absidia corymbifera</i>	+++		
<i>Mucor pusillus</i>	++	+	+
<i>Mucor Sp.</i>		+	
<i>Rhizopus oryzae</i>	+		+
HYPHOMYCETES			
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+++	++ (poches)	+
<i>A. niger</i>	+		
<i>A. flavus</i>	+		+
<i>A. terreus</i>	+	+	
<i>Paecilomyces Sp.</i>	++	+	+
<i>Trichoderma viride</i>	+		
ASCOMYCETES			
<i>Emericella nidulans</i>	++	+	+

+++ très abondant    ++ abondant    + peu abondant

Après leur conservation les fourrages irradiés, aérés et non aérés, se caractérisent, par rapport au témoin, par un aspect bien moins moisi en raison de l'absence de *Absidia corymbifera*. *Aspergillus fumigatus* relativement encore abondant est accompagné à un moindre degré d'espèces thermotolérantes telles *E. nidulans*, *Mucor pusillus* et *Paecilomyces sp.*.

A l'issue de la conservation, on constate donc la réapparition d'espèces qui semblaient avoir été complètement éliminées par l'irradiation. Ce phénomène doit être attribué à la survie, après irradiation, d'un petit nombre de spores dont le développement n'est détecté, par effets thermiques qu'après une croissance suffisante, à partir du 13ème jour pour l'enceinte 3 qui, à la différence du fourrage de l'enceinte 6, contenait des poches visibles de moisissures.

*A. fumigatus* et *E. nidulans*, comme les *Aspergillus* du groupe *glaucus* (*Eurotium repens* et *E. amstelodami*) résistent donc à l'action stérilisante des rayons gamma, du moins aux doses administrées ; Il est intéressant de noter que ce sont surtout des champignons thermotolérants ou osmophiles qui ont le mieux résisté à l'irradiation : les espèces mésophiles ne se sont

pratiquement pas développées dans les enceintes irradiées malgré la persistance durant la conservation d'une température de l'ordre de 20°C.

Les *Aspergillus* du groupe *glaucus* n'apparaissent pas dans les analyses, vraisemblablement en raison de leur faible compétitivité à l'égard d'espèces plus luxuriantes, des milieux sélectifs pour la flore osmophile n'ayant pas été utilisés ici.

Les dénombrements de bactéries ont fait ressortir un facteur d'atténuation de  $10^4$  entre la population du fourrage témoin et celles des fourrages irradiés. Le fourrage témoin présentait également un développement notable d'actinomycètes isolés à 37°C.

#### *Discussion*

Au cours de cette expérience, nous avons vérifié que l'échauffement de foins humides non stériles ne pouvait s'établir qu'en présence d'oxygène en quantité suffisante, ce qui confirme les conclusions de différents auteurs et en particulier, de FESTENSTEIN et al. (1965).

Nous avons, d'autre part, montré qu'une irradiation poussée des fourrages, en réduisant drastiquement la flore microbienne, permettait de supprimer, au moins temporairement, tout échauffement et les pertes concomitantes de matière sèche; le rôle de la microflore dans la dégradation des foins humides, établi antérieurement, se trouve à nouveau ici vérifié.

Comme POISSON et CAHAGNIER (1973) dans des essais de conservation de maïs grain humide par irradiation gamma, nous avons constaté le "redéploiement" en fin de conservation de la flore la plus résistante à l'irradiation, qui en l'absence de compétition inter-espèces peut à nouveau se multiplier activement. Cette flore résistante est surtout représentée dans notre essai par *Aspergillus fumigatus*, *Emericella nidulans* et des *Aspergillus* du groupe *glaucus*.

### **2.2.3. Apport de contaminants fongiques sur des foins humides stérilisés - Influence sur la conservation**

#### *Matériels et méthodes*

6 enceintes remplies chacune de 2,5 kg de ray-grass réhumidifié à 65 % de MS ont été soumises aux différents traitements suivants :

- enceintes 1 et 2 : stérilisation par l'oxyde d'éthylène ;
- enceintes 3 et 4 : stérilisation par l'oxyde d'éthylène puis addition de spores obtenues par lavage de cultures d'espèces classiquement rencontrées dans les foins échauffés : *Aspergillus fumigatus*, *Absidia corymbifera* et *Aspergillus ochraceus*, les deux premières étant en outre, thermotolérantes ;
- enceintes 5 et 6 : aucun traitement particulier. 4

Toutes les enceintes ont ensuite été branchées sur le circuit d'aération réglé à 10 ml/s et conservées ainsi pendant 15 jours.

#### *Résultats*

Les mesures n'ont porté que sur l'échauffement et les pertes de matière sèche.

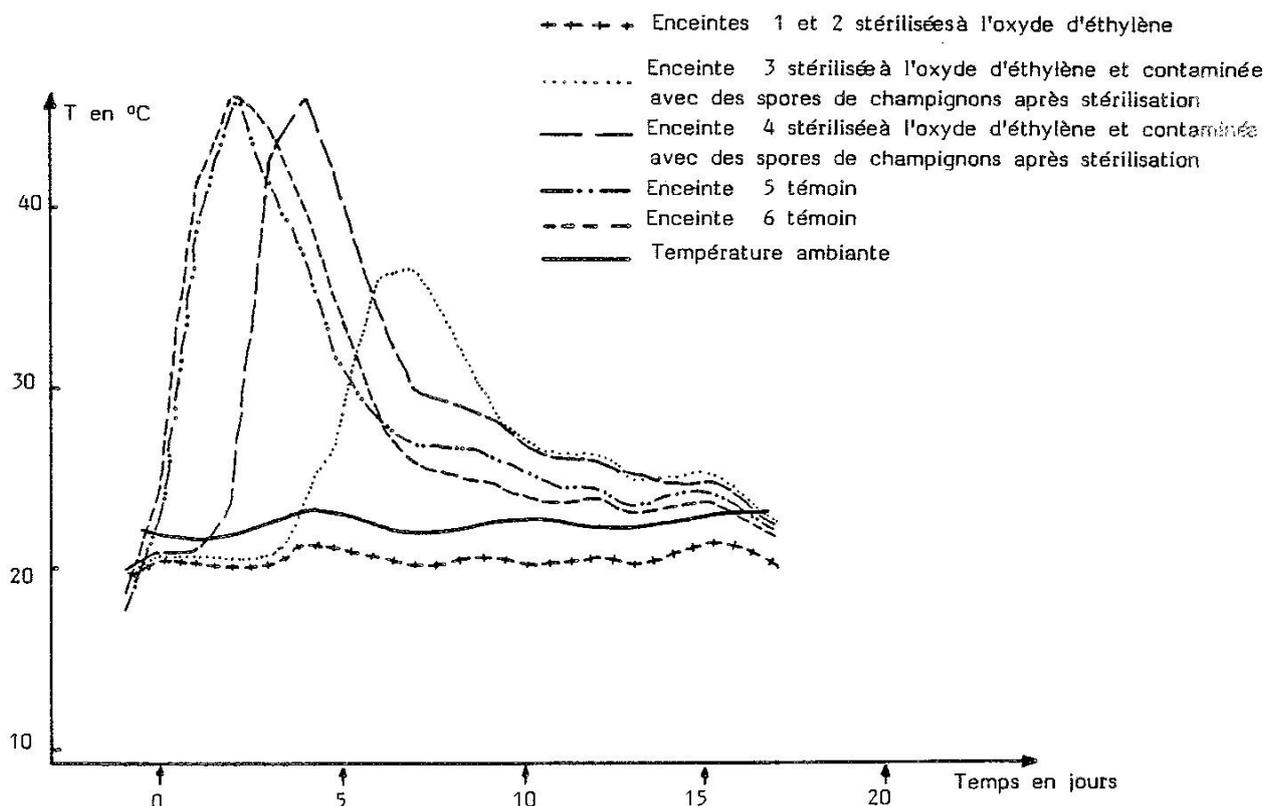
#### *\*Echauffement (figure 23)*

Les enceintes 1 et 2, stérilisées, n'ont été le siège d'aucun échauffement, leur température se maintenant en permanence 1 à 2°C en-dessous de celle de l'ambiance ; à l'ouverture, elles ne présentaient aucun signe visible de moisissures.

Les enceintes 5 et 6, témoins, se sont échauffées rapidement, leur température maximale atteignant 46°C ; à l'ouverture, le fourrage est apparu complètement moisi et des précautions ont dû être prises lors de sa manipulation, en raison de dégagements importants de nuages de spores.

L'échauffement a mis plus de temps à s'installer dans les enceintes 3 et 4, stérilisées puis recontaminées ; pour l'enceinte 4, le retard a été de 2 jours par rapport aux témoins mais la température maximale a atteint également 46°C. Le phénomène d'échauffement s'est déclenché plus tardivement dans l'enceinte n°3 (retard de 4 jours par rapport aux témoins), la température maximale ne s'élevant pas au-delà de 36°C. Cette différence de comportement entre les deux enceintes est très certainement due à un défaut de répartition des contaminants : le fourrage de l'enceinte 4 est apparu en effet, uniformément moisi à la différence du fourrage de l'enceinte 3 dont certaines zones étaient totalement exemptes de développements fongiques.

Figure 23 : Evolution de la température de fourrages réhumidifiés témoins, stérilisés, stérilisés et recontaminés



\* Pertes de matière sèche (tableau 31)

Elles ne dépassent pas 0,2 % pour les fourrages stérilisés, mais atteignent 11,3 et 14,7 % pour les fourrages témoins. Les lots recontaminés accusent des pertes de matière sèche de 7,9 et 10 %, bien corrélées avec l'échauffement, le lot 3 dont la température ne s'est élevée qu'à 36°C présentant des pertes plus faibles que l'autre lot.

Tableau 31 : Pertes de matière sèche de fourrages réhumidifiés témoins, stérilisés, stérilisés et recontaminés (taux de matière sèche après réhumidification : 65 %)

Enceinte n°	1	2	3	4	5	6
Traitement	Stérilisation	Stérilisation	Stérilisation + recontamination	Stérilisation + recontamination	Témoin	Témoin
Pertes de matière sèche En %	0.2	0.1	7.9	10.0	11.3	14.7

Discussion

Les résultats obtenus lors de cette expérience confirment bien les conclusions précédentes

relatives au rôle prépondérant de la flore microbienne aérobie dans la thermogénèse et les pertes de matière sèche. Ils montrent, en outre, que 2 espèces fongiques thermotolérantes associées à une espèce mésophile sont capables de produire, dans les conditions du laboratoire, des dégradations pratiquement équivalentes à celles subies par des fourrages contenant une flore plus riche.

Nous pouvons maintenant revenir sur les échauffements de balles rondes étudiés dans le Chapitre I :

La montée rapide en température dès les premières heures de stockage résulte de la respiration du matériel végétal encore "vivant". Toutefois, la respiration s'auto-inhibant par effet thermique, l'effet est fugitif et se traduit par un pic de température généralement bien distinct.

Le relais pris par les microorganismes dans la thermogénèse apparaît d'autant plus court que la teneur en eau du végétal est élevée (cf. balles 1 et 2) ; dans le cas de la balle de brome à 69,4 % de MS, il y a même eu occultation du pic d'échauffement d'origine végétale.

Il est probable que tous les microorganismes thermophiles (*Bacillus*, actinomycètes, moisissures) concourent par leur développement, à des degrés variables, à la thermogénèse d'origine microbienne ; le rythme des prélèvements d'échantillons (toutes les 12 h) et une certaine variabilité des dénombrements, conséquence de l'hétérogénéité de la teneur en matière sèche du fourrage, ne nous ont pas permis d'apporter d'éléments de réponse indubitables sur ce point ; la mise en œuvre de techniques utilisant le dosage de l'ATP (LEHTOKARI, NIKKOLA et PAATERO, 1983 ; THIERRY, 1986) devrait faciliter la détermination des groupes microbiens les plus actifs dans la thermogénèse.

L'élévation de la température du fourrage jusqu'à 65°C, à l'exemple de la balle 2 récoltée à 54,7 % de MS, ne peut être cependant le fait que d'un nombre restreint d'espèces, compte tenu des températures maximales de croissance des microorganismes thermophiles.

Les espèces identifiées sur la balle 2 présentent, en effet, les températures maximales de croissance ci-après (TANSEY et BROCK, 1978) :

*Bacillus*

*B. pumilus* : 45-50°C ; *B. licheniformis* : 50-55°C ; *B. stearothermophilus* : 70-75°C.

Actinomycètes

Jusqu'à 70-75°C selon l'espèce.

Moisissures

*Humicola lanuginosa* : 60°C ; *Rhizopus sp* : 60°C ; *Rhizomucor pusillus* : 55-60°C ;  
*R. miehei* : 55-57°C ; *Aspergillus fumigatus* : 52-55°C.

Il ressort de ces chiffres que **seuls les actinomycètes et/ou le *Bacillus stearothermophilus* ont pu élever la température du fourrage à 65°C** (une expérience de contrôle nous a permis de vérifier que nos souches d'actinomycètes et de *Bacillus stearothermophilus* se développaient bien à 65°C).

## 2.3. CONCLUSION

Les rôles respectifs du végétal et de la microflore dans les biodétériorations des foins humides viennent d'être analysés. La respiration du végétal se traduit par un pic fugitif d'échauffement de peu d'importance en regard de l'intense action dégradante provoquée par le développement des microorganismes aérobies dont certains présentent de surcroît des risques pathogènes; la croissance de quelques espèces peut d'ailleurs avoir pratiquement les mêmes effets que celle de la flore variée présente sur les foins.

Echauffement et pertes de matière sèche sont les manifestations les plus apparentes de ce processus de détérioration, qui a pour autre conséquence d'altérer les valeurs énergétique et azotée du fourrage (cf. revue bibliographique).

Il est donc essentiel, pour préserver la valeur nutritive des foins récoltés trop humides, d'inhiber totalement le développement de la microflore durant le stockage.

Ce problème fait l'objet du CHAPITRE III consacré à l'étude de plusieurs conservateurs.

## CHAPITRE III

### ETUDE DE CONSERVATEURS POUR FOINS HUMIDES

### 3. ETUDE DE CONSERVATEURS POUR FOINS HUMIDES

En préambule, sont rappelées brièvement les spécifications assignées au conservateur idéal, spécifications qui ont servi de cadre général à notre étude.

Puis, nous rapporterons les résultats obtenus avec différents conservateurs, en soulignant que nos travaux ont été réalisés en collaboration avec Messieurs DULPHY (Laboratoire des Aliments - CRZV de THEIX), PELHATE (Laboratoire d'Agrobiologie - Faculté de BREST) et BRETON (Laboratoire de Microbiologie – Université de CLERMONT-FERRAND).

Nous examinerons successivement dans ce chapitre :

- l'acide propionique,
- les spécialités commerciales,
- le chlorure de sodium,
- l'ammoniac anhydre.

#### 3.1. SPECIFICATIONS DES CONSERVATEURS

Elles se situent à plusieurs niveaux :

Pour les microorganismes

- inhiber totalement la croissance des champignons et des bactéries, quelles que soient la nature et l'humidité du foin, conserve en aérobiose ou en atmosphère semi-confinée.

Pour le bétail

- ne présenter aucune toxicité,
- être un facteur d'appétence (ou tout au moins, ne pas être une cause d'inappétence,
- posséder, si possible, une valeur alimentaire propre.

Pour l'éleveur

- être facilement disponible, simple et sûr d'emploi,
- être d'une utilisation rentable : l'économie faite sur l'achat de concentrés et de tourteaux ou l'augmentation de production (lait, viande) permise par le traitement doit au moins compenser le coût du produit, de sa mise en œuvre et éventuellement des frais d'entretien supplémentaires du matériel de récolte qu'il peut occasionner.

Pour le consommateur

- ne laisser aucun résidu toxique dans le lait ou la viande provenant du bétail nourri avec le foin traité.

Pour la législation

- être de vente autorisée.

Le 22 décembre 1972, l'homologation obligatoire en France des produits antiparasitaires à usage agricole a été étendue aux produits assimilés, dont font partie les conservateurs pour foins. Cette nouvelle réglementation a contraint les Sociétés à soumettre leurs produits commercialisés ou en voie de commercialisation à des tests d'efficacité placés sous le contrôle des services techniques du Ministère de l'Agriculture.

Les autorisations provisoires de vente et les homologations sont délivrées par le Service de Protection des Végétaux du Ministère de l'Agriculture, après consultation du Comité d'homologation des produits antiparasitaires à usage agricole et de la Commission des toxiques.

## 3.2. ACIDE PROPIONIQUE

L'acide propionique a été expérimenté en priorité en raison de ses qualités biostatiques reconnues, utilisées déjà en agriculture pour la conservation des grains humides ; l'étude a été menée en collaboration avec le Centre de Recherche et d'Expérimentation de la Société BP, à partir du produit "PROPCORN" commercialisé pour la conservation du maïs grain humide et contenant 99,5 % d'acide propionique.

### 3.2.1. Essais de laboratoire

#### 3.2.1.1. Sur milieux de culture

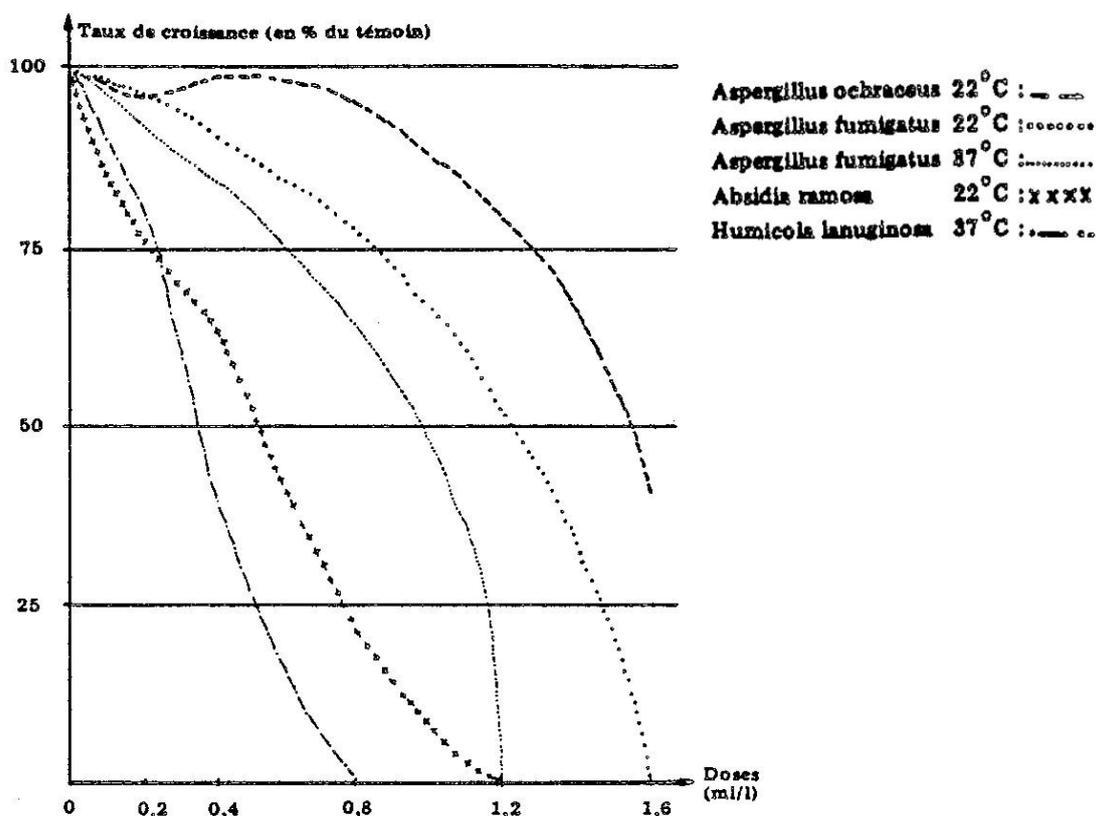
L'effet fongistatique de l'acide propionique a été testé sur 4 espèces couramment rencontrées dans les foins échauffés, cultivées sur milieu malté :

- *Aspergillus fumigatus*, *A. ochraceus*, *Absidia corymbifera*, *Thermomyces lanuginosus*

L'action inhibitrice de l'acide propionique a été comparée à celle du dipropionate d'ammonium fourni également par BP, en raison de l'intérêt potentiel présenté par ce dérivé de l'acide propionique pour la conservation des foins humides.

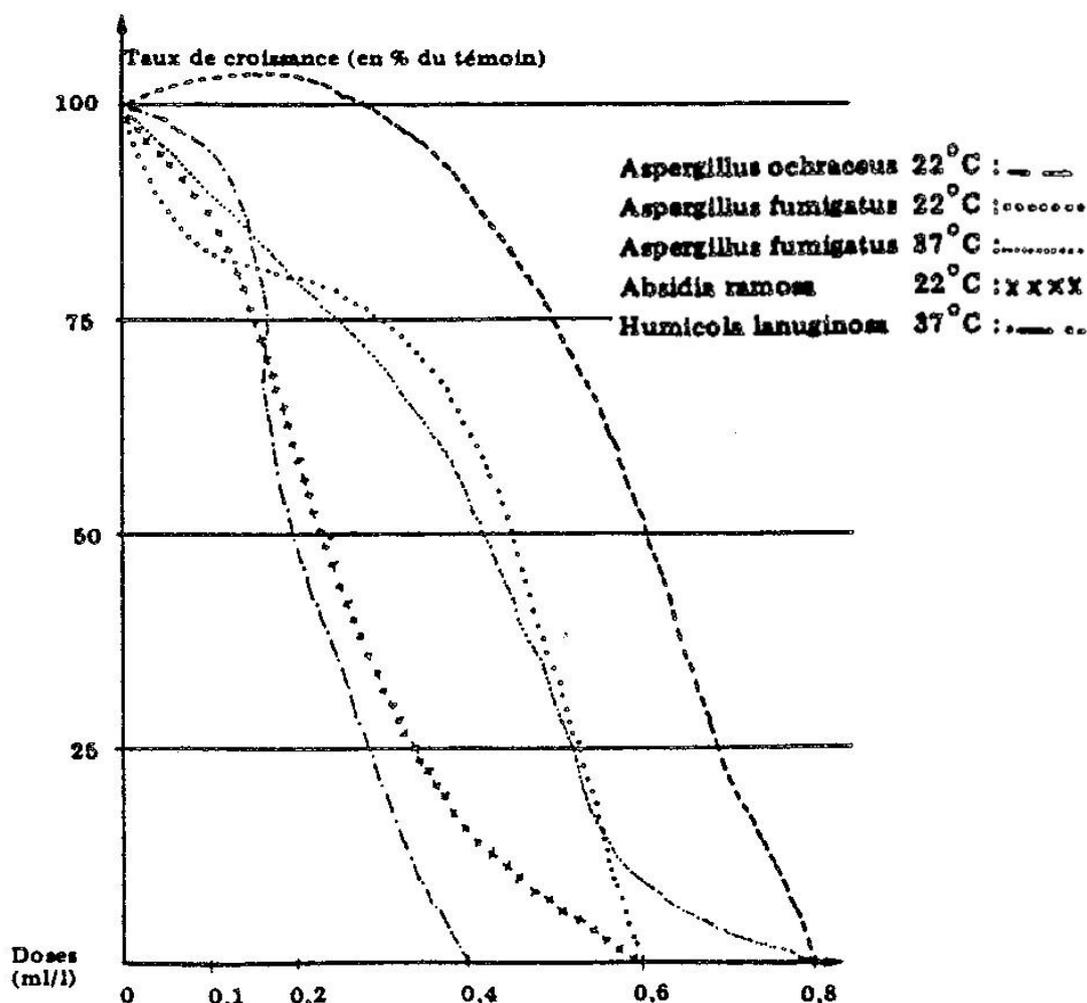
Les résultats des essais sont donnés par les figures 24 et 25. L'effet fongistatique de l'acide propionique augmente avec la dose incorporée au substrat ; l'inhibition totale des 4 espèces utilisées est effective à partir de 0,8 ml/l soit 0,8 ‰ ; l'*Aspergillus ochraceus* résiste le mieux et semble même capable de métaboliser l'acide propionique à faibles doses.

Figure 24 : Action inhibitrice du dipropionate d'ammonium sur quatre champignons du foin



A action inhibitrice égale, le dipropionate d'ammonium doit être employé à doses doubles de celles de l'acide propionique ; ce résultat correspond à l'hypothèse formulée par KLINNER et HOLDEN (1978), selon laquelle l'efficacité des propionates s'évaluerait en fonction de leur équivalent "acide propionique" (qui vaut 63 % pour le dipropionate d'ammonium).

Figure 25 : Action inhibitrice du PROPCORN sur quatre champignons du foin



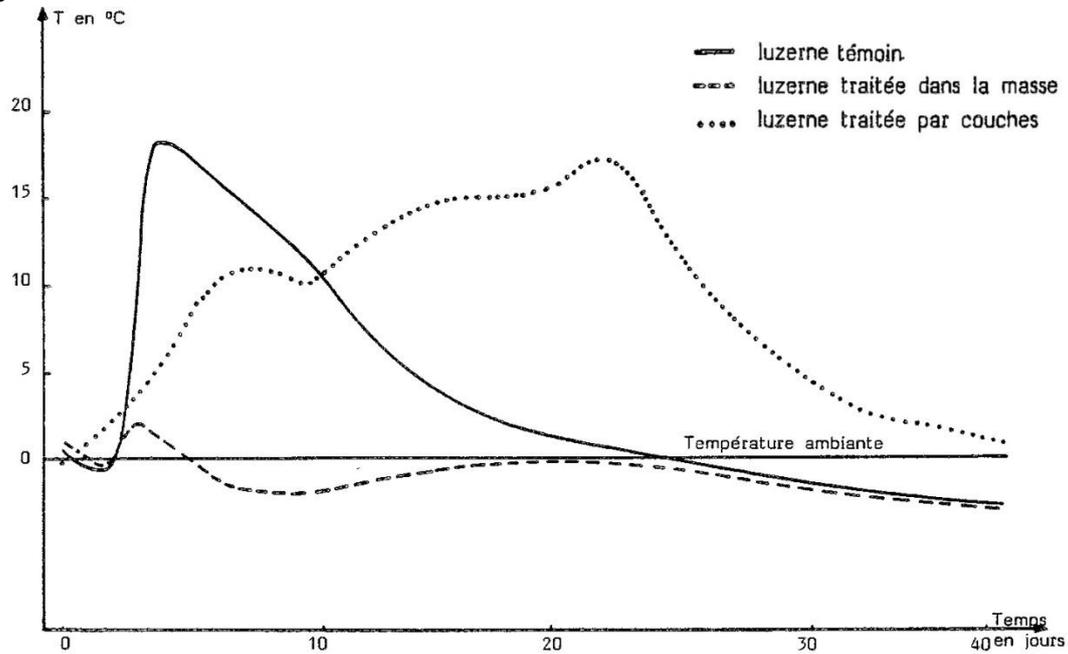
### 3.2.1.2. Sur foin en enceintes calorifugées à aération contrôlée

Trois lots de fourrage de luzerne réhumidifié à 71,4 % de M.S. ont été placés en enceintes calorifugées :

- fourrage témoin non traité ;
- fourrage traité de façon homogène avec 1 % d'acide propionique ;
- fourrage traité à 50 % en 4 couches, une couche non traitée alternant avec une couche traitée avec 1 % d'acide propionique.

Les courbes d'échauffement des 3 lots sont très différentes (figure 26) : la luzerne témoin, après une période de latence due à l'absence de respiration du végétal s'échauffe ensuite rapidement selon la courbe classique décrite précédemment ; la luzerne traitée par couches subit par contre un échauffement progressif qui atteint son maximum vers le 25ème jour, puis décline lentement ; la luzerne traitée dans la masse se maintient au voisinage de la température ambiante.

Figure 26 : Luzerne réhumidifiée traitée au PROPCORN - Ecart de température par rapport à la température ambiante



Les pertes de matière sèche de ces trois fourrages ont été respectivement de :

- 15,5 % pour le fourrage témoin,
- 2 % pour le fourrage traité de façon homogène,
- 17,6 % pour le fourrage traité à 50 %.

Les analyses mycologiques de deux des lots, luzerne non traitée et traitée dans la masse (tableau 32) corroborent les résultats précédents. La luzerne témoin est le siège d'un développement extrêmement abondant de moisissures caractéristiques du stockage, in comptables à la dilution  $10^{-4}$ , dont *Aspergillus versicolor*, *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*, *A. fumigatus* et *A. ochraceus*, les autres espèces étant faiblement représentées. En revanche, la luzerne traitée dans la masse est pauvre en espèces fongiques dont on note seulement une douzaine de thalles à la dilution  $10^{-2}$ . Ce sont essentiellement des *Aspergillus* du groupe *glaucus* (*Eurotium*) déjà connus pour leur thermorésistance, leur aptitude à se développer sur les milieux pauvres en eau libre et avec, comme nous l'avons montré, une résistance aux rayons gamma.

Tableau 32 : Analyses fongiques comparées de fourrages de luzerne témoin et traité par l'acide propionique au taux de 1 %, conservés en enceintes calorifugées à aération contrôlée

	LUZERNE NON TRAITEE	LUZERNE TRAITEE
MUCORALES		
<i>Absidia corymbifera</i>	++	
<i>Rhizomucor pusillus</i>	+	
HYPHOMYCETES		
<i>Aspergillus candidus</i>	+	
<i>A. flavus</i>	+	+
<i>A. fumigatus</i>	++	+
<i>A. niger</i>	+	
<i>A. ochraceus</i>	++	
<i>A. versicolor</i>	+++	+
<i>A. wentii</i>	+	
<i>Penicillium griseofulvum</i>	+	
<i>P. verrucosum var. cyclopium</i>	++	
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	+	
ASCOMYCETES		
<i>Chaetomium indicum</i>		+
<i>Chaetomium sp.</i>		+
<i>Emericella nidulans</i>	+	
<i>Eurotium amstelodami</i>		+
<i>E. chevalieri</i>	+	+
<i>E. herbariorum</i>	+	+

Ces résultats de laboratoire montrent donc un effet favorisant de l'acide propionique sur la conservation des fourrages, en limitant l'échauffement, les pertes de matière sèche et le développement des moisissures. Ils prouvent, en accord avec les conclusions de LORD, CAYLEY et LACEY (1981) qu'un traitement imparfait n'a pour effet que de provoquer un démarrage plus lent de l'échauffement sans en atténuer l'intensité; la pollution microbienne prendrait naissance dans les régions mal ou non traitées et s'étendrait progressivement aux zones correctement traitées, certains microorganismes tels les *Aspergillus* du groupe *glaucus* métabolisant peut-être une partie de l'acide propionique (LORD et LACEY, 1978), comme le suggèrent les pertes de MS légèrement supérieures à celles du témoin.

### 3.2.2. Essais en conditions réelles

#### 3.2.2.1. Matériels et méthodes

Les essais ont porté sur deux types de fourrage : ray-grass d'Italie et luzerne, récoltés à différents teneurs en MS, avec une presse à balles rondes délivrant des balles de largeur 1.65 m, de diamètre 1.60 m et de poids voisin de 500 kg.

L'incorporation de l'acide propionique a été effectuée pendant le pressage grâce à deux buses à fente placées au-dessus du pick-up, dirigées vers la base de la chambre de pressage, et pulvérisant l'acide sur la jonction entre l'andain et la balle en cours de formation.

Le dispositif expérimental suivant a été mis en place :  
Pour chaque type de fourrage

- un témoin ventilé unique,
- une balle traitée et une balle témoin pour chaque teneur en matière sèche.

Tous les lots ont été stockés sous abri pendant 6 mois.

### 3.2.2.2. Résultats

(cf. tableau 33)

Tableau 33 : Effets de l'acide propionique sur la conservation et la valeur nutritive de foins humides récoltés en balles rondes

Espèce végétale	Date de récolte	Acide propion. en l/t	COMPOSITION CHIMIQUE A LA RECOLTE				ECHAUFFEMENT		VALEUR NUTRITIVE APRES CONSERVATION			
			Teneur en MS en %	MAT en g/kg MS	Cendres en g/kg MS	Cellulose brute en g/kg MS	Tmax en C	$\Sigma \Delta t$ en C x jour	Pertes de MS en %	Glucides solubles en g/kg MS	Digestibilité de la MS en %	MAND g/kg MS
RAY-GRASS D'ITALIE		0	67.3 ± 3.7	93	72	243	70	2960	10.3	110	53.4	83
		15,4	68,0 ± 3,9	93	72	243	46	2130	7.0	162	60,5	53
	24 Mai	0	75.9 ± 2,9	93	72	243	5	2200	15.5	92	58,9	68
		6.8	76.8 ± 1,8	93	72	243	1	1140	5.7	145	60.4	53
		ventilé	65.0 ± 4,2	93	72	243		-	-	204	63,5	45
	3 Juin (1)	0	69,5 ± 1.5	69	71	275	42	1660	11.9	102	56,1	52
		15,8	68,9 ± 2.6	69	71	275		1100	4,9	149	56,5	50
	4 Juin (1)	0	77.1 ± 1,6	79	72	283	53	1186	9,0	129	55,3	48
		6.9	77,8 ± 2,1	79	72	283	45	300	8.2	168	56,6	44
	LUZERNE	4 Juin	0	61,8 ± 3.9	169	89	236	62	3170	11.1	15	50,9
16,1			62.9 ± 5,4	169	89	236	52	2700	9,8	28	51.7	98
5 Juin		0	67.8 ± 4,0	171	96	264	60	2700	10.4	20	51,6	92
		10.1	67,8 ± 4,0	173	96	264	47	2450	5.4	37	52.5	76
3 Juin		0	68,1 ± 3.9	161	96	279	53	1880	9,0	37	52,8	71
		4,2	68,3 ± 3,9	161	96	279	52	1880	12,5	24	52.2	78
4 juin	ventilé	58,0 ± 4,5	169	89	236	-	-	-	69	61,0	51	

(1) : Fauche 10 jours après la 1<sup>ère</sup> fauche

L'acide propionique a été appliqué à des doses comprises entre 4,8 et 16,1 l/t ; dans l'ensemble, l'adéquation prévue "dose - teneur en MS" a été respectée, sauf pour le lot de luzerne à 68,1 % de MS où la dose appliquée n'a été que de 4,8 l/t au lieu de 10-12 l/t selon le protocole prévu, en raison d'une mauvaise appréciation de l'état de siccité du fourrage.

La grande hétérogénéité de la teneur en MS des fourrages rendant imprécise la détermination directe des pertes de MS, celles-ci ont été calculées à partir des variations de teneurs en cendres.

Les variables ont été soumises à une analyse de corrélation par régression multiple, réalisée par les services "informatique" de la Société BP. La liaison la plus significative a été obtenue pour la valeur "Somme des écarts de température" dont la variation est expliquée à 93 % par 5 variables :

	CORRELATION PARTIELLE	F. CALCULE	SIGNIFICATION
Taux de cellulose	0.86	44.2	P<0.001

Taux d'humidité	0.82	30.7	P<0.001
Dose de conservateur	0.72	16.4	P<0.001
Taux de cendres	0.52	5.62	P<0.05
Espèce (-1 pour ray-grass +1 pour luzerne)	0.43	3.49	0.05<P<0.1

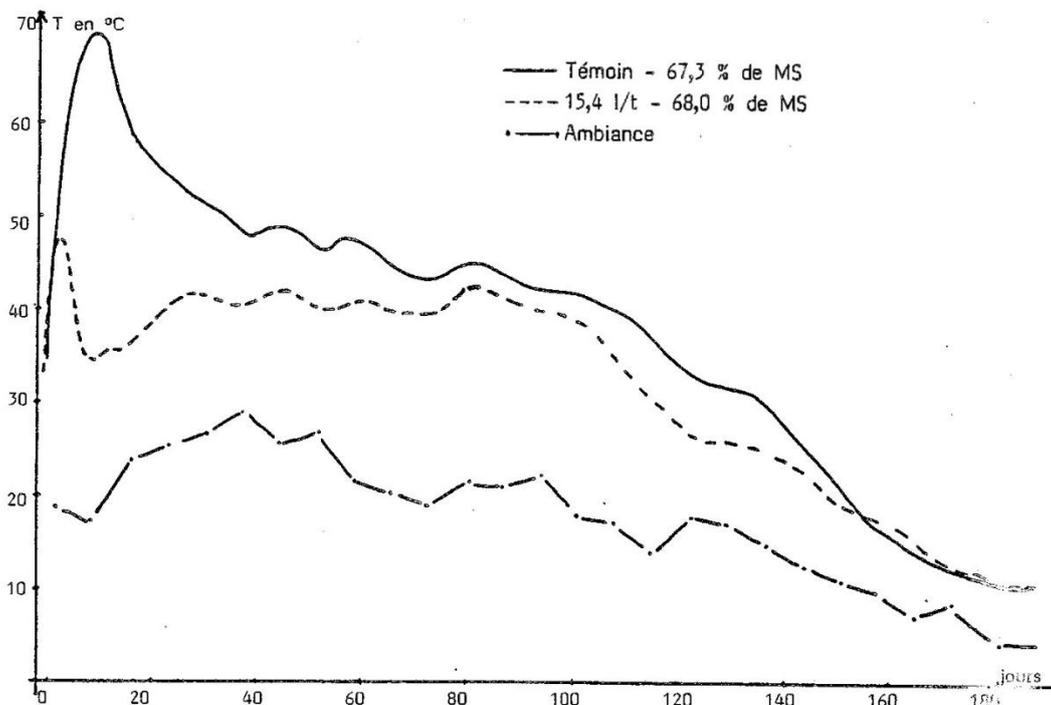
L'équation de prédiction est la suivante (coefficient de variation : 13,1 %) ;

Somme des écarts de température (en °C x jour) =  
 111 humidité + 74,9 cendres - 40 dose - 24,1 cellulose - 703 espèce - 1079  
 (%) (g/kg MS) (l/t) (g/kg MS) (- 1 ray-grass, + 1 luzerne)

Cette équation confirme le fait bien connu selon lequel le fourrage s'échauffe d'autant plus qu'il est humide et pauvre en cellulose brute ; l'échauffement semble augmenter avec le taux de cendres, mais la signification de cette variable cependant moins bien assurée.

L'acide propionique diminue l'échauffement, comme le montrent également les figures 27 et 28, mais il faut 111/40 : 2,81 d'acide pour compenser un point d'humidité. Si l'on tient compte de l'échauffement des balles témoins, les doses théoriques d'acide à appliquer pour éviter toute élévation de température seraient, par exemple, d'environ 70 l/t pour un ray-grass à 30-35 % d'humidité et de 40 l/t s'il est plus âgé (fauche 10 jours plus tard) et moins humide (25 à 30 % d'humidité). La limitation de l'échauffement du ray-grass est bien corrélée à la diminution des pertes de MS (6,5 % en moyenne pour les fourrages traités, contre 11,7 % pour les témoins), à la meilleure protection des glucides solubles (15,6 % contre 10,8 %) et des matières azotées digestibles (50 g de MAND contre 62,8 g). Par contre, le traitement n'a pratiquement pas eu d'effet améliorateur à ce niveau pour la luzerne.

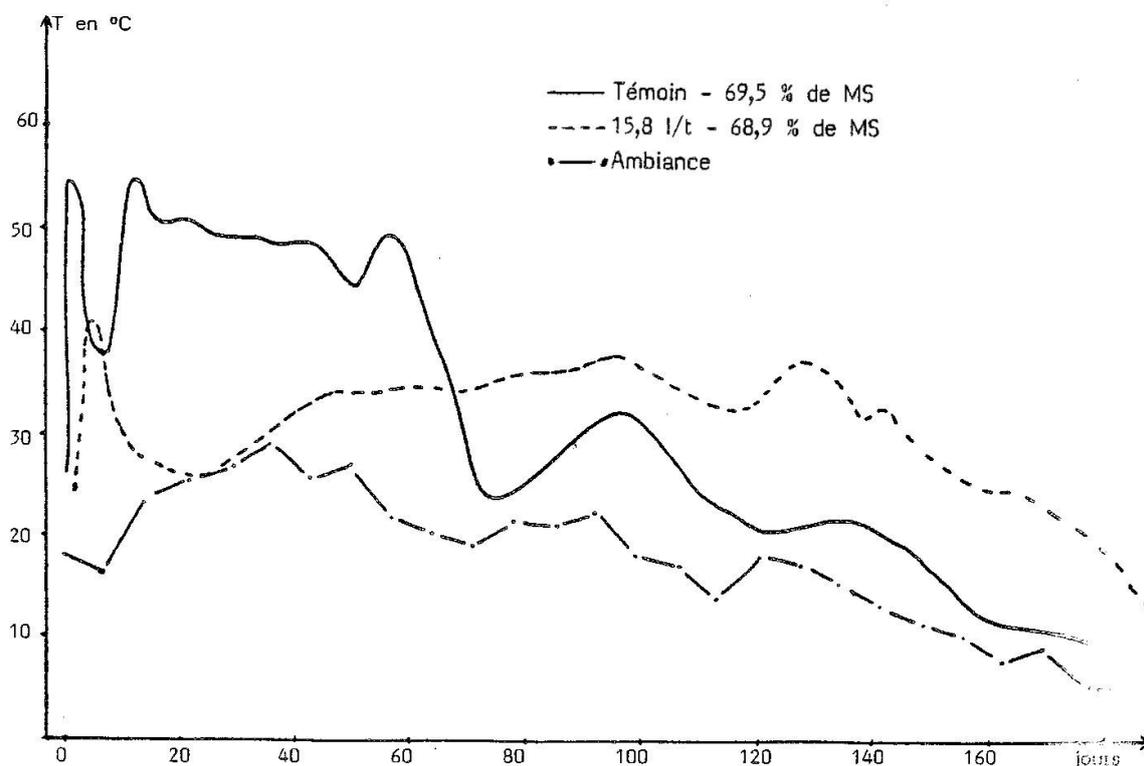
Figure 27 : Effets de l'acide propionique sur l'échauffement d'une balle ronde de ray-grass



La couleur brune des fourrages est d'autant plus accentuée après conservation que la teneur en MS à la récolte était faible ; des mesures de pH pratiquées sur quelques lots mettent en évidence des pH acides, pouvant descendre à 4,5-4,7 pour les fourrages traités et témoins de ray-grass.

Les pH des fourrages de luzerne sont en moyenne de 0,5 point supérieur à ceux du ray-grass.

Figure 28 : Effets de l'acide propionique sur l'échauffement d'une balle ronde de ray-grass



Tous les lots humides (témoins et traités) sont très pollués et ne présentent aucune zone exempte de moisissures (constatation faite à partir des émissions de spores à la manipulation). L'examen visuel ne permet pas de détecter à ce niveau une amélioration significative de la conservation, apportée par l'acide propionique.

### 3.2.2.3. Discussion

L'acide propionique n'a donc eu qu'un effet améliorateur limité sur la conservation du ray-grass, bien mis en évidence par le contrôle de l'échauffement et les analyses de valeur nutritive ; pour la luzerne, le bilan est encore plus décevant. Ces résultats confirment les conclusions de NICOULAUD (1975), de NASH et EASSON (1977), de DAVIES et WARBOYS (1978), relatives au caractère aléatoire du traitement.

Dans nos essais, l'acide propionique a été incorporé lors du pressage, réalisé avec une presse à balles rondes ; cette technique de traitement n'est pas la meilleure pour obtenir une bonne homogénéité d'incorporation de l'acide au fourrage ; celle-ci peut être effectivement améliorée par l'emploi de matériels particuliers (aérateurs de fourrage, andaineurs frontaux) expérimentés par les chercheurs du NIAE (CHARLICK et al., 1980) ; grâce à ces matériels l'acide est pulvérisé sur une couche plus mince de fourrage et les gouttelettes produites ont ainsi une probabilité plus grande d'entrer en contact avec le végétal.

Nous n'avons pas retenu cette solution pour deux raisons majeures : d'une part, elle n'est pas garante de l'efficacité du traitement, les résultats irréguliers du NIAE l'ont montré ; d'autre part, elle implique un investissement supplémentaire et une complication du chantier de récolte que les agriculteurs ne sont pas prêts à accepter pour la mise en œuvre d'une technique (les conservateurs) considérée comme une technique de secours pour les cas difficiles.

Les doses d'acide distribuées sur la presse, comprises dans nos essais entre 4,8 l/t et 16,1 l/t, ne correspondent pas aux doses d'acide effectivement introduites et retenues par le fourrage, en

raison des pertes intervenant lors de la pulvérisation puis en cours de conservation; ces pertes n'ont pas été mesurées lors de nos essais mais elles peuvent être considérables (85 % selon DAVIES et WARBOYS, 1978).

Le remplacement de l'acide propionique par le propionate ou le dipropionate d'ammonium, moins volatils mais aussi moins efficaces à dose égale, a été suggéré par KLINNER et HOLDEN (1978) pour réduire les pertes de matière active durant la conservation.

Toutefois, le problème majeur à régler reste celui de l'homogénéité de répartition. Les essais de LORD, CAYLEY et LACEY (1981) ainsi que nos propres essais de laboratoire, ont, en effet, bien montré que des poches de quelques grammes de fourrage non traité suffisaient pour initier le développement de moisissures et la contamination de zones correctement traitées.

Si le problème est simple à résoudre pour le traitement du maïs grain humide qui se présente schématiquement sous la forme de sphères indépendantes faciles à brasser, de densité voisine de 1 et de teneur en MS homogène, en revanche, les difficultés pour le foin semblent insurmontables en raison de ses caractéristiques physiques : le foin est léger (d compris entre 0,1 et 0,2), il présente une grande surface développée; sa structure et sa teneur en MS sont hétérogènes ; il est de surcroît difficile à déliter et à brasser.

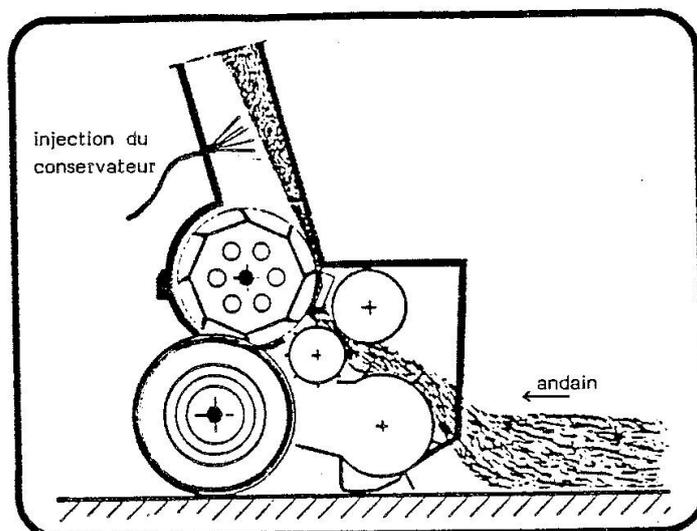
Arrivé à ce stade de l'étude, deux alternatives étaient offertes :

1. continuer les essais avec l'acide propionique et/ou les sels d'ammonium ;
2. opter pour un conservateur ne présentant pas les mêmes facilités d'emploi que les conservateurs liquides, mais permettant d'obtenir une bonne homogénéité de traitement.

Dans le cas du choix de l'alternative 1, deux techniques nous semblaient susceptibles d'améliorer l'efficacité du traitement : la première consiste à traiter le fourrage sur la presse de façon traditionnelle, mais ensuite à conserver le fourrage traité sous atmosphère confinée (meule bâchée), de manière à réduire les pertes de substance active lors de la conservation et à ajouter à l'action inhibitrice du conservateur l'effet de la réduction de la tension d'oxygène.

La seconde vise à diminuer l'hétérogénéité de l'application grâce à l'emploi d'un matériel de récolte que possèdent maintenant beaucoup d'agriculteurs : la récolteuse hacheuse chargeuse (ensileuse) qui pourrait être ici utilisée pour la récolte du foin. En effet, l'ensileuse est capable de transformer le foin des andains avec ses multiples défauts, en un matériau formé de brins de 2 à 3 cm, se prêtant physiquement bien au traitement, réalisé après le tambour hacheur (cf. figure 29) ou dans la vis de transfert si l'ensileuse en est munie.

Figure 29 : Traitement sur ensileuse (schéma de principe)



Ces deux techniques impliquent toutefois une complication du chantier de récolte difficilement acceptable par les agriculteurs; aussi, nous avons préféré choisir la deuxième alternative et nous tourner vers l'utilisation d'un produit gazeux à pression atmosphérique et température ambiante, qui peut donc normalement diffuser en tout point d'un volume de fourrage placé dans une enceinte étanche.

L'ammoniac anhydre a été retenu en raison de ses nombreux avantages évoqués dans l'étude bibliographique. Nous examinerons plus loin les résultats obtenus avec ce produit, après avoir fait le bilan d'autres essais menés parallèlement avec l'acide propionique, concernant les spécialités commerciales et le chlorure de sodium.

### 3.3. SPECIALITES COMMERCIALES

Nous avons rangé sous ce vocable, les produits de composition complexe (et souvent tenue secrète) préconisés et commercialisés pour la conservation des foins légèrement humides, moyennant l'emploi de doses relativement faibles (1 à 3 l/t) en regard de l'acide propionique.

Au cours de nos essais, nous avons pu mesurer l'efficacité réelle de 3 produits : le LITTOFOIN, le HAY MASTER 2000 et le HAY TREET.

#### 3.3.1. LITTOFOIN

Le LITTOFOIN est un produit liquide de densité voisine de 1.

Sa composition (en g/l) est la suivante :

Alcool isopropylique	171
Alcool propylique normal	24.5
Acide propionique	98
Acide benzoïque	1.4
Acide phosphorique	3.5
Propylène glycol	56.5
Aldéhyde cinnamique	0.7
Gallate de propyle	0.95
Butyl tertiaire hydroxyanisol	0,035
Vert brillant B.S.- ACE	0,060
Tartrazine ACE - Haute concentration	0,0130
Eau distillée	622,197
	-----
TOTAL	972,000 g/l

- Dose d'emploi recommandée: 1 à 1,5l/t, appliqué lors du pressage sur des fourrages n'excédant pas 30 % d'humidité.
- Spécialité commercialisée par la Société LA LITTORALE.

Les essais du LITTOFOIN réalisés en laboratoire et en conditions réelles ont donné lieu à une publication (ZWAENEPOEL et al., 1978) dont voici les principales conclusions :

#### *Essais de laboratoire sur milieux de culture*

Pour obtenir un effet inhibiteur identique à celui de l'acide propionique, en milieu gélosé, sur la croissance de thalles des espèces suivantes : *Aspergillus fumigatus*, *A. ochraceus*, *Absidia ramosa*, *Humicola lanuginosa*, le LITTOFOIN nécessite la mise en œuvre de doses dix fois plus importantes. Le rapprochement peut être fait avec la composition du produit, qui ne contient en fait qu'environ 10 % d'acide propionique (les alcools, du fait de leur volatilité n'ont certainement qu'une action antifongique fugitive).

#### *Essais en conditions réelles*

Appliqué lors du pressage à des doses comprises entre 1,4 et 2,2 l/t, le LITTOFOIN n'a eu aucun effet améliorateur sur l'échauffement, la qualité microbiologique, les pertes de MS et la valeur alimentaire de fourrages de ray-grass et de luzerne, récoltés en balles rondes à des teneurs en

MS comprises entre 68,6 % et 78,1 %. La température des fourrages traités peut atteindre près de 55°C ; leur mycoflore comme celle des témoins, comporte en grande partie des espèces de stockage (*Rhizomucor pusillus*, *Aspergillus fumigatus*, *Emericella nidulans*, *Eurotium chevalieri*, *Thermoascus crustaceus*, etc...) (tableau 34).

Tableau 34 : Analyses fongiques comparées de fourrages de luzerne et de ray-grass, témoins et traités par le LITTOFOIN

	LUZERNE		RAY-GRASS	
	TEMOIN MS : 70,3 % Tmax : 57°C	TRAITE (2l/t) MS : 70,9 % Tmax : 54,5°C	TEMOIN M5 : 78,1 % Tmax : 51°C	TRAITE (1,5l/t) MS : 75,5 % Tmax : 51,5°C
<b>MUCORALES</b>				
<i>Absidia corymbifera</i>	+			+
<i>Mucor circinelloides</i>			+	
<i>Rhizomucor pusillus</i>				+
<b>HYPHOMYCETES</b>				
<i>Aspergillus flavus</i>				+
<i>A. fumigatus</i>			+	+
<i>A. niger</i>	+		+	
<i>A. ochraceus</i>		+		
<i>A. terreus</i>				+
<i>A. versicolor</i>		+	+	
<i>Cladosporium</i> sp.		+		
<i>Penicillium chrysogenum</i>		+		
<i>P. corylophilum</i>	+			
<i>P. verrucosum</i> var. <i>cyclopium</i>				+
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	+	+		+
<b>ASCOMYCETES</b>				
<i>Chaetomium</i> sp.	+	+	+	
<i>Emericella nidulans</i>	+		+	+
<i>Eurotium chevalieri</i> var. <i>intermedius</i>	+	+		+
<i>Thermoascus crustaceus</i>	+	+		+
<b>LEVURES</b>				
<i>Bullera crocea</i>			+	
<i>Sporobolomyces roseus</i>	+		+	+

L'efficacité intrinsèque du LITTOFOIN est bien en cause car nous avons pu vérifier après coup au laboratoire que 3 l/t de LITTOFOIN uniformément répartis ne suffisaient pas pour empêcher la colonisation par les moisissures de fourrages à 74 % de MS.

### 3.3.2. HAY MASTER 2000

Le HAY MASTER 2000, commercialisé par AGIL LIMITED, est un produit liquide de densité voisine de 1, de composition non communiquée ; il est appliqué lors du pressage, à la dose de 1 à 2 l/t sur des fourrages contenant jusqu'à 30 % d'humidité.

Les essais ont été réalisés au laboratoire avec les enceintes calorifugées à aération contrôlée, à

partir d'un fourrage de prairie naturelle réhumidifié à 71% de MS ; le HAY MASTER 2000 a été ajouté à l'eau de réhumidification.

Les résultats de conservation obtenus sont donnés par le tableau 35 pour les 6 enceintes utilisées.

Dans les conditions idéales du laboratoire (répartition uniforme, sans pertes de substance active), le produit HAY MASTER 2000 n'a pas permis aux doses conseillées, de réduire significativement le développement de la microflore, l'échauffement et les pertes de MS ; ces dernières sont, en effet, de 12,7 % pour le fourrage traité à 2 l/t contre 15,1 % pour le témoin.

Compte tenu de ces premiers résultats de laboratoire, AGIL LIMITED a décidé de ne pas poursuivre l'étude du HAY MASTER 2000 par des essais en conditions réelles.

*Tableau 35 : effets du HAY MASTER 2000 sur la conservation en enceintes calorifugées et aérées d'un fourrage de prairie naturelle réhumidifiée à 71 % de MS (2 enceintes par traitement)*

MESURES	TRAITEMENT		HAY MASTER 2000 1 l/t		HAY MASTER 2000 2 l/t	
	TEMOIN					
Température maximales en °C	38	40	43	37	40	43
Pollution fongique	très moisi	très moisi	très moisi	très moisi	très moisi	très moisi
Pertes de MS en %	15,2	15,0	14.4	13.4	11,6	13.8
Pertes moyennes de MS en %	15,1 ± 0,1		13,9 ± 0,7		12,7 ± 1,6	

### 3.3.3. HAY TREET

#### 3.3.3.1. Caractéristiques

Le HAY TREET, commercialisé par KEMIN EUROPA, est un produit liquide de densité voisine de 1, de composition non communiquée. Il est appliqué lors du pressage, à la dose de 2 l/t, sur des fourrages contenant jusqu'à 25 % d'humidité.

A noter que KEMIN EUROPA a également commercialisé en France, grâce à une autorisation provisoire de vente, un produit conservateur pour foin humides, appelé HAY SAVOR ; la dose de traitement recommandée pour ce produit était de 1 l/ t, pour les légumineuses à 25 % d'humidité ou les graminées à 30 % d'humidité.

KEMIN EUROPA, jugeant superflus les essais de laboratoire, nous a demandé de soumettre directement le HAY TREET à des essais en conditions réelles.

#### 3.3.3.2. Essais en conditions réelles

##### 3.3.3.2.1. Matériels et méthodes

Deux essais ont dû être réalisés sur deux années consécutives, en raison de difficultés météorologiques.

Essai 1

La récolte a dû être précipitée au cours du fanage en raison de prévisions météorologiques défavorables, d'où un taux de M.S. légèrement inférieur au taux prévu de 75 %.

Trois lots d'un fourrage de luzerne de seconde coupe ont été récoltés en balles moyenne densité et stockés en tas, sous abri :

- 4,6 t de luzerne humide témoin à  $71,7 \pm 3,1$  % de MS
- 4,7 t de luzerne humide à  $71,8 \pm 3,6$  % de MS, traitée lors du pressage avec 2.2 l de HAY-TREET/t grâce à 2 buses à fente placées au-dessus du pick-up
- 3,4 t de luzerne séchée au sol, à  $76,9 \pm 2$  % de MS, récoltée 24 h après les deux premiers lots.

La conservation sous abri a duré environ 5 mois.

#### Essai 2

Trois lots d'un fourrage de luzerne de première coupe (50 % de boutons floraux) ont été récoltés en balles moyenne densité et stockés en tas sous abri :

- 2,83 t de luzerne humide témoin à  $78,2 \pm 3,8$  % de MS
- 2,98 t de luzerne humide à  $78,2 \pm 3,8$  % de MS, traitée avec 2,35 l/t de HAY TREET
- 1,68 t de luzerne séchée au sol, à  $86,4 \pm 0,8$  % de MS, récoltée 6 jours après les deux premiers lots en raison de plusieurs passages pluvieux.

Le bilan de la conservation a été effectué après 6 mois de stockage.

### 3.3.3.2. Résultats

#### Essai 1 (tableau 36)

Fort logiquement, l'échauffement a été plus marqué pour les deux lots humides avec, semble-t-il, une légère atténuation pour le lot traité par rapport au lot témoin ( $\Delta = 1,5^\circ\text{C}$  pour la température maximale et  $70^\circ\text{C} \times \text{jours}$  pour la somme des écarts de température avec l'ambiance).

Tableau 36 : Effets du HAY-TREET sur la conservation d'un fourrage de luzerne récolté à 71,8 % de M.S. (essai 1)

MESURES	TRAITEMENT	FOIN HUMIDE TEMOIN	FOIN HUMIDE TRAITE à 2,2 l/t	FOIN SECHE AU SOL
Taux de MS à la récolte en %		$71.7 \pm 3.1$	$71.8 \pm 3.6$	$76.9 \pm 2.0$
Température maximale en °C		47	45.5	30
Somme des écarts de température avec l'ambiance en °C × jour		372	302	196
Espèces présentes		contrôle microbiologique après conservation (nombre de germes par g de fourrage)		
<i>Absidia corymbifera</i>		$5 \times 10^4$	$4.5 \times 10^3$	$1.5 \times 10^3$
<i>Aspergillus flavus</i>		Traces		
<i>A. niger</i>		Traces		Traces
<i>Eurotium amstelodami</i>		$1.5 \times 10^7$	$7 \times 10^6$	$9 \times 10^6$
<i>Emericella nidulans</i>		$1.2 \times 10^5$	Traces	$3.5 \times 10^3$
Bactéries aérobies		$2.5 \times 10^7$	$1.2 \times 10^6$	$1.5 \times 10^7$

Tous les lots, moisés en masse, émettent des nuages de spores à la manipulation. Les espèces les plus représentées ont été déterminées : il s'agit essentiellement d'*Absidia corymbifera*, d'*Eurotium amstelodami* et d'*Emericella nidulans*, espèces de stockage précédemment rencontrées dans les foins échauffés.

Le produit conservateur HAY TREET appliqué à la dose de 2,2 l/t n'a pas permis de réduire significativement la dégradation microbienne et l'échauffement d'un fourrage de luzerne récolté à 71,8 % de MS. Au vu de ces résultats et considérant que le fourrage avait été récolté à un taux d'humidité trop important, KEMIN EUROPA a demandé de ne pas poursuivre les contrôles prévus sur ces lots de fourrage (pertes de MS, valeur alimentaire *in vivo*).

## Essai 2

\* Echauffement et pertes de MS (tableau 37)

Le fourrage traité s'est légèrement moins échauffé que le fourrage témoin : 37°C contre 40°C pour la température maximale, 140°C x jours contre 177°C x jours pour la somme des écarts de température avec l'ambiance. Cette différence ne paraît pas véritablement significative, d'autant plus que les pertes de MS durant le stockage sont très voisines entre les deux lots (7,5 % pour le fourrage traité contre 7,1 % pour le fourrage témoin).

Tableau 37 : Echauffement et bilan "matière sèche" après 6 mois de stockage des 3 lots de luzerne de l'essai 2 du produit conservateur HAY TREET

TRAITEMENT	LUZERNE HUMIDE TEMOIN	LUZERNE HUMIDE TRAITEE AVEC 2,35 l DE HAY TREET/t	LUZERNE SECHEE AU SOL
MESURES			
Taux de MS à la récolte en %	78.2 ± 3.8	78.2 ± 3.8	86.4 ± 0.8
Température maximale en °C	40	37	25
Somme des écarts de température avec l'ambiance en °C x jour	177	140	20
Quantité de MS récoltée en t	2.21 ± 0.11	2.33 ± 0.11	1.45 ± 0.01
Pertes de MS pendant le stockage en %	7.1	7.5	0
Quantité de MS finale en % du témoin humide	100 ± 5	105 ± 5	71 ± 3.5

La luzerne séchée au sol accuse un déficit de rendement en t de MS de l'ordre de 30 % par rapport aux lots humides, en raison d'un séjour supplémentaire de 6 jours sur la parcelle ; les pertes de MS, subies dans ce type de situation, ont plusieurs origines : la respiration du végétal, le lessivage des sucres solubles par la pluie, les pertes de folioles lors des opérations de fanage. Nous avons d'ailleurs pu constater que la luzerne séchée au sol ne comportait plus qu'un faible pourcentage de folioles.

\* Qualité microbiologique (tableau 38)

La répartition des espèces en deux entités (flore du champ - flore de stockage) fait bien apparaître les différences d'évolution floristique pendant la conservation entre les trois lots.

La flore du champ représentée surtout par *Alternaria tenuissima* et *Cladosporium cladosporioides* a pu se maintenir dans le lot séché au sol ; par contre, elle a notablement régressé sous l'effet de l'échauffement dans les lots humides où elle a surtout été remplacée par des *Aspergillus* du gr. *glaucus* thermotolérants et xérophiles, accompagnés d'*Absidia corymbifera* et d'actinomycètes, toujours suspects au plan pathologique ; les complexes floristiques comparables des deux lots humides, témoin et traité, ne permettent pas de conclure à un effet améliorateur du HAY TREET sur la conservation.

Tableau 38 : Qualité microbiologique après 6 mois de stockage des 3 lots de luzerne de l'essai 2 du produit conservateur HAY TREET (Nombre de germes/g)

TRAITEMENT	LUZERNE HUMIDE TEMOIN	LUZERNE HUMIDE TRAITÉE AVEC 2,35 l DE HAY TREET/t	LUZERNE SÈCHEE AU SOL
ESPECES PRESENTES			
FLORE DU CHAMP			
Alternaria tenuissima	+	+	$4 \times 10^4$
A. alternata	+	+	+
Epicoccum purpurascens	+	+	$1 \times 10^3$
Fusarium culmorum			+
Phoma sp.		+	+
Pleospora herbariorum	+	+	+
Penicillium raistrickii		+	
Actinomucor repens = elegans			+
Cladosporium cladosporioides (+ c. herbariorum)	+	$1.6 \times 10^3$	$2.3 \times 10^5$
Harzia acremonioïdes			+
Mucor circinelloïdes (g.c.)	$1.6 \times 10^2$	+	$7 \times 10^2$
M. hiemalis	$7 \times 10^2$	$3.4 \times 10^2$	$6 \times 10^2$
Papulaspora sp.			+
Rhizopus stolonifer	+	+	+
Levures	+	+	8
FLORE DE STOCKAGE			
Absidia corymbifera	$3 \times 10^5$	$7 \times 10^4$	$8 \times 10^3$
Aspergillus flavus	$5 \times 10^1$	$2 \times 10^2$	+
A. gr. glaucus (dont Eurotium amstelodami)	$1.7 \times 10^5$	$1.5 \times 10^6$	$8.7 \times 10^3$
A. niger	+	+	
A. ochraceus	+	+	
A. versicolor		+	+
Emericella nidulans	+	+	
Penicillium cyclopium	$1.4 \times 10^3$		+
P. chrysogenum	$5 \times 10^2$		+
P. glabrum	$5 \times 10^1$		+
P. stoloniferum			+
Scopulariopsis brevicaulis	+	+	+
Bactérie aérobies (dont Actinomycètes (A))	$5.3 \times 10^6$ (A)	$7.7 \times 10^6$ (A)	$1.2 \times 10^8$

#### Valeur alimentaire (tableau 39)

L'ingestibilité et la digestibilité de la Matière Sèche des deux lots humides sont respectivement de  $63,7 \pm 7,8$  g par kg de poids métabolique et de  $49,5 \pm 1,3$  % pour le témoin et de  $65,0 \pm 13,5$  g par kg de poids métabolique et de  $50,6 \pm 1,5$  % pour le lot traité, soit des valeurs qui ne diffèrent pas significativement. La valeur alimentaire de la luzerne n'a donc pas été améliorée par le HAY TREET.

Tableau 39 : Valeur alimentaire après 6 mois de stockage des 3 lots de luzerne de l'essai 2 du produit conservateur HAY TREET

TRAITEMENT	LUZERNE HUMIDE TEMOIN	LUZERNE HUMIDE TRAITEE AVEC 2,35 l DE HAY TREET/t	LUZERNE SECHEE AU SOL
MESURES			
<b>Composition chimique après stockage</b>			
Taux de MS en %	87.5	88.1	88.7
Matières minérales (en % de la MS)	8.0	8.0	7.0
Matière Azotée Totale (en % de la MS)	15.3	14.3	13.5
Cellulose brute (en % de la MS)	39.7	40.2	41.0
<b>Quantités de MS ingérées</b> (g de MS/kg P <sup>0,75</sup> )	63.7 ± 7.8	65.0 ± 13.5	57.1 ± 7.4
<b>Digestibilité en %</b>			
Matière Sèche (MS)	49.5 ± 1.3	50.6 ± 1.5	44.1 ± 1.9
Matière Organique (MO)	49.2	50.9	45.4
Matière Azotée Totale (MAT)	66.0	63.0	52.3
Cellulose brute (CB)	38.3	41.7	34.1
<b>Teneur en matières azotées non digestibles</b> (g/kg Ms)	52	53	64

Le foin séché au sol se distingue nettement des deux autres lots par une ingestibilité plus faible (- 11 %) et une digestibilité également réduite (- 12 %) qui s'expliquent par les pertes d'éléments nutritifs évoquées au paragraphe précédent. Ce fait, conjugué avec les pertes de MS supplémentaires subies pendant le fanage (+ 30 %) montre l'intérêt de précipiter parfois la récolte.

Remarquons au passage que la connaissance de la qualité microbiologique des fourrages ne permet pas de prédire leur ingestibilité par les animaux.

### 3.3.3.2.3. Conclusion

Le produit HAY TREET appliqué à la dose de 2,35 l/t n'a pas permis d'améliorer la conservation d'un fourrage de luzerne récolté à 78,2 ± 3,8 % de MS ; à l'issue de la conservation, l'échauffement, les pertes de MS, la qualité microbiologique et la valeur alimentaire du fourrage traité, se sont révélés comparables en tous points à ceux du fourrage témoin.

Ces résultats, confirmés par ceux de l'essai 1, permettent de conclure à l'inefficacité du HAY TREET dans les conditions d'emploi préconisées

### 3.3.4. Discussion et conclusion générale sur les spécialités commerciales

Toutes les spécialités commerciales expérimentées (LITTOFOIN, HAY MASTER 2000, HAY TREET) se sont révélées inefficaces dans les conditions d'emploi préconisées, ne parvenant pas à empêcher la dégradation par la microflore de foins récoltés légèrement humides. JOHNSON et Mc CORMICK (1976) étaient arrivés à une conclusion analogue avec la spécialité HAY SAVOR appliquée à environ 1,5 kg/t sur des fourrages récoltés à 76 % et 84 % de MS. Les essais de LACEY et al. (1978) à partir d'autres spécialités commerciales s'étaient également soldés par des résultats médiocres.

L'inefficacité des spécialités commerciales peut s'expliquer par les difficultés d'incorporation homogène de ces produits se présentant sous forme liquide, difficultés analogues à celles

rencontrées avec l'acide propionique, et également par l'insuffisance des doses recommandées.

Pour faire le parallèle avec l'acide propionique, rappelons en effet, qu'il faut utiliser 1,25 part d'acide uniformément réparti pour 100 parts d'eau (ce qui correspond à 3,75 l/t de fourrage à 70 % de MS) pour obtenir une conservation satisfaisante (LACEY et LORD, 1977). Il était donc nécessaire que la formulation de ces spécialités, d'emploi préconisé à 2 l/t, soit suffisamment élaborée pour obtenir par la qualité et la synergie de leurs constituants, un résultat équivalent à celui de l'acide propionique; les vérifications faites n'ont pas confirmé cette hypothèse.

### 3.4. CHLORURE DE SODIUM

Compte tenu de l'intérêt manifesté encore aujourd'hui par de nombreux agriculteurs pour le salage des foins humides, nous avons décidé de reprendre au laboratoire les essais de DE SOLAGES (1928) et de STUART et JAMES (1931), en liaison avec la Compagnie des Salins du Midi et des Salines de l'Est.

Pour cette étude, un fourrage de luzerne à 68,7 % de MS a été disposé dans des flacons de 2 l selon le dispositif expérimental suivant :

- Fourrage témoin
- Fourrage salé à 1 %, incorporation homogène
- Fourrage salé à 1 %, incorporation par couche (4 couches de 4 cm)
- Fourrage salé à 1 %, incorporation homogène
- Fourrage salé à 3 %, incorporation par couche (4 couches de 4 cm)
- Fourrage salé à 10 %, incorporation par couche (4 couches de 4 cm)

Une expérience analogue a été réalisée avec un fourrage de luzerne à 71,7 % de MS, placée dans des enceintes calorifugées à aération contrôlée (l'épaisseur des couches était dans ce cas de 10 cm).

Les résultats des deux essais sont portés dans les tableaux 40 et 41.

*Tableau 40 : Effets du salage sur la conservation en flacons de 2 l d'un fourrage de luzerne à 68,7 % de MS*

TRAITEMENT MESURES	TEMOIN	1 % homogène	1 % couche	3 % homogène	3 % couche	10 % couche
Pollution fongique	Très moisi	Très moisi	Très moisi	Moisi	Moisi	Visuellement sain
Pertes de MS en %	21.6 ± 2.9	21.3 ± 1.0	20.1 ± 3.2	11.2 ± 2.0	12.9 ± 3.0	3.4 ± 0.9

*Tableau 41 : Effets du salage sur la conservation en enceintes calorifugées et aérées d'un fourrage de luzerne à 71,2 % de MS (température ambiante : 24°C)*

TRAITEMENT MESURES	TEMOIN	1 % homogène	1 % couche	3 % homogène	3 % couche	10 % couche
Température Maximale en °C	43	37	38	28	26	24
Pollution fongique	Très moisi	Très moisi	Très moisi	Moisi	Moisi	Légèrement moisi
Pertes de MS en %	22.9	21.9	21.9	5.2	4.1	1.4

Dans les deux essais, réalisés avec des luzernes à 68,7 % et 71,7 % de MS, le salage à 1 % s'est avéré totalement inefficace, le fourrage salé subissant des pertes de MS identiques à celles du fourrage témoin, soit plus de 20 % de la matière sèche initiale.

Le salage à 3 % a eu un effet bénéfique sur les pertes de MS mais ne les a pas éliminées

totallement : environ 12 % pour le fourrage le plus humide et 4-5 % pour le fourrage à 71,7 % de MS ; tous les fourrages salés à 3 % étaient, en outre, moisissés en masse et dégageaient des nuages de spores à la manipulation.

Le salage massif à 10 % est parvenu à inhiber la microflore, hormis peut-être quelques moisissures osmophiles, suspectées d'être à l'origine d'une légère odeur de moisi.

Les mauvais résultats obtenus au laboratoire, avec les doses 1-3 % préconisées à l'époque par DE SOLAGES et pourtant appliquées, dans notre cas, de façon homogène ou sur des couches de fourrage ne dépassant pas 10 cm d'épaisseur, confirment les essais réalisés par STUART et JAMES en 1931. La transposition des essais de laboratoire en conditions réelles ne pourrait qu'aggraver l'inefficacité du salage, en raison de difficultés inévitables de répartition du sel pendant le pressage ou le stockage du fourrage.

L'inefficacité du salage des foin s'explique aisément si l'on se réfère aux mécanismes d'action du sel dans la conservation des aliments :

- par pression osmotique : placées dans des solutions fortement concentrées (saumures), les cellules microbiennes se plasmolysent, leur métabolisme s'arrête, quand elles ne meurent pas (BOTTON et al., 1985) ;
- par abaissement du potentiel hydrique du milieu (LUECK, 1980).

Dans le cas présent, le sel agit essentiellement en captant en partie l'eau du fourrage et en abaissant son potentiel hydrique, ce qui a pour effet d'installer dans le fourrage salé des conditions moins favorables au développement des microorganismes. L'abaissement du potentiel hydrique croît avec la dose de sel ajoutée, mais dans des proportions limitées puisque la valeur  $a_w$  d'une solution saturée (36 g de sel/100 g d'eau) est de l'ordre de 0.75, soit un niveau qui permet encore la croissance de nombreux microorganismes et en particulier des moisissures.

Il serait, d'autre part, dangereux dans le cas des foin, d'augmenter inconsidérément le salage en raison de risques d'accidents sanitaires ; l'excès de sel provoque, en effet, des accidents rénaux, favorise l'apparition d'œdèmes et entraîne une déminéralisation. Les doses mortelles de sel sont, pour des animaux adultes, de 1 kg pour le cheval, de 2 kg pour les bovins et de 250 g pour les ovins (CLEMENT et al., 1981).

En cas de distribution prolongée de fourrages salés, par exemple à des vaches laitières, la quantité de sel ingérée journalièrement ne devrait pas dépasser 100 g pour éviter de porter atteinte aux performances de production (LAMAND, INRA, 1986, communication personnelle). Si les fourrages salés sont distribués en ration de base, le taux de salage ne devrait donc pas dépasser 1 % par kg de MS, soit un niveau insuffisant pour agir sur la conservation.

Aussi, faut-il considérer aujourd'hui le salage comme un moyen d'améliorer l'appétence de mauvais foin, et non comme une technique véritable de conservation des foin humides.

## **3.5. AMMONIAC**

### **3.5.1. Essais de laboratoire sur foin en enceintes calorifugées à aération contrôlée**

L'ammoniac gazeux a été introduit dans les enceintes, en circuit fermé afin d'éviter toute perte. Au cours d'essais préalables, il avait été constaté que de faibles doses d'ammoniac (0,5 à 1 %) ne se répartissaient pas de manière homogène dans le fourrage humide, en raison de la contrepression due à l'air présent dans les enceintes (ralentissement de la vitesse de diffusion et fixation préférentielle de l'ammoniac près du point d'injection).

Ce problème a été résolu en évacuant avec une pompe à vide la majeure partie de l'air des

enceintes, avant l'injection (pression absolue : 60 mm Hg).

Après le traitement, les enceintes ont été hermétiquement fermées et laissées en l'état pendant 24 h ; branchées sur le circuit d'aération, elles ont ensuite été parcourues par un débit d'air continu de 12 l/h. La conservation a duré de 2 à 3 semaines selon l'importance de l'échauffement.

Les résultats des essais effectués sur plusieurs lots de fourrage sont rapportés dans le tableau 42.

*Tableau 42 : Effets de l'ammoniac sur la conservation de différents fourrages humides en enceintes calorifugées à aération contrôlée*

NATURE DU FOURRAGE	TAUX INITIAL DE M.S. EN %	DOSE D'AMMONIAC EN % DU POIDS BRUT	TEMPERATURE MAXI EN °C	PERTES DE M5 EN % DE LA M.S. INITIALE	EXAMEN VISUEL DU FOURRAGE
Fétuque	76.9	0	30 ± 1.6	8.25 ± 0.18	moisi en masse
		0.45	21 ± 0.3	0.65 ± 0.19	bonne conservation couleur jaune
Fourrage mixte (fétuque + agrostis + ray-grass)	74.9	0	32.8 ± 1.3	13.67 ± 2.3	moisi en masse
		0.46	28.5	10.6	moisi en partie haute
		0.79	21.5 ± 0.2	1.31 ± 0.20	bonne conservation couleur jaune
	71.8	0	35.1 ± 5.3	14.86 ± 0.06	moisi en masse
		1.38	21.3 ± 0.6	2.52 ± 2.2	bonne conservation couleur jaune
	70.7	0	36	15.98	moisi en masse
1.03		20.5	0.6	bonne conservation couleur jaune	
Fétuque	49.7	0	36.3 ± 0.1	29.1 ± 7.9	moisi en masse
		1.15	23.2 ± 3.0	3.66 ± 0.9	moisi par zones
		2.26	20.9 ± 0.6	0.17 ± 0.17	Bonne conservation couleur brune

Les pertes de matière sèche des fourrages témoins augmentent à mesure que la teneur en matière sèche diminue (8,25 ± 0,18 % de pertes à 76,9 % de MS contre 29,1 ± 7,9 % à 49,7 % de MS).

L'équation de régression linéaire entre les pertes P et la teneur en MS est la suivante :

$$P = 63,8 - 0,69 MS \quad r = 0,98$$

(en %) (en %)

ou en fonction de l'humidité H du fourrage :

$$P = 0,69 H - 5,1$$

(en %) (en %)

L'ammoniac améliore très nettement la conservation, en réduisant l'échauffement et les pertes de MS.

P, MS et la dose d'ammoniac D exprimée en % du poids brut de fourrage sont liés par l'équation suivante, obtenue par régression multiple (programme INRA) :

$$P = 50,3 \pm 4,3 - (0,511 \pm 0,13) MS - (12,0 \pm 2,0) D \quad \text{Coefficient de corrélation} = 0,90$$

D'après cette équation, l'apport de 1% d'ammoniac permet théoriquement de réduire les pertes de

matière sèche de 12 %.

Concrètement, dans nos conditions d'essais, caractérisées par une bonne homogénéité d'incorporation et l'absence de pertes de substance active à l'application, les doses d'ammoniac à employer seraient de l'ordre de 1 à 1,5 % pour des fourrages à 65-75 % de MS et de 1,5-2 % pour des fourrages plus humides.

### 3.5.2. Essais en conditions réelles

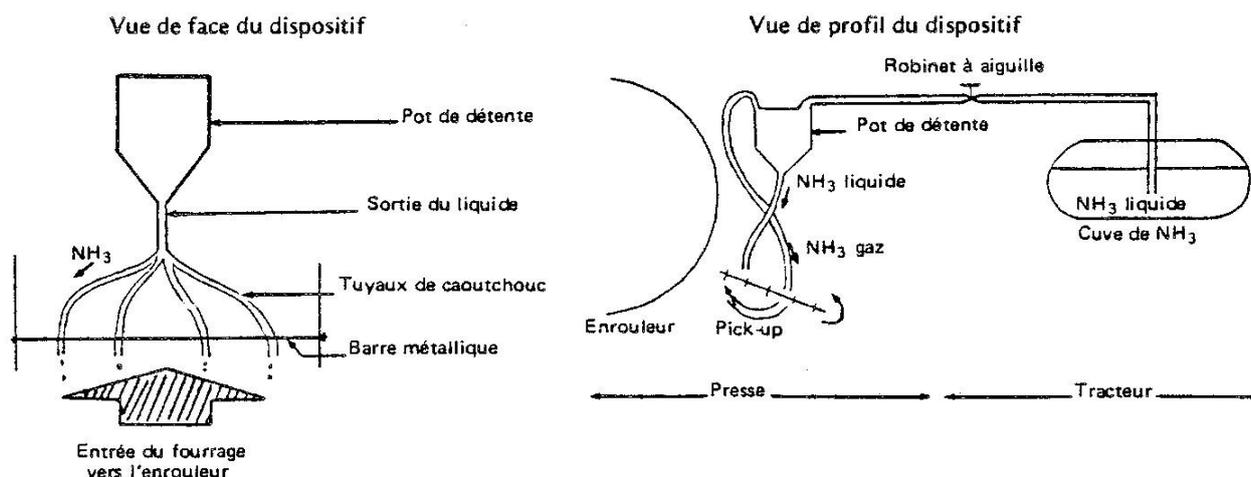
L'homogénéité de répartition du conservateur au fourrage jouant un rôle essentiel dans la réussite du traitement, nous avons cherché dans un premier temps, à obtenir en conditions réelles, avec l'ammoniac, une qualité de répartition équivalente à celle des essais de laboratoire; deux techniques de traitement ont donc été expérimentées préliminairement :

- le traitement lors du pressage,
- le traitement sous vide en cuve étanche.

#### 3.5.2.1. Traitement lors du pressage

Le matériel d'incorporation était composé d'une cuve d'ammoniac placée à l'avant du tracteur, d'un robinet à aiguille pour le réglage du débit, d'un pot de détente et de 5 tuyaux amenant l'ammoniac sur le pick-up de la presse à balles rondes (figure 30).

Figure 30 : Dispositif d'incorporation d'ammoniac sur la presse

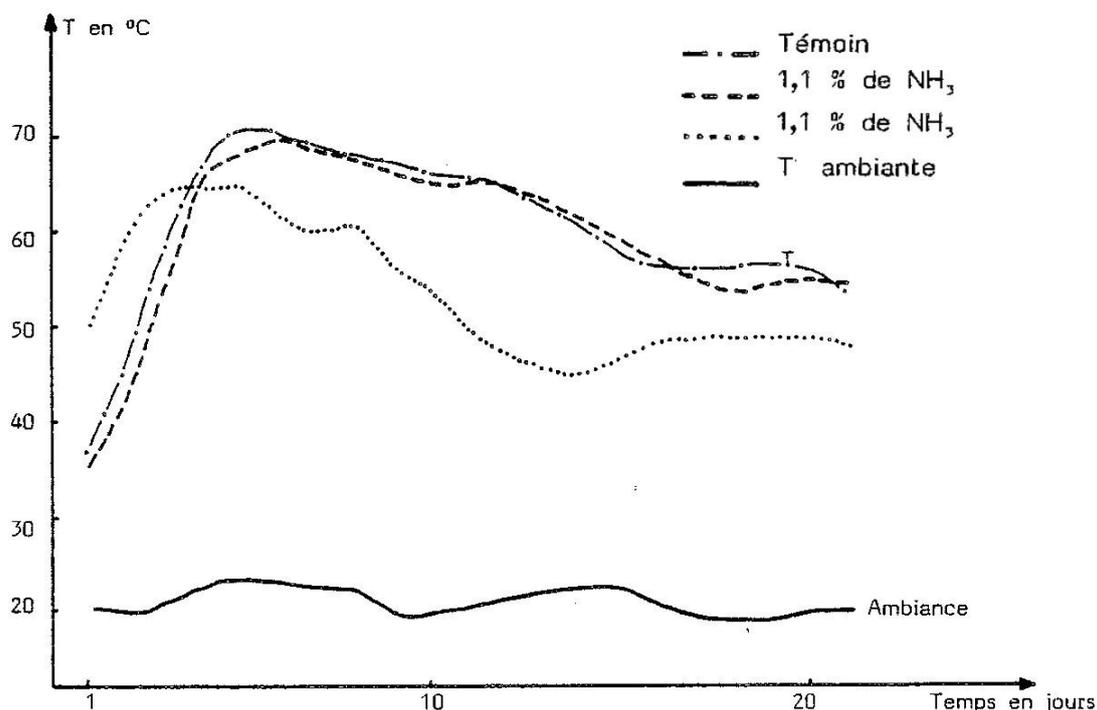


Le pot de détente sert à briser le jet d'ammoniac liquide et gazeux provenant de la décompression de l'ammoniac liquéfié à la sortie du robinet à aiguille ; la partie liquide s'écoule par gravité, à la base du pot de détente, tandis que la majeure partie du gaz est récupérée par un tuyau à son sommet. L'ammoniac liquide a été réparti sur le fourrage introduit dans la presse par 4 tuyaux fixés à intervalles réguliers au-dessus du pick-up ; l'ammoniac gazeux a été dirigé sous le pick-up grâce au cinquième tuyau, de telle sorte qu'il pénètre dans le fourrage en s'élevant (densité par rapport à l'air = 0,557).

Le chantier s'est avéré très pénible à la fois pendant le pressage en raison de la fixation incomplète de l'ammoniac sur le fourrage et surtout lors du ficelage, quand la machine est à l'arrêt et que l'ammoniac liquide restant dans les tuyaux finit de se vaporiser ; le port du masque devient alors indispensable pour le conducteur.

Au vu de ces conditions, l'expérience a tourné court et seulement trois balles ont été réalisées avec un fourrage de fétuque à  $63 \pm 3,4$  % de MS : une balle témoin et deux balles traitées à 1.1 % d'ammoniac, chacune des balles pesant en moyenne 240 kg. Les balles ont été stockées sous abri en aérobiose. Les températures relevées pendant le stockage sont données par la figure 31.

Figure 31 : Evolution de la température de balles rondes de foin humide (63 % de MS) traitées à l'ammoniac lors du pressage et conservées en aérobiose



Les échauffements des lots, d'allure comparable (T.max compris entre 64 et 70°C), accompagnés de développements fongiques très importants montrent que l'ammoniac n'a pas eu l'effet conservateur recherché dans les conditions de traitement et de stockage des essais. Deux facteurs peuvent expliquer cet échec : la quantité insuffisante d'ammoniac retenue par le fourrage (dose apportée trop faible + pertes pendant le traitement) et le stockage en aérobiose qui a déjà été à l'origine d'essais infructueux cités par KUNTZEL, LESHEM, PAHLOW (1980) et KOEGEL, STRAUB, SHINNERS (1985).

Compte tenu des conditions difficiles de chantier évoquées précédemment et des résultats totalement négatifs obtenus, nous n'avons pas jugé utile de soumettre les fourrages à des analyses biochimiques, ni de procéder à une nouvelle expérimentation de cette technique de traitement.

### 3.5.2.2. Traitement sous vide en cuve étanche

Le but de cette expérience était d'évaluer la possibilité de transposer à plus grande échelle les essais de laboratoire en enceintes calorifugées à aération contrôlée dans lesquels le traitement était précédé d'une mise en dépression destinée à améliorer l'homogénéité d'incorporation.

Dans le cas présent, le traitement a été réalisé dans une cuve cylindrique de 1 m de diamètre et 1,5 m de haut conçue pour supporter un vide poussé, selon le cycle d'opérations suivant :

- introduction de la balle dans la cuve,
- fermeture du couvercle par boulonnage,
- aspiration pendant 10 mn de l'air contenu dans la cuve (jusqu'à  $P_{\text{abs}} = 150$  mm Hg)
- introduction en 3 mn de la dose voulue d'ammoniac,
- sortie et stockage de la balle traitée.

A partir d'un fourrage de fétuque pressé à  $73,7 \pm 4,2$  % de MS en petites balles rondes de poids moyen 85 kg, le dispositif expérimental suivant a été mis en place, sous abri, en aérobiose :

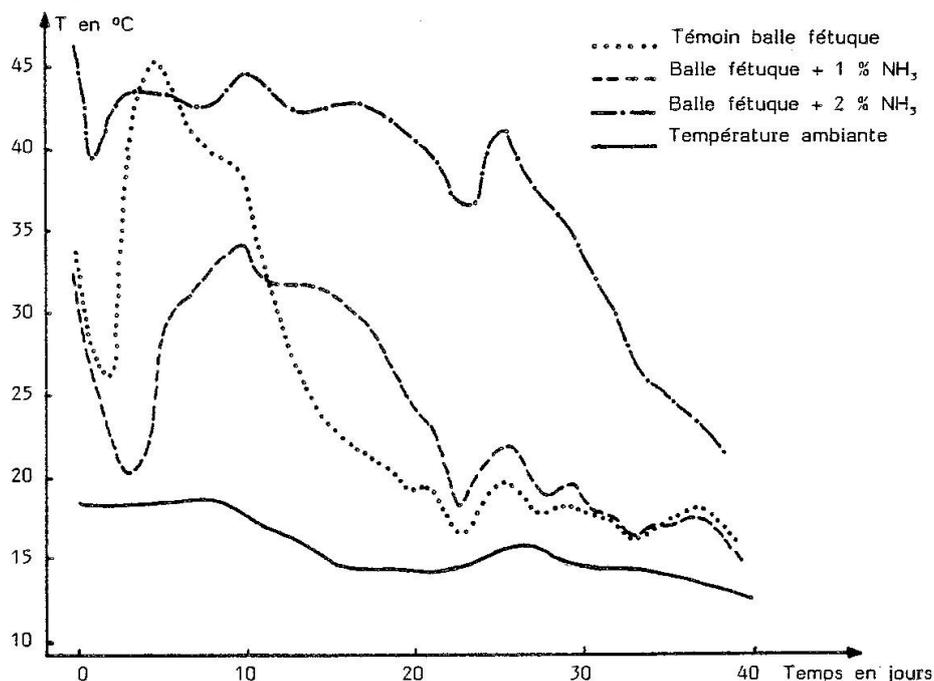
- une balle témoin,

- une balle traitée à 1 % d'ammoniac,
- une balle traitée à 2 % d'ammoniac.

Là encore, les conditions de traitement ont été très difficiles. Au sortir de la cuve, le fourrage a légèrement jauni sous l'effet du traitement ; sa température s'est élevée à plus de 60°C.

Les températures des balles lors du stockage données par la figure 32 montrent que l'ammoniac n'a pas eu d'effet conservateur, comme le confirme également la pollution fongique généralisée de l'ensemble des lots ; la balle traitée à 2 % a même été le siège d'un échauffement plus marqué que la balle témoin.

Figure 32 : Evolution de la température de balles rondes de foin humide (73,7 % de MS) traitées à l'ammoniac, en cuve étanche et conservées en aérobiose



Les conclusions sont donc identiques à celles de l'essai précédent, malgré des conditions plus favorables tenant à un taux de MS plus élevé (73,7 contre 63 %) et un apport plus important d'ammoniac (2 % pour l'une des balles de cet essai contre moins de 1.1 % pour l'essai précédent).

Compte tenu des bons résultats obtenus au laboratoire avec 2 % d'ammoniac, 24 h de confinement et renouvellement lent de l'atmosphère interne du fourrage (une fois toutes les 2 h), il faut donc conclure comme KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW (1980) et KOEGEL, STRAUB et SHINNERS (1985), à l'inefficacité du traitement et du stockage intégral en aérobiose des fourrages ammoniés ; cette conclusion nous a amené pour la suite de nos essais, à utiliser la technique de traitement sous bâche par fumigation, dans laquelle la durée de maintien des fourrages sous atmosphère ammoniacale peut être ajustée à volonté.

### 3.5.2.3. Traitement sous bâche

#### 3.5.2.3.1. Effets de la dose d'ammoniac et de la teneur en matière sèche sur la qualité de conservation et la valeur alimentaire du foin

##### 3.5.2.3.1.1. Matériels et méthodes

Un fourrage de ray-grass italien (Tiara Barbara) de deuxième coupe a été récolté après séchage

partiel au champ, à l'aide d'une presse à balles rondes confectionnant des balles de 0,90 m de large et 1,20 m de diamètre. Trois lots de fourrage d'humidités respectives 23 %, 29,3 % et 34 % ont été réalisés.

Immédiatement après le pressage, chacune des balles a été placée dans un sac de polyéthylène noir de 150 microns d'épaisseur; hormis une balle témoin par lot, toutes les balles ont ensuite été traitées à l'ammoniac anhydre, la dose appliquée variant de 1 à 4 % du poids brut ; l'ammoniac a été introduit au moyen d'une sonde métallique perforée, enfoncée dans l'axe des balles ; les pertes d'ammoniac ont été évitées en resserrant fortement le film de polyéthylène sur la sonde pendant l'injection. L'utilisation d'un robinet-débitmètre a permis d'obtenir les doses d'ammoniac désirées en ajustant la durée d'injection ; à noter que pour les doses les plus importantes (3 et 4 %), des interruptions de plusieurs minutes ont dû être observées pour éviter l'éclatement des sacs.

Après le traitement, les sacs ont été refermés au moyen d'un double lien et placés à l'extérieur, sur un seul niveau. Au bout de 7 semaines, les balles ont été sorties des sacs et placées à l'air libre sous abri, afin de contrôler la stabilité du fourrage humide traité et témoin, en condition aérobie. La conservation a duré 2,5 mois, jusqu'au retour progressif de toutes les températures au niveau de la température ambiante.

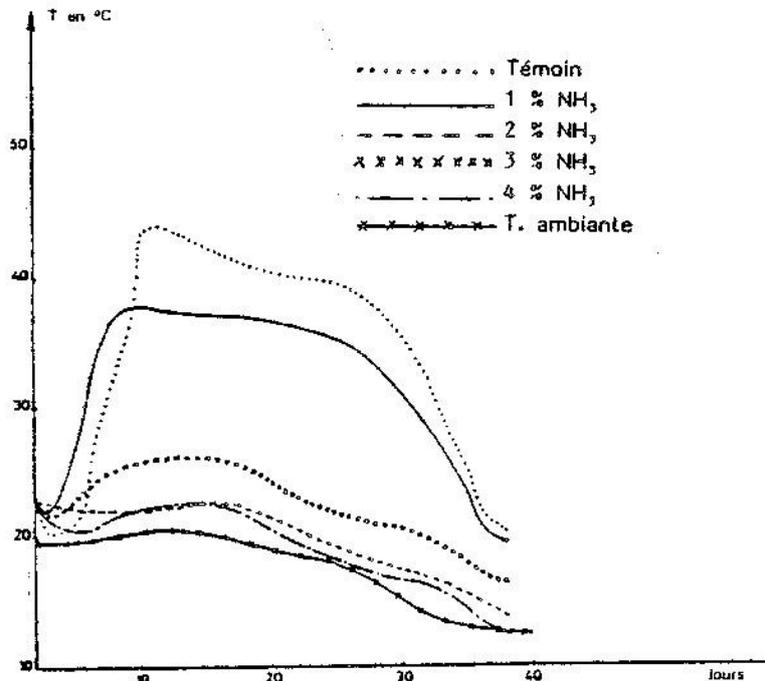
### 3.5.2.3.1.2. Résultats

#### *Echauffement et pertes de matière sèche*

A l'ouverture des sacs, les balles témoins étaient recouvertes d'un feutrage de moisissures blanches. Les balles traitées par contre, de couleur uniformément brune, ne présentaient pas de développements visibles de moisissures ; certains sacs contenaient, en partie basse, des jus résultant de phénomènes de condensation.

La température interne des balles durant la conservation aérobie est donnée par les figures 33, 34 et 35.

Figure 33 : Courbes de température des balles témoin et traitées (humidité =23 %)



Dès la mise en aérobose, les balles témoins ont été le siège d'un échauffement d'autant plus accentué que le fourrage était humide ; un échauffement a été également constaté au sein de la plupart des balles traitées, traduisant un effet inhibiteur insuffisant de l'ammoniac sur les

microorganismes et la faculté de certains d'entre eux de reprendre leur activité quand la teneur en oxygène redevient suffisante. L'échauffement limité des balles traitées par rapport aux balles témoins montre néanmoins l'effet bénéfique de l'ammoniac sur la conservation (tableau 43).

Cet effet est particulièrement marqué avec les fourrages les plus humides et pour des doses d'ammoniac égales ou supérieures à 2 % ; l'échauffement du fourrage récolté à 29,3 % est réduit, par exemple, de 474°C.jours à 40°C.jours par l'incorporation de 2 % d'ammoniac.

Figure 34 : Courbes de température des balles témoin et traitées (humidité =29,3 %)

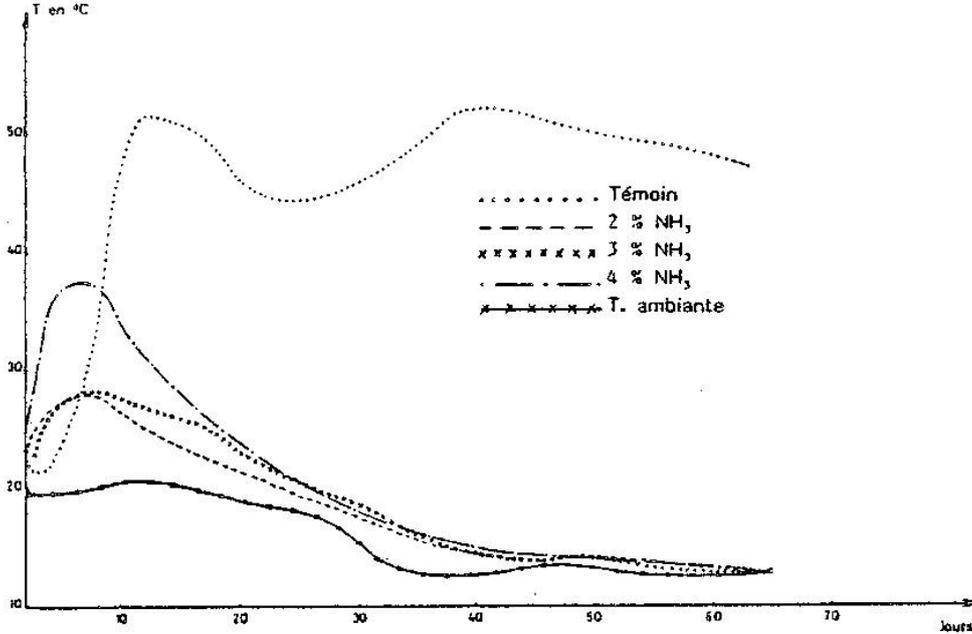
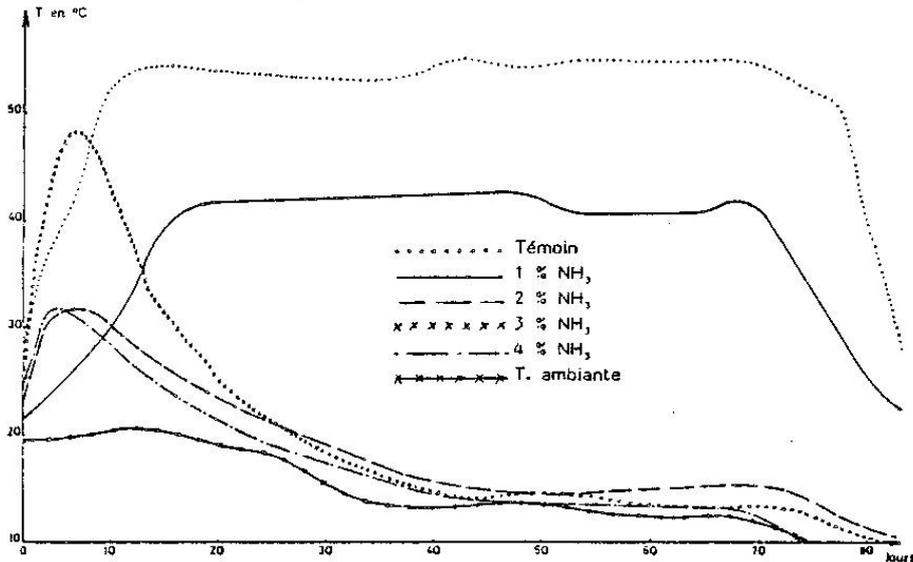


Figure 35 : Courbes de température des balles témoin et traitées (humidité =34 %)



Par contre, la dose de 1 % s'avère insuffisante pour limiter efficacement l'activité microbologique et l'échauffement concomitant. En raison de leur échauffement, les balles témoins sèchent progressivement et à l'utilisation par les animaux, leur taux d'humidité moyen est voisin de 20 %. Par contre, les balles traitées à 2 % et plus d'ammoniac ne perdent que quelques points d'humidité au cours de la conservation.

*Tableau 43 : Echauffement et pertes de matière sèche des foins témoins et traités à l'ammoniac durant la phase de conservation aérobie*

N° de BALLE	HUMIDITE MOYENNE A LA RECOLTE	DOSE D'AMMONIAC En % de la MATIERE HUMIDE	TEMPERATURE MAXIMALE ATTEINTE EN °C	ECHAUFF <sup>T</sup> en °C x JOUR	HUMIDITE MOYENNE A LA DISTRIBUTION	PERTES DE M.S. en % (à partir des taux de cendres)
0	23 %	0	44	150	16,8	4,8
1		1	38	130	19,8	3,6
2		2	23	21	22,7	3,6
3		3	27	44	20,7	1,2
4		4	22,5	14	23,5	0
10	29,3 %	0	53	474	18,4	27,6
11		2	27,5	40	30,9	6,2
12		3	28	47	33,7	1,3
13		4	37,5	73	33,8	0
20	34 %	0	55	751	20,6	24,5
21		1	43	481	21,1	17,2
22		2	32	82	30,7	3,7
24		3	48	108	32,8	0
25		4	32	52	29,0	0

Dans cet essai, les pertes de matière sèche durant la phase de conservation aérobie, ont été très nettement réduites par le traitement à l'ammoniac (tableau 43) ; ce résultat corrobore la diminution de l'échauffement précédemment observée ; ainsi, à 29,3 % d'humidité, les pertes ne dépassent pas 6,2 % pour 2,3 et 4 % d'ammoniac appliqué. Les pertes de matière sèche (27,6 % et 24,5 %) des balles témoins les plus humides paraissent élevées si l'on se réfère aux valeurs couramment admises, de l'ordre de 15 %, en conditions semblables ; la méthode utilisée ici, estimation à partir des taux de cendres avant et après conservation, peut être en partie incriminée du fait de la faible dimension des échantillons soumis aux analyses, mais la méthode directe d'évaluation des pertes par bilan "matière" ne donne de même que des résultats approchés du fait de l'hétérogénéité de l'humidité au sein des balles.

*Microbiologie des foins à l'utilisation (tableau 44)*

Tableau 44 : Effets de l'ammoniac sur la qualité microbiologique de fourrages humides à l'utilisation ; nombres de germes par gramme

(1) : *E. Amstelodami*

M= 1 000 ; MM = 1 000 000

N° de balle	H = 23 %					H = 29,3 %				H= 34 %				
	0	1	2	3	4	10	11	12	13	20	21	22	24	25
Dose NH3 (en % de la MH)	0	1	2	3	4	0	2	3	4	0	1	2	3	4
FLORE DU CHAMP														
<i>Phoma glomerata</i>			traces		traces									
FLORE INTERMEDIAIRE														
<i>Absidia corymbifera</i>	traces										traces	traces		
<i>Actinomucor elegans</i>		traces										150	traces	traces
<i>Cladosporium cladosporioides</i>			traces	500	1750				traces	150M				
<i>Mucor circinelloides (g.c.)</i>				traces	traces									traces
<i>Rhizopus stolonifer</i>				traces	traces		traces		traces					traces
LEVURES														
<i>Rhodotorula + Candida</i>	traces	8M	120M	15M	(80)	15M	7,5M	1,5M	traces	40MM	300M	45M	25M	2,5M
FLORE DE STOCKAGE														
<i>Aspergillus candidus</i>	35M					150M	50	400			traces			800
<i>A. fumigatus</i>				traces							50			
<i>A. gr. glaucus</i>	7,5M	(1) 4,5M	(1) 4,5M	(1) 6M	600	120M	250	500	traces	(1) 250	(1) 750	2M	750	3,5M
<i>A. niger</i>			traces	traces	traces				traces					
<i>Paecilomyces variotii</i>														
<i>Penicillium roqueforti</i>	12M	traces	25M	1,2M	15M				traces	45M	60M	800	traces	traces
<i>P. stoloniferum</i>		traces		traces										
<i>P. spinulosum</i>														
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	6M	31M		250	traces					800M	250M	160M		250
BACTERIES (aérobies totales)	20MM	4,5MM	800M	800M	5,5M	20MM	320M	180M	1,25MM	60MM	200MM	30MM	200M	200M
+ Actinomycètes		2M		45M	2,5M					800M	2,5M	50 M		

## \* Série à l'humidité initiale 23 %

- Balle 0 (témoin) : le fourrage présente une forte contamination bactérienne mais aussi fongique due en particulier à *Aspergillus candidus*, *A. gr. glaucus*, *Penicillium roqueforti* ; les levures peu compétitives sont quasiment absentes.
- Balle 1 (1 %) : le niveau de pollution par moisissures reste limité ; les actinomycètes sont présents en faible quantité ( $2 \times 10^3/g$ ).
- Balle 2 (2 %) : au sein de la flore microbienne, dominent les levures (soit essentiellement *Rhodotorula rubra*), *P. roqueforti* auxquels s'ajoutent les *A. gr. glaucus* (soit essentiellement *Eurotium amstelodami*) ; les bactéries restent encore notables.
- Balle 3 (3 %) : le niveau de pollution par champignons (et notamment levures) reste limité en deçà même de la moyenne prévisible (entre n°2 à 2 % et n°4 à 4 %) ; le fourrage présente une forte population d'actinomycètes.
- Balle 4 (4 %) : les analyses montrent une limitation des trois éléments fongiques précédents : Levures, *P. roqueforti* et *A. gr. glaucus*, mais une légère reprise de l'*Actinomucor repens* (syn.: *A. elegans*) ; la limitation des bactéries est peu significative.

## \* Série à humidité initiale 29,3 %

- Balle 10 (témoin): l'*A. candidus* s'avère abondant, accompagnant les *A. gr. glaucus* et les bactéries.
- Balle 11 (2 %): la limitation des populations fongique et bactérienne est très forte ; ces résultats sont plus proches du n°25 (à 4 %) que du n°22 (à 2 %). Il faut en déduire l'importance de l'humidité initiale au moment du traitement (taux d'absorption de l'ammoniac) et peut-être, par la suite, lors de la conservation en raison de son implication dans les processus fermentaires.
- Balle 12 (3 %) : les résultats sont similaires à ceux de la balle n°11 avec moins de levures et de bactéries.
- Balle 13 (4 %): trois dominantes floristiques sont présentes : l'*Actinomucor repens* réputé des plus tolérants à l'ammoniac (PELHATE, 1982) ; le *P. roqueforti* bien connu sur ensilages ; des bactéries.

## \* série à humidité initiale 34 %

- Balle 20 (témoin) : la forte humidité favorise, comme prévu, bactéries (et actinomycètes) et levures, du type *Candida* ; nous notons la présence de *Scopulariopsis brevicaulis* pourtant plus classique des foins "secs" avec les *A. gr. glaucus*.
- Balle 21 (1 %) : le traitement ne marque, à cette faible dose, qu'au niveau des levures et des Actinomycètes ; *P. roqueforti* est abondant.
- Balle 22 (2 %): l'essor bactérien (dont Actinomycètes) est très net, accompagné du développement des levures et surtout du *Scopulariopsis brevicaulis*.
- Balle 24 (3 %): ce traitement apparaît intéressant sur le plan microbiologique du fait de la forte limitation des bactéries et des moisissures.
- Balle 25 (4 %): les résultats sont similaires à ceux de la balle n° 24 (forte limitation des bactéries et des moisissures).

## \* Conclusion

L'ammoniac évite des altérations profondes en limitant moisissures et bactéries dont les Actinomycètes. Son efficacité pratique, par le biais des antagonismes microbiens et des dynamiques de flore, est étroitement dépendante du taux d'humidité ; les meilleurs résultats à dose donnée d'ammoniac et considérés par rapport aux témoins, sont obtenus aux plus fortes humidités (30 % et plus). Dans ces dernières conditions, les doses utiles seraient voisines de 3 %.

*Composition chimique et valeur alimentaire des foins*

## \* Composition chimique (tableau 45)

Les teneurs en matières azotées totales (MAT) ont été fortement augmentées par le traitement, atteignant 280 g/kg de MS pour la valeur extrême. Notons que ces teneurs ont été mesurées sur les foins passés 24 heures dans une étuve à 40°C pour permettre leur broyage. La quantité d'ammoniac perdue à l'étuve a donc dû être faible. Quant au taux de fixation de l'ammoniac, il décroît lorsque la dose augmente ; il est de l'ordre de 60 % pour 2 % d'ammoniac et de 40 % pour 40 % d'ammoniac.

Tableau 45 : Composition chimique des foins et taux de fixation de l'ammoniac lors de l'ouverture des balles avant leur distribution aux animaux

N° DE BALLE	DOSE DE NH <sub>3</sub> en %	TENEUR en g/kg M.S.				TAUX DE FIXATION MOYEN DE L'AMMONIAC En %
		CENDRES	MATIERES AZOTEES TOTALES	GLUCIDES SOLUBLES	CELLULOSE BRUTE	
0	0	63	119	12	356	
1	1	69	185	--	328	97
2	2	69	196	29	341	57
3	3	66	216	--	344	48
4	4	73	231	32	267	41
10	0	83	124	7	351	
11	2	69	221	—	334	59
12	3	78	228	—	337	43
13	4	87	256	37	328	41
20	0	112	154	8	304	
21	1	156	197	—	312	78
22	2	91	261	33	305	59
24	3	88	280	—	323	47
25	4	77	269	29	319	39
Valeurs moyennes	0	86	132	9	337	
	1	111	186	—	327	
	2	98	226	30	327	
	3	77	241	—	335	
	4	79	252	33	305	

Les teneurs en glucides solubles sont faibles dans l'ensemble. Elles sont presque nulles en l'absence de traitement, ce qui est conforme aux échauffements observés dans les balles témoins. Quant aux teneurs en cellulose brute, elles n'ont été affectées que par la dose d'ammoniac de 4 % (baisse de 9 %). La teneur en cendres très élevée de la balle n°21 provient probablement d'une pollution accidentelle du foin par de la terre.

\* Quantités ingérées (tableau 46)

Chaque foin n'a été distribué qu'à 2 ou 3 moutons. Les valeurs par foin sont donc trop imprécises pour être considérées. On ne raisonnera donc que sur les moyennes.

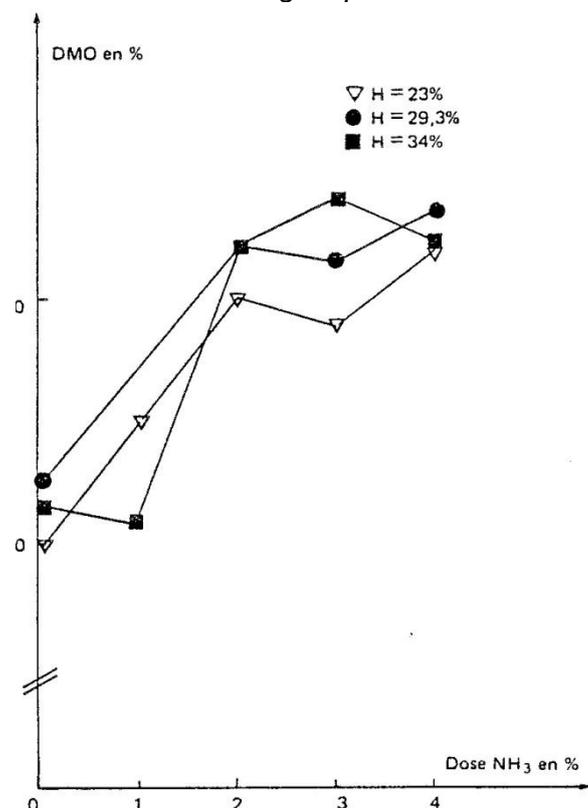
Dans ces conditions, on constate que les foins non traités ou traités avec 1 % ont été ingérés en même quantité. Avec 2 % de NH<sub>3</sub>, cette quantité a augmenté de 13,7 % et, avec 3 % de NH<sub>3</sub>, de 24,7 %. Ensuite, il n'y a plus eu d'augmentation supplémentaire : + 19,7 % seulement par rapport au témoin avec la plus forte dose d'ammoniac.

\* Digestibilité de la matière organique (tableau 46)

L'évolution de la digestibilité avec la dose de NH<sub>3</sub> est irrégulière dans une série, probablement

toujours à cause du faible nombre de moutons utilisés. Mais, globalement, il apparaît plus nettement que le traitement a eu un effet léger (+ 2,1 points) avec 1 % de NH<sub>3</sub> et fort (+ 10,3 points) avec 2 % de NH<sub>3</sub>. Ensuite, cette digestibilité n'a guère varié (figure 36).

Figure 36 : Digestibilité de la matière organique selon la dose d'ammoniac appliquée



La valeur alimentaire des foins, que l'on peut exprimer en g de matière organique digestible (MOD) par kg de poids métabolique (PV<sup>0,75</sup>) passe donc de l'indice 100 à 135, 152 à 148 pour les doses de 2, 3 et 4 % d'ammoniac.

Tableau 46 : Valeurs alimentaires mesurées sur moutons ; quantités ingérées, digestibilité et valeur azotée des foins

N° DE BALLE	DOSE DE NH <sub>3</sub>	QUANTITES INGEREES En g/kg p <sup>0,75</sup>		DIGESTIBILITE EN %			TENEUR en g/kg M.S.		TENEUR en g/kg M.S. ESTIMEES		UFL /kg M.S.
		MATIERE SECHE	MATIERE ORGANIQUE DIGESTIBLES	MATIERE ORGANIQUE	CELLULOSE BRUTE	ENERGIE	MATIERES AZOTEES NON DIGESTIBLES	MATIERES AZOTEES DIGESTIBLES	PDIN	PDIE	
0	0	53.0		49.8	56.9	46.7	63	56	73	70	0.53
1	1	53.9		54.9	61.8	51.6	77	108	102	74	0.61
2	2	60.9		60.5	69.2	57.2	93	103	99	78	0.69
3	3	69.7		59.1	66.8	55.8	108	108	102	77	0.68
4	4	58.2		62.2	61.1	58.9	111	120	109	79	0.72
10	0	44.0		52.5	65.0	49.4	73	51	77	73	0.56
11	2	52.2		62.3	72.0	59.1	97	124	118	81	0.71
12	3	63.2		61.7	71.6	58.6	109	119	115	80	0.71
13	4	52.5		63.8	77.6	60.5	122	134	123	81	0.73
20	0	52.2		51.7	60.9	48.0	88	66	96	81	0.53
21	1	50.5		50.8	64.4	47.6	102	95	112	78	0.50
22	2	56.5		62.0	74.4	58.8	100	161	149	89	0.70
24	3	53.2		64.3	78.1	60.9	125	155	146	91	0.74
25	4	67.8		62.3	73,3	59.1	122	147	141	89	0.73
Valeurs moyennes	0	49.7	(23.3)	51.3	60.9	48.0	75	57	82	75	0.54
	1	49.3	(23.4)	53.4	65.1	50.5	89	97	104	76	0.56
	2	56.5	(31.4)	61.6	71.9	58.4	97	129	122	83	0.70
	3	62.0	(35.3)	61.7	72.2	58.4	114	127	121	83	0.71
	4	59.5	(34.4)	62.8	70.7	59.5	118	134	124	83	0.73

\* Valeur azotée (tableau 46)

Exprimée en matières azotées digestibles (MAD), la valeur des foins augmente jusqu'à 2 % d'ammoniac, puis plafonne. Cela est dû probablement au fait qu'une quantité considérable de l'azote fixé passe dans les fèces. Il faut noter aussi que les foins non traités ont chauffé. Nous avons aussi calculé des valeurs PDI selon les propositions de DULPHY, BOISSEAU et LEBLANC (1984), mais sans tenir compte de l'effet de la température sur les foins témoins. Dans ces conditions, les valeurs en PDIE passent de 75 à 83 g/kg de MS pour le traitement à 4 % de  $\text{NH}_3$  et il y a théoriquement toujours un excédent d'azote soluble.

### **3.5.2.3.1.3. Discussion**

Appliqué sous bâches à des doses comprises entre 2 et 4 %, l'ammoniac a eu un effet nettement améliorateur sur la conservation de balles rondes de ray-grass d'humidités 23 %, 29,3 % et 34 % en réduisant l'échauffement et les pertes de matière sèche lors de la conservation en aérobiose ; l'inhibition des microorganismes n'a été cependant que sélective et certains d'entre eux ont pu à nouveau se développer normalement en présence d'oxygène. Les observations faites rejoignent donc celles de THORLACIUS et ROBERTSON (1984) et de WOOLFORD et TETLOW (1984).

Les quantités ingérées par les moutons, ainsi que la digestibilité de la matière organique, ont augmenté avec la dose de  $\text{NH}_3$  et semblent maximales pour une dose de 3 %. De même, la valeur azotée augmente avec la dose de  $\text{NH}_3$  mais plafonne vers 2-3 % de  $\text{NH}_3$  en raison de pertes très fortes d'azote dans les fèces déjà constatées par WINTHER et al. 1983).

Le traitement à l'ammoniac semble donc apporter un progrès dans le domaine de la conservation des foins humides ; il est cependant nécessaire de préciser :

- le niveau de stabilisation des fourrages induit par le traitement qui, s'il est insuffisant, peut conduire à imposer le maintien de l'atmosphère ammoniacale jusqu'à l'utilisation par les animaux ;
- la valeur azotée réelle des fourrages selon les températures atteintes au moment du traitement, et le devenir de l'azote ammoniacal fixe sur les foins (HODEN et DULPHY, 1985).

### **3.5.2.3.2. Effets de la durée de confinement sur la qualité de conservation et la valeur alimentaire du foin**

Cet essai a été mis en place au vu des résultats obtenus lors de l'essai précédent, pour préciser l'influence de la durée de confinement sur la stabilité de conservation des fourrages et surtout pour explorer plus avant les problèmes de valeur azotée réelle des fourrages traités. Dans cette optique, la température des fourrages a été suivie pendant l'injection d'ammoniac pour évaluer la responsabilité éventuelle du traitement dans le déclenchement de réactions de Maillard.

#### **3.5.2.3.2.1. Matériels et méthodes**

Un fourrage mixte composé de ray-grass, de fléole et de trèfle blanc, a été récolté en balles rondes, à trois taux d'humidité différents : 20,6 %, 23,2 % et 35 %.

Pour chaque taux d'humidité, deux meules de 6 balles ont été édifiées à l'extérieur, selon la même technique ; les balles ont été placées en pyramide sur deux niveaux, 4 balles en partie inférieure et 2 balles en partie supérieure ; les balles ont été disposées sur des palettes de bois afin de les isoler d'éventuelles condensations provoquées par la réaction exothermique de fixation de l'ammoniac (l'eau résultante, en ruisselant sur la face interne de la bâche de couverture, a tendance à s'accumuler à la base de la meule).

L'herméticité a été obtenue grâce à deux bâches, une bâche de sol et une bâche de couverture, en polyéthylène noir de 130 microns d'épaisseur, dont les bords, roulés ensemble, ont été recouverts de sable.

Le traitement a été effectué le jour suivant la confection des meules grâce à une sonde métallique creuse reliée par un tuyau souple au réservoir d'ammoniac. Après perforation de la bâche de couverture, l'ammoniac a été introduit sous forme liquide par la sonde enfoncée d'un mètre vers le centre de la meule ; une dose d'ammoniac de 3 % calculée par rapport au poids brut de fourrage a été introduite dans chacune des meules ; l'ammoniac a provoqué un gonflement des bâches, ce gonflement étant particulièrement prononcé avec les fourrages les plus secs.

Pour éviter tout risque de déchirure, l'injection a dû être effectuée lentement et a demandé parfois plus d'une heure. Les perforations créées par le passage de la sonde ont ensuite été obturées à l'aide de rubans adhésifs. Afin d'éviter tout risque de déchirure de la bâche de couverture sous l'action du vent, chaque meule a été recouverte d'un second film en polyéthylène noir de 130 microns d'épaisseur.

Les six meules, contenant chacune environ 1700 kg de fourrage, ont ensuite été conservées en l'état, et simplement suivies par contrôle régulier de la température interne.

#### Confinement court.

Au bout de six semaines, trois meules (n° 2, 4 et 5), soit une pour chaque taux d'humidité, ont été débâchées et on a placé les balles correspondantes sous abri, sur un seul niveau, afin de contrôler, par mesure de température, leur stabilité en conditions aérobies ; après trois mois et demi de stockage dans ces conditions, les balles ont été ouvertes ; des échantillons ont été prélevés pour être soumis à des analyses microbiologiques et chimiques puis le fourrage a été distribué à des moutons placés en cage de digestibilité.

#### Confinement long

Les trois autres meules (n° 1, 3 et 6) ont été maintenues bâchées sous atmosphère ammoniacale pendant 27 semaines ; passé ce délai, les meules ont été découvertes et les balles conservées à l'air libre, sous abri, pendant deux mois et demi ; la valeur alimentaire des foina a été, alors, estimée par analyse chimique.

### 3.5.2.3.2. Résultats

#### Echauffement

L'ammoniac a provoqué, lors de l'injection, une élévation importante de la température, d'autant plus élevée que le fourrage était humide (cf. figures 37, 38 et tableau 47) : la température maximale atteinte a été de 60°C à 20,6 % d'humidité, de 68°C à 23,2 % d'humidité et de 72°C à 35 % d'humidité ; la température du fourrage a diminué ensuite lentement pour rejoindre pratiquement la température moyenne ambiante au bout d'une quinzaine de jours.

Tableau 47 : Caractéristiques principales des meules ; températures maximales observées durant l'essai

N° DE MEULE	HUMIDITE EN % DE LA MATIERE HUMIDE	POIDS DE FOURRAGE HUMIDE EN KG	DOSE D'AMMONIAC EN % DU POIDS DE FOURRAGE HUMIDE	TEMPERATURE MAXIMALE ATTEINTE LORS DE L'INJECTION D'AMMONIAC EN °C	DUREE DE CONFINEMENT SOUS ATMOSPHERE AMMONIACALE EN SEMAINES	TEMPERATURE MAXIMALE ATTEINTE APRES MISE A L'AIR LIBRE EN % C
1	35	1726	3	72	27	12
2	35	1742	3	72	6	55
3	23,2	1670	3	68	27	11
4	23,2	1700	3	68	6	48
5	20,6	1650	3	60	6	38
6	20,6	1625	3	60	27	11

Figure 37 : Evolution de la température des meules 1,3 et 6, à l'injection d'ammoniac, pendant le stockage sous bâche et après l'ouverture des meules

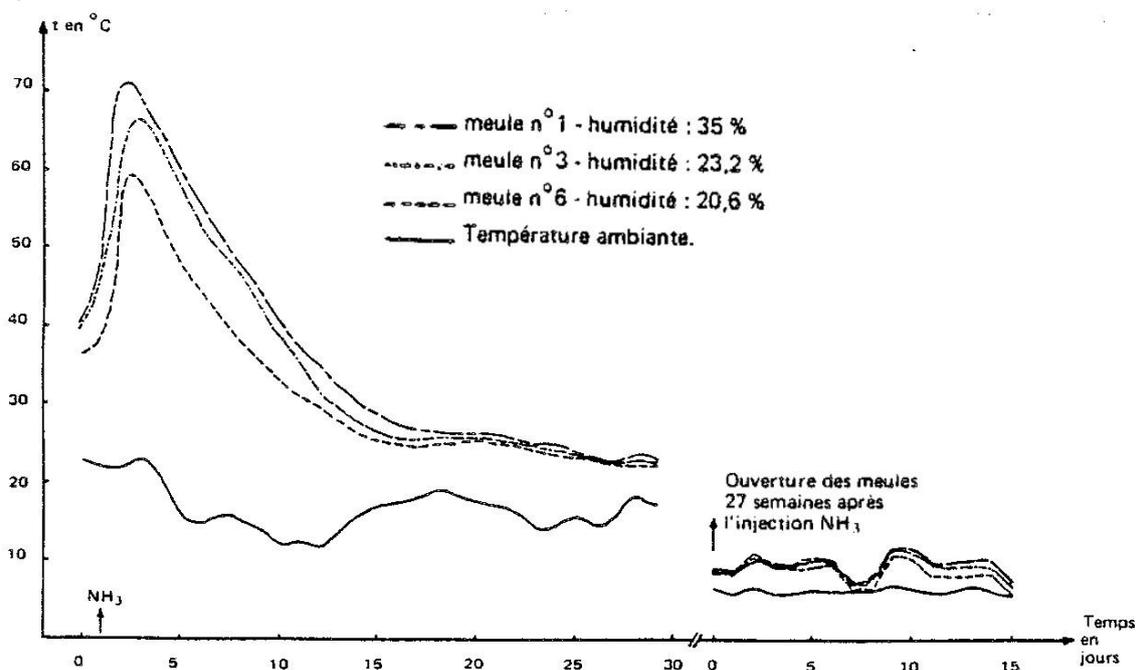
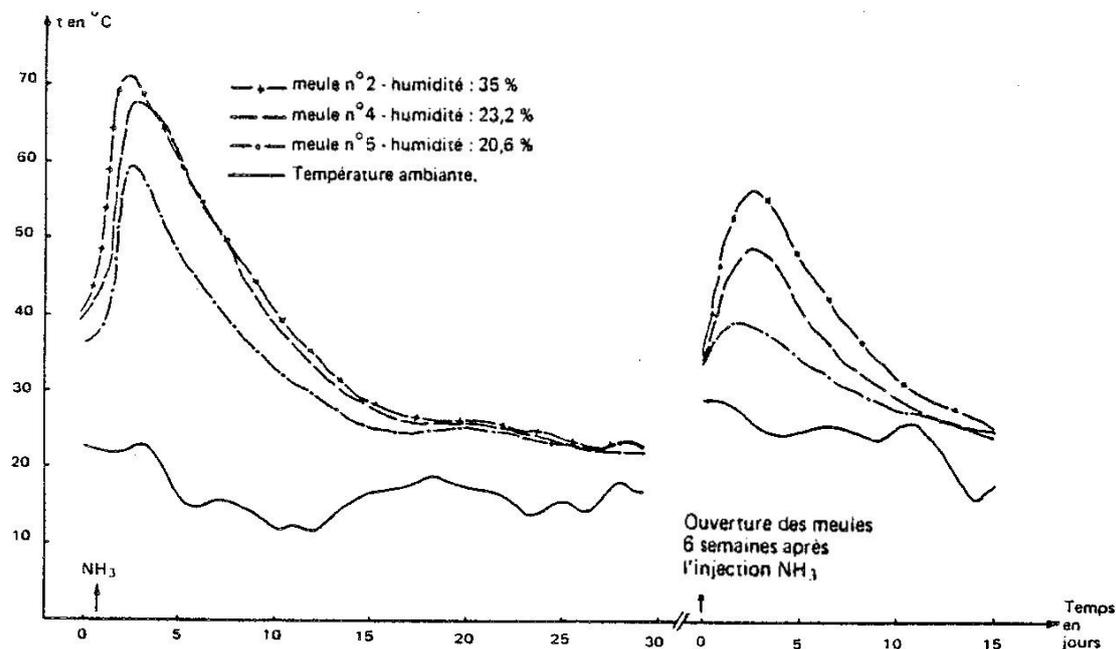


Figure 38 : Evolution de la température des meules 2,4 et 5, à l'injection d'ammoniac, pendant le stockage sous bâche et après l'ouverture des meules



Ce phénomène d'échauffement, dû à la chaleur de dissolution de l'ammoniac (KOEGL, STRAUB, SHINNERS, 1985), s'il est recherché dans le cas du traitement de la paille pour accélérer l'action sur le complexe ligno-cellulosique, peut ici avoir une influence négative sur la valeur alimentaire du fourrage ; on sait, en effet, que les températures supérieures à 50°C sont à l'origine de la formation, dans les fourrages humides, de composés peu digestibles de couleur brune (réaction de Maillard). Or, dans le cas des meules les plus humides de cet essai, la température est restée supérieure à 50°C pendant plus de cinq jours, ce qui incite à penser qu'une dégradation de la valeur azotée a pu se produire.

Cet échauffement a pu également provoquer un effet stérilisant sur une partie de la microflore du

fouillage, en particulier sur les espèces psychrophiles et mésophiles (SEMENIUK G., 1954).

Au débâchage, les meules ne se sont pas comportées de la même manière :

\* Confinement court

Les meules 2, 4 et 5 conservées bâchées six semaines, se sont échauffées lors de la mise à l'air libre, à une période où la température moyenne ambiante était de l'ordre de 25°C.

La température maximale atteinte diminue avec l'humidité du fourrage : 55°C pour la meule à 35 % d'humidité, 48°C pour 23,2 % d'humidité et 38°C pour 20,6 % d'humidité. Cet échauffement, qui dénote le développement de populations microbiennes aérobies, a été cependant de courte durée puisqu'au bout d'une dizaine de jours la température des balles s'est pratiquement abaissée au niveau de la température ambiante.

\* Confinement long

Les balles des meules 1, 3 et 6, maintenues sous atmosphère ammoniacale durant 27 semaines, n'ont été le siège d'aucun échauffement durant la conservation à l'air libre.

Deux explications complémentaires peuvent être avancées pour interpréter cette différence de comportement entre des fourrages récoltés à des humidités analogues et traités de façon identique à 3 % d'ammoniac :

- la durée de confinement sous atmosphère ammoniacale, beaucoup plus longue pour les meules 1, 3 et 6, qui a certainement permis à l'ammoniac d'accentuer son action répressive vis-à-vis des microorganismes ;
- la température moyenne ambiante, plus faible à l'ouverture des meules 1, 3 et 6 (10°C contre 25°C pour les meules 2, 4 et 5), qui a contribué à limiter la croissance des microorganismes résistants à l'ammoniac.

*Microbiologie des foin à l'utilisation (tableau 48)*

Seules les meules 2, 4 et 5 présentant un échauffement durant la conservation à l'air libre, ont fait l'objet d'analyses microbiologiques, après trois mois et demi de stockage, avant les contrôles sur animaux.

Les numérations appellent une première remarque pour l'ensemble des lots : l'ammoniac déplace l'équilibre floristique en faveur d'espèces relativement résistantes au traitement, comme le *Scopulariopsis brevicaulis*, déjà rencontré lors de l'essai précédent et réputé tolérant à l'ammoniac (PELHATE, 1982) et le *Penicillium steckii* ; l'aptitude du *Scopulariopsis brevicaulis* à bien supporter l'ammoniac s'explique certainement par sa propension à se développer sur les substrats riches en protéines qu'il utilise pour son métabolisme en produisant lui-même de l'ammoniac (BOTTON et al., 1985). *Rhodotorula rubra*, bien que plus irrégulier, vient, avec les bactéries aérobies, compléter la contamination du fourrage.

Il en résulte des cortèges dits évolués, à flore peu diversifiée parce que sélectionnée. Les 4 éléments dominants ont en commun la thermopréférence ; ils peuvent donc être tenus pour responsables de l'échauffement observé.

Les teneurs en eau, toujours très supérieures au seuil de développement des moisissures et bactéries sont peu déterminantes dans la dynamique qualitative des espèces ; ainsi, le lot le moins humide renferme-t-il le plus grand nombre de germes ; la teneur intermédiaire de la meule 4 appelle d'autre part, le plus grand essor du *P. steckii* alors que les 2 et 5 (respectivement la plus et la moins humide) recèlent le *Scopulariopsis brevicaulis*.

Il ressort de ces observations que la microflore des fourrages n'est pas complètement inhibée par l'ammoniac et que certaines populations résistantes peuvent se développer dès la mise à l'air libre ; cet essor est cependant beaucoup moins marqué que dans des balles non traitées récoltées à des humidités analogues, et dans lesquelles l'échauffement provoqué par les microorganismes

peut se maintenir pendant plus de deux mois à un niveau de température voisin de 50°C, comme nous l'avons constaté dans l'essai précédent.

*Tableau 48 : Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les meules 2, 4 et 5 ; durée de confinement sous atmosphère ammoniacale : 6 semaines ; durée de conservation à l'air libre : 3 mois et demi*

	MEULE 2	MEULE 4	MEULE 5
Humidité à la récolte en % de la matière humide	35	23,2	20,6
Dose d'ammoniac en % du poids brut	3	3	3
<b>ESPECES PRESENTES</b>	<b>NOMBRE MOYEN DE GERMES PAR GRAMME DE PRODUIT</b>		
<b>FLORE DU CHAMP</b>			
Alternaria tenuissima	t		
A. alternata	t	t	
Botrytis cinerea	t		
Epicoccum nigrum			t
<b>FLORE INTERMEDIAIRE</b>			
Absidia corymbifera	t		
Actinomucor elegans		t	
Cladosporium cladosporoïdes	t	t	
Rhizopus stolonifer	t		
<b>LEVURES</b>			
Rhodotorula rubra	t	450 M	5 M
Candida sp.		t	
<b>FLORE DE STOCKAGE</b>			
Aspergillus candidus	400		
A. flavus	t		
Eurotium amstelodami	t	250	
A. versicolor			t
P. steckii	2,5 M	175 M	15 M
R stoloniferum		t	
Scopulariopsis brevicaulis	50 M	1,5 M	125 M
<b>BACTERIES (aérobies totales)</b>	250 M	30 M	150MM

T = traces ; M = 1000 ; MM = 1000 000

#### *Composition chimique et valeur alimentaire des foins*

La composition chimique et la valeur alimentaire des foins, après conservation figurent dans le tableau 49.

#### \* Composition chimique

Les quantités d'ammoniac fixées ont été comparables pour les différents foins (+ 115 à 120 g de MAT/kg de MS), sauf pour le foin le plus sec avec confinement court (+ 85 g de MAT/kg de MS) ; ces valeurs correspondent, pour l'ensemble des foins, à un taux de fixation de l'ammoniac compris entre 43,7 % et 60,7 %.

Les teneurs très voisines en glucides solubles des différents foins (de 52 à 57 g par kg de MS), ne

paraissent pas affectées par la durée du confinement, ce qui signifie en particulier, que l'échauffement mesuré après la période de confinement court n'a eu que peu d'incidence à ce niveau.

Tableau 49 : Composition chimique et valeur alimentaire des foins

	CONFINEMENT COURT (6 semaines)			CONFINEMENT LONG (27 semaines)		
	2	4	5	1	3	6
<b>Lors de la récolte</b>						
Humidité en %	35,0	23,2	20,6	35,0	23,2	20,6
M.S. en %	65,0	76,8	79,4	65,0	76,8	79,4
MAT en g/kg MS	69	64	70	65	64	70
<b>Lors de la distribution aux animaux</b>						
MS an %	76,5	80,7	82,8	-	-	-
MM (g/kg MS)	66	66	61	64	65	64
MAT (id.)	184	182	155	181	184	188
CD (id.)	345	337	369	-	-	-
Glucides solubles (id.)	57	55	57	54	52	52
Quantités de MS ingérées (g/kg <sup>PO,75</sup> )	58,6	64,4	66,3	-	-	-
Digestibilité de la MO (moutons)	64,5	63,4	61,6	-	-	-
Digestibilité in vitro*	62,4	64,3	61,9	65,3	63,0	63,0
Digestibilité estimée	-	-	-	65,1	63,6	63,6
UFL/kg de MS	0,76	0,75	0,72	0,77	0,75	0,75
Teneur en MAND (moutons) (g/kg MS)	109	102	92	-	-	-
MAT insoluble dans la pepsine** (id.)	53	46	34	30	37	41
Teneur en MAND prévue (id.)	-	-	-	97	100	103
PDIN (id.)	68	71	62	67	67	66
PDIE (id.)	66	64	65	66	65	65

\* Méthode de J. AUFRERE (1982) ; \*\* Méthode de GOERING et VAN SOEST (1970)

#### Valeur alimentaire

Les foins 2, 4 et 5 (confinement court) ont été distribués à des moutons pour mesurer leur digestibilité et donc leur valeur énergétique, ainsi que leur teneur en matières azotées non digestibles. Ces paramètres ont été estimés par analyse pour les foins 1, 3 et 6 ; la teneur des foins en matières azotées non digestibles peut, en particulier, être évaluée à partir de la mesure de leur teneur en matières azotées insolubles dans la pepsine (DULPHY, non publié).

Les digestibilités ne sont pratiquement pas influencées par la durée du confinement (+1, point en moyenne pour le confinement long) ; elles apparaissent un peu plus élevées pour les foins humides que pour les foins secs, mais il ne s'agit là que de tendances que suivent évidemment les valeurs énergétiques (UFL/kg de MS) ; on peut noter au passage, pour les foins du confinement court, distribués aux moutons, que le foin le plus humide a été moins bien ingéré que le foin le plus sec (58,6 g par kg de poids métabolique contre 66,3 g).

Les teneurs en matières azotées non digestibles, comprises entre 92 et 109 g de MAT/kg de MS, se révèlent très élevées et, en moyenne, indépendantes de la durée de confinement. Les valeurs PDI ont été estimées selon les propositions de DULPHY, BOISSEAU et LEBLANC (1984) ; le confinement ne paraît pas avoir eu d'influence sur ces valeurs. On observe toutefois une baisse légère de la teneur en PDIN pour le foin 5.

### 3.5.2.3.2.3. Discussion

En raison de l'action sélective de l'ammoniac et de sa rémanence limitée, la mise à l'air libre d'une partie des meules après 6 semaines de confinement sous atmosphère ammoniacale a été à l'origine de développements microbiens ; ceux-ci n'ont pas été observés lors de l'ouverture des autres meules, en période hivernale et après 27 semaines de confinement ; toutefois, la valeur alimentaire finale de l'ensemble des fourrages n'apparaît guère affectée par la durée du confinement.

Sur le plan pratique, il semble préférable de maintenir les fourrages sous atmosphère ammoniacale, jusqu'à leur utilisation par les animaux, ceci afin de prévenir les risques d'instabilité de conservation accrus par l'insuffisance ou la mauvaise homogénéité du traitement. Cette méthode n'exclut pas, bien entendu, la mise à l'air libre des fourrages, 8 à 15 jours avant leur distribution, pour éliminer la majeure partie de l'ammoniac non fixé qui pourrait être, sinon, à l'origine de sous-consommations, voire de refus.

Dans le cas du confinement court, l'effet améliorateur de l'ammoniac sur la valeur alimentaire a été moins marqué pour le fourrage le plus sec, ce résultat confirmant de précédentes observations faites sur le traitement de la paille (SUNDSTOL, COXWORTH et MOWAT, 1978).

Dans le cas du confinement long, les différences apparaissent peu marquées entre les fourrages à 20,6 % et 35 % de teneur en eau, l'effet "durée" compensant probablement l'effet "teneur en eau".

L'azote non protéique apporté par l'ammoniac, appliqué à la dose de 3 % de la matière humide, n'a pas été bien valorisé par les animaux, la teneur en matières azotées non digestibles dépassant 92 g/kg de MS pour tous les fourrages traités alors qu'elle est de 45-50 g habituellement pour des fourrages non traités.

Il en résulte des valeurs azotées relativement faibles, également constatées par BENAHMED et DULPHY (1985) ; ces valeurs azotées pourraient peut-être être améliorées grâce au rationnement et à une complémentation appropriée (Thèse en cours au laboratoire des Aliments de l'INRA) ; on peut également imaginer d'apporter des aménagements à la technique de traitement :

- d'une part, en réduisant la dose d'ammoniac de 3 % à 2 % de la matière humide ; les résultats de l'essai précédent ont montré que la qualité de conservation n'en était pratiquement pas affectée ;
- d'autre part, en fractionnant dans le temps l'apport d'ammoniac, de manière à éviter une élévation trop importante de la température du fourrage et le déclenchement de réactions de Maillard ; il faudra toutefois vérifier que l'effet inhibiteur de l'ammoniac sur la flore microbienne n'est pas globalement réduit par ce procédé.

### 3.5.2.3.3. Effets de la technique de traitement sur la qualité de conservation et la valeur alimentaire du foin

La mauvaise valorisation de l'azote apporté par l'ammoniac ayant été clairement mise en évidence au cours des essais précédents et constituant le point faible de la méthode, nous avons cherché au cours d'une autre expérience à apporter des remèdes à cette situation, en agissant sur la technique de traitement.

Nous avons utilisé pour le traitement en meule, une dose d'ammoniac plus faible (2 % contre 3 % précédemment), en fractionnant l'injection de manière à éviter une élévation trop importante de température ; des doses de 1 et 1,5 % ont également été expérimentées à l'aide d'un dispositif autorisant le traitement individuel et à cœur des balles rondes de fourrage.

#### 3.5.2.3.3.1. Matériels et méthodes

Expérience A - Traitement fractionné en meule

Un fourrage de fétuque de première coupe a été récolté à deux taux différents de matière sèche: 61,4 % (écart type : 3,0 %) et 78,0 % (écart type : 1,6 %), avec une presse à balles rondes à

chambre fixe de 1,2 m de largeur et 1,2 m de diamètre.

Pour chaque taux de matière sèche, une meule de 6 balles a été édifiée à l'extérieur, selon la même technique que lors de l'expérience précédente.

\* Meule 1 (MS = 61,4 %)

Le poids moyen des balles était de 270 kg ; en raison de difficultés survenues dans la mise en place des thermocouples, la première injection d'ammoniac a été effectuée avec un peu de retard, 16 h après la récolte ; à ce moment, la température du fourrage s'était déjà élevée, par échauffement spontané, à 45°C.

2 % d'ammoniac ont été introduits en trois injections dans la meule :

- 0,5 %, 16 h après la récolte,
- 0,5 %, après 6 jours de conservation,
- 1 %, après 10 jours de conservation.

\* Meule 2 (MS = 78,0 %)

Le poids moyen des balles était de 212 kg ; la première injection d'ammoniac a pu être effectuée quelques heures après la récolte alors que la température du fourrage ne dépassait pas encore 25°C.

2 % d'ammoniac ont été introduits en deux injections dans la meule :

- 1 %, le jour de la récolte,
- 1 %, après 10 jours de conservation.

Après 12 semaines de conservation sous atmosphère ammoniacale, les meules 1 et 2 ont été en partie découvertes et stockées ainsi pendant 2 mois ; puis, les fourrages ont été soumis à des analyses microbiologiques et de valeur alimentaire.

## Expérience B - Traitement avec le système ARMAKO

Un fourrage de fétuque élevée de première coupe a été récolté en balles rondes à deux taux de matière sèche différents : 73,6 % (écart type : 6,5 %) et 81,7 % (écart type : 4,6 %) avec le matériel de pressage décrit précédemment.

Pour les deux taux de matière sèche, trois silos de trois balles ont été réalisés, se différenciant par la dose de traitement utilisée :

- 0,8 %, 1,2 % et 1,6 %<sup>2</sup> par rapport au poids brut, pour le taux de matière sèche 73,6 % ;
- 1 %, 1,5 % et 2 % d'ammoniac pour le taux de matière sèche 81,7 %.

Pour réaliser le traitement, nous avons employé le système ARMAKO, développé pour le traitement des pailles à l'ammoniac ; avec ce système, les balles rondes sont stockées dans une gaine préplissée de polyéthylène noir de 1,5 m de diamètre et de 150 microns d'épaisseur ; le traitement est effectué pendant la manutention des balles et leur mise en place dans la gaine, par l'intermédiaire d'une fourche spéciale comportant ici trois pals injecteurs ; la pression de l'ammoniac dans la cuve commandant le débit d'injection, la quantité d'ammoniac liquide désirée par balle est obtenue en ajustant la durée d'injection selon les indications de tables "débit-pression".

Par rapport à la technique de traitement en meule, le système ARMAKO favorise l'homogénéité de la répartition de l'ammoniac au sein du fourrage grâce au traitement à cœur et individuel de chaque balle.

Les silos de trois balles confectionnés avec ce système ont été placés sur une aire goudronnée,

---

<sup>2</sup> les doses prévues, respectivement 1 %, 1,5 % et 2 % n'ont pas été atteintes en raison d'un problème technique sur le circuit d'ammoniac

des sangles lestées assurant la protection des gaines de polyéthylène contre l'action du vent. La durée de maintien sous atmosphère ammoniacale a été de 10 semaines pour les fourrages à 81,7 % de MS et de 13 semaines pour les fourrages à 73,6 % de MS. Ensuite, les silos ont été découverts et les fourrages conservés en conditions aérobies pendant 1 à 3 mois selon leur ordre de passage en mesure de valeur alimentaire.

### 3.5.2.3.3.2. Résultats

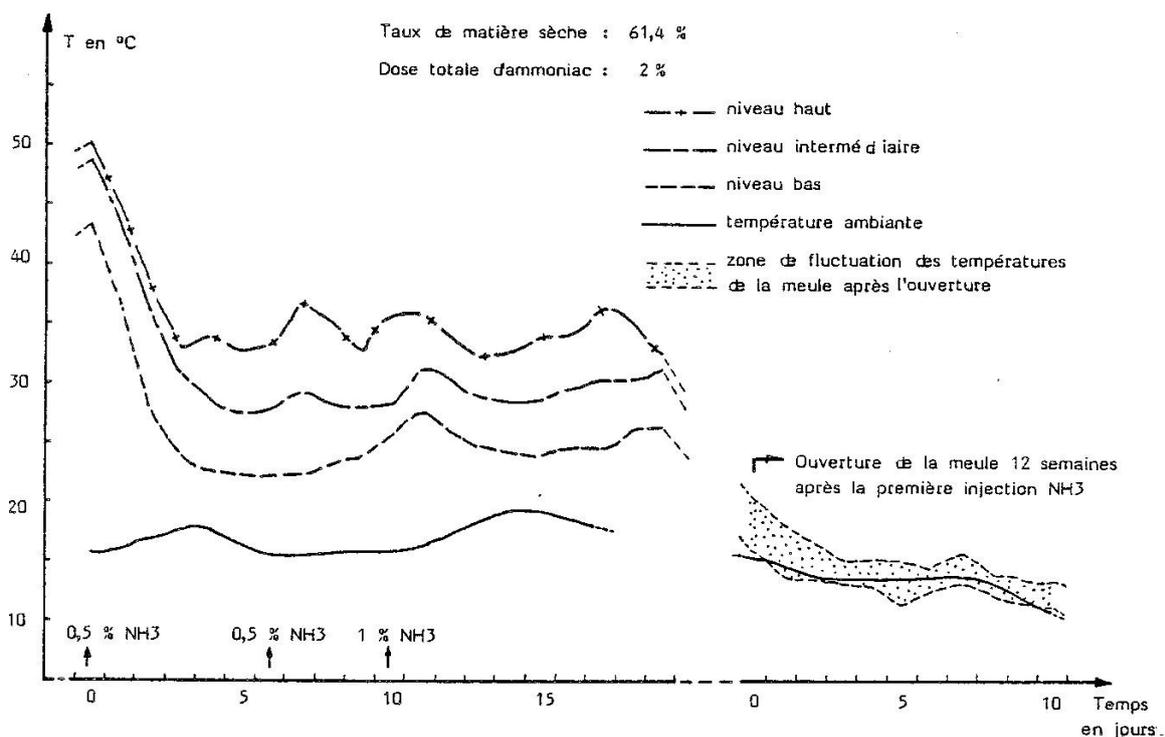
#### Echauffement

#### Expérience A

#### Meule 1

La figure 39 donne la distribution et l'évolution de la température du fourrage de la meule 1 selon la hauteur. Chacun des injections d'ammoniac a été suivie d'une élévation de température de valeur modérée (environ + 5°C). Du fait de l'échauffement spontané initial du fourrage, consécutif à un délai de 16 h entre le pressage et le traitement, la température a toutefois dépassé 45°C pendant les deux premiers jours pour la partie supérieure de la meule ; hormis cette zone, le résultat recherché par le fractionnement du traitement a été atteint puisque la température moyenne du fourrage est restée constamment inférieure à 40°C.

Figure 39 : Evolution de la température du fourrage de la meule 1 selon la hauteur, à l'injection d'ammoniac, pendant le stockage sous bâche et après l'ouverture de la meule.



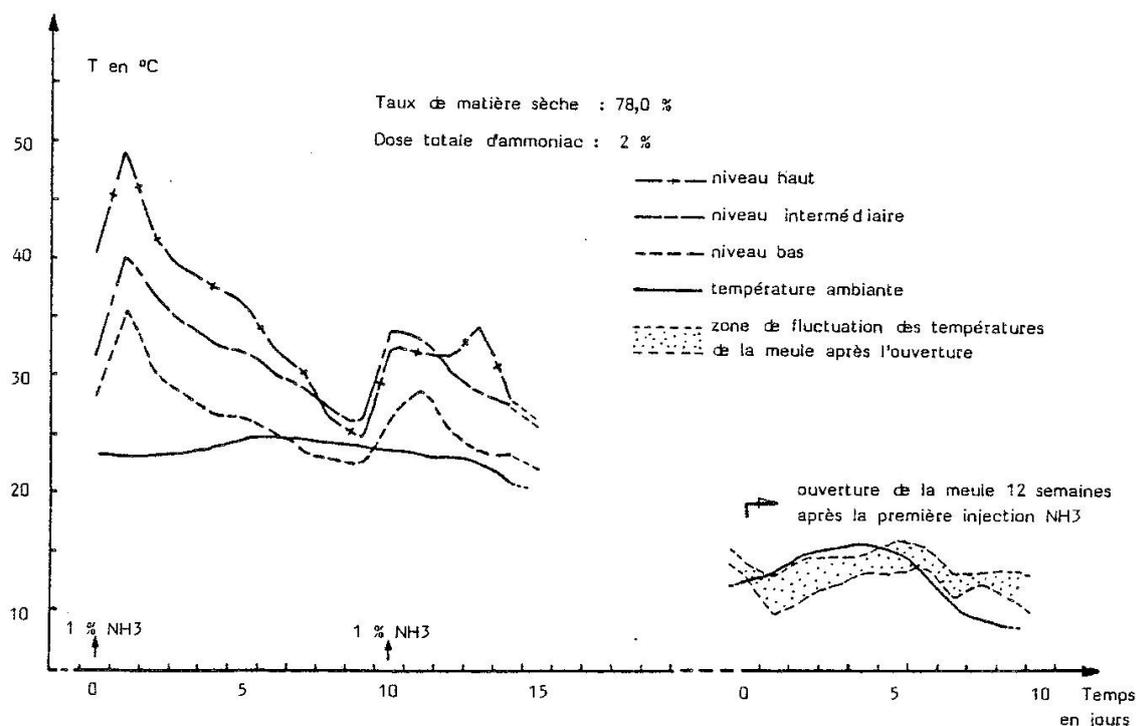
La température n'est pas uniforme au sein de la meule ; elle se distribue par strates horizontales et augmente de bas en haut ; ce phénomène classiquement rencontré en statique des fluides, résulte de l'effet de la température sur la densité des gaz ; il est certainement accentué par l'action de l'ammoniac qui, plus léger que l'air, a tendance à s'accumuler en partie haute, ainsi que par l'effet thermique du rayonnement solaire agissant sur le film de polyéthylène noir.

Aucun échauffement n'a été observé après l'ouverture des meules, lors de la conservation du fourrage en aérobiose ; l'ammoniac a donc permis d'obtenir dans cette expérience une bonne stabilisation du fourrage.

#### Meule 2

La figure 40 donne la distribution et l'évolution de la température du fourrage de la meule 2 selon la hauteur. Par rapport à la meule 1, l'effet thermique des injections (1 % chacune) est plus marqué ; la température se distribue de manière analogue, avec un gradient croissant de bas en haut, tout en restant inférieure à 40°C pour la majeure partie de la meule. Comme pour la meule 1, la conservation du fourrage en aérobiose n'a pas provoqué de reprises d'échauffement.

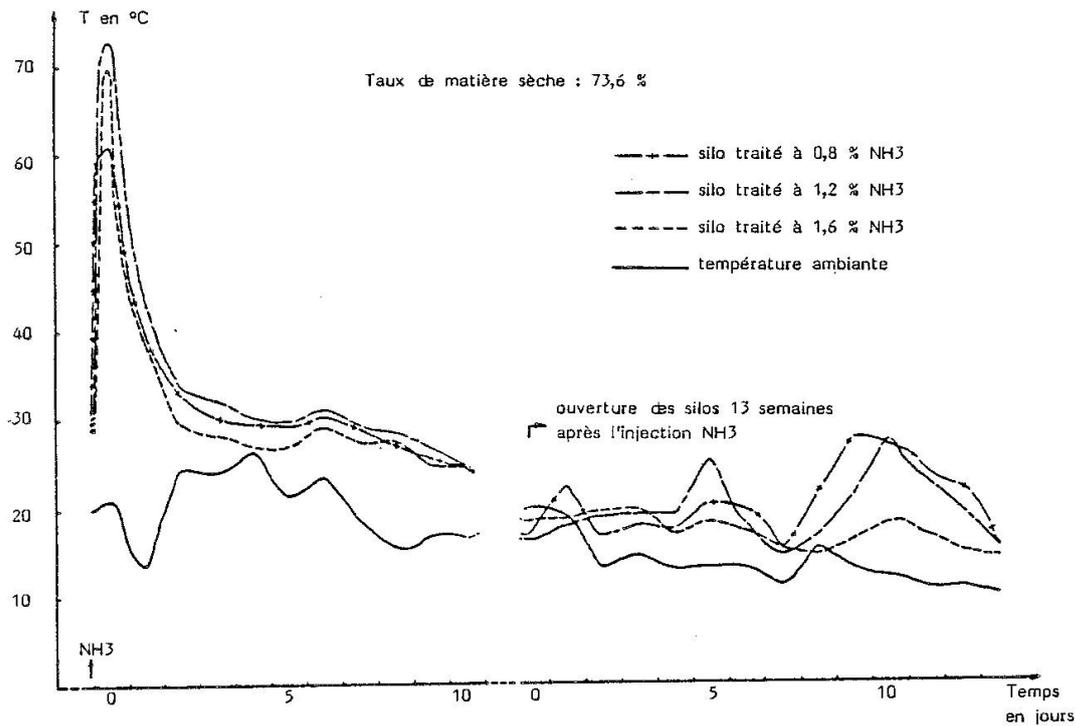
Figure 40 : Evolution de la température du fourrage de la meule 2 selon la hauteur, à l'injection d'ammoniac, pendant le stockage sous bâche et après l'ouverture de la meule.



\* Expérience B

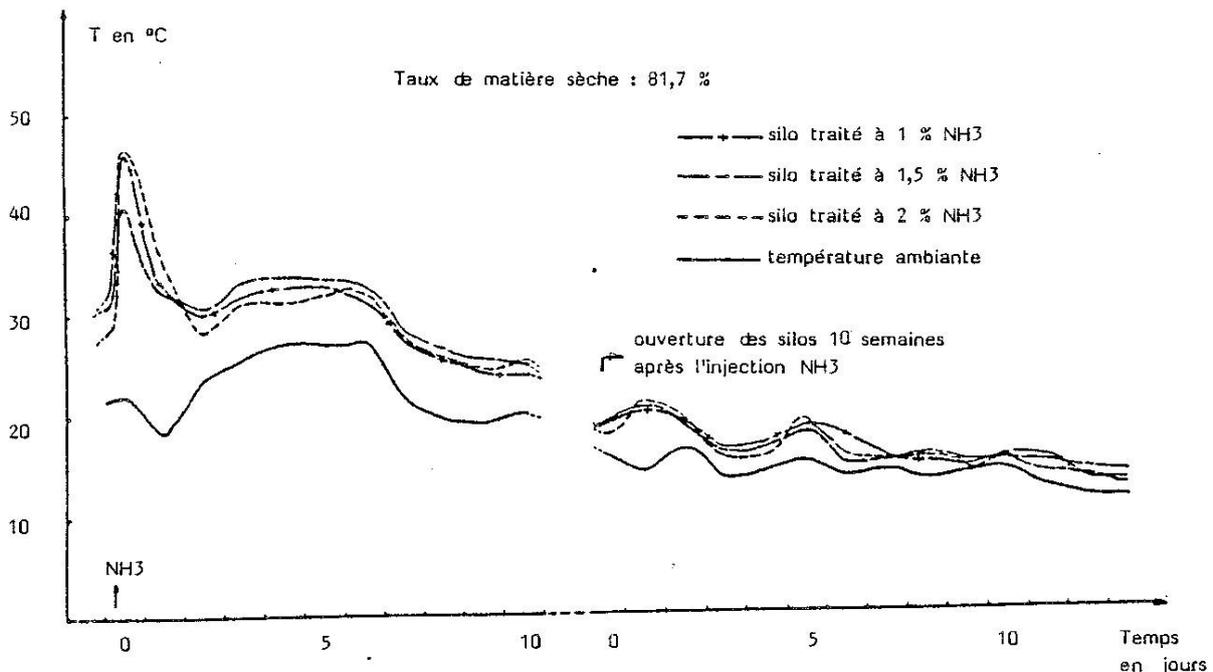
Les figures 41 et 42 donnent, pour les deux taux de matière sèche (73,6 % et 81,7 %), l'évolution de la température du fourrage à l'intérieur des silos, lors de l'injection d'ammoniac et pendant la conservation en atmosphère confinée et en condition aérobie.

Figure 41 : Evolution de la température du fourrage des silos ARMAKO, à l'injection d'ammoniac, pendant le stockage sous gaine et après l'ouverture des silos



L'élévation de température à l'injection, due à la chaleur de dissolution et de fixation de l'ammoniac, augmente surtout avec l'humidité du fourrage : la température dépasse par exemple 70°C pour le fourrage à 73,6 % de MS traité avec 1,6 % ou 1,2 % d'ammoniac, contre 47°C à 81,7 % de MS et 2 % d'ammoniac apporté.

Figure 42 : Evolution de la température du fourrage des silos ARMAKO, à l'injection d'ammoniac, pendant le stockage sous gaine et après l'ouverture des silos



En l'absence d'effet de masse - les balles sont disposées en lignes sur le sol - la température du fourrage chute beaucoup plus rapidement que dans le cas du traitement effectué au sein des meules de l'expérience A. Après débâchage, les silos de l'essai à 73,6 % de MS, traités à 0,8 % et

1,2 % d'ammoniac ont présenté une légère reprise d'échauffement, de l'ordre au maximum de 15-16°C au-dessus de la température ambiante.

Microbiologie des foins à l'utilisation

\* Expérience A

Les résultats des analyses (5 échantillons par meule) sont portés dans le tableau 50.

Meule 1

La forte humidité initiale a été favorable au développement du *P. roqueforti* ; parallèlement, l'*A. flavus* et, moins régulièrement, l'*A. ochraceus*, espèces thermopréférantes, se sont superposées. Par la suite, après dégagement de la bâche, le *Scopulariopsis brevicaulis*, espèce thermopréférante mais non hygrophile, est intervenu en cours de séchage différé. Etant donné le niveau de contamination par les moisissures, les bactéries apparaissent peu représentées mais elles ont pu se développer activement à certains moments du stockage et disparaître par la suite.

Tableau 50 : Résultats des analyses microbiologiques opérées sur les foins des meules 1 et 2, après conservation en conditions aérobies (expérience A)

	MEULE 1					MEULE 2				
	2% D'AMMONIAC EN 3 INJECTIONS					2 % D'AMMONIAC EN 2 INJECTIONS				
TAUX DE M.S. % A LA RECOLTE	61,4					78				
TAUX DE M.S. % LORS DE L'ANALYSE	89,0	89,2	88,4	89,0	89,2	88,8	88,6	89,6	90,2	88,6
<b>ESPECES PRESENTES</b>	NOMBRE MOYEN DE GERMES PAR g					NOMBRE MOYEN DE GERMES PAR g				
<b>FLORE INTERMEDIAIRE</b>										
<i>Mucor hiemalis</i>	t				250					
<i>Rhizopus stolonifer</i>	550	750	t	1.250	t	2.500	750	1.500	1.500	
Levures ( <i>Candida</i> sp.)							t			
<b>FLORE DE STOCKAGE</b>										
<i>Aspergillus flavus</i>	7.500	t	35.000	15.000	12.000	t	1.500	t		
<i>A. fumigatus</i>		t								
<i>A. niger</i>				t	t					
<i>A. ochraceus</i>	t	250.000	65.000	t						
<i>Eurotium amstelodami</i>									t	t
<i>Penicillium janthinellum</i>									55.000	
<i>P. roqueforti</i>	125.000	75.000	80.000	95.000	275.000	250.000	180.000	350.000	t	t
<i>Scopulariopsis brev.</i> (dont forme alba)	25.000	5.000	2.500	12.000	15.000	40.000	30.000	25.000	80.000	1.550.000
	-		+	-	-				-	-
Bactéries (aérobies totales)	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
Actinomycètes	?	t	t			-	-	-	-	-

t = traces

Tableau 51 : Résultats des analyses microbiologiques opérées sur les foins traités avec le système ARMAKO, après conservation en conditions aérobies (Expérience B) ;

Taux de MS à la récolte : 73,6 %

DOSE D'AMMONIAC en %	0,8	1,2	1,2	1,2	1,2	1,6
TAUX DE M.S. % LORS DE L'ANALYSE	88,8	87,2	87,6	87,2	87,4	86,6
ESPECES PRESENTES	NOMBRE MOYEN DE GERMES PAR GRAMME DE PRODUIT					
<b>FLORE INTERMEDIAIRE</b>						
Absidia corymbifera	250					1.250
Rhizopus stolonifer	500	750	traces	traces		
Levures						
Candida sp.				traces		
Rhodotorula rubra	+	+	+	+	+	+
<b>FLORE DE STOCKAGE</b>						
Eurotium amstelodami	25.000	95.000	15.000	traces		2.500
Penicillium roqueforti			traces			
Scopulariopsis brevicaulis	40.000	15.000	75.000	225.000	2.500.000	850.000
Spicaria violacea	traces					
Bactéries (aérobies totales) + Actinomycètes	750.000 +	1.500.000 -	3.500.000 -	2.750.000 -	traces -	250.000 +

## Meule 2

La pollution fongique reste forte, représentée par le *P. roqueforti* et le *Scopulariopsis brevicaulis*, comme dans la meule 1, ou plus fortuitement par le *Penicillium janthinellum*. Les bactéries aérobies totales ne s'expriment guère, en raison vraisemblablement du niveau élevé de pollution fongique.

### \* Expérience B

Après le stockage en condition aérobie, les trois silos du fourrage le plus sec à la récolte (81,7 % de MS) ne présentaient pas de signes visibles de développement de moisissures, à la différence du fourrage plus humide (73,6 % de MS), dont le lot traité à 1 % d'ammoniac était visiblement très contaminé. Le tableau 51 rassemble les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les trois lots du fourrage à 73,6 % de MS. Le mode opératoire (une seule injection) se répercute probablement sur le *P. roqueforti* qui n'apparaît pratiquement plus ; la pollution fongique globale est surtout due à l'*Eurotium amstelodamii*, espèce xérotolérante, associée au *Scopulariopsis brevicaulis*. L'essor relatif des bactéries aérobies peut s'expliquer en partie par l'absence de concurrence du *P. roqueforti*.

En conclusion, qu'il s'agisse de l'expérience A ou de l'expérience B, les foins traités présentent des déséquilibres floristiques flagrants à l'avantage d'espèces réputées tolérantes à l'ammoniac (notamment le *Scopulariopsis brevicaulis*) et/ou capables de recoloniser le substrat en fin de rémanence, comme l'*Eurotium amstelodami*.

### Composition chimique et valeur alimentaire des foins (tableau 52)

Seuls les fourrages de l'expérience B traités à une dose intermédiaire (1,2 % et 1,5 %) n'ont pas fait l'objet de mesures. La valeur alimentaire des autres foins traités a été comparée à celle de témoins séchés au sol.

Les quantités ingérées par les animaux ont toujours augmenté après traitement, mais plus avec les foins traités à une teneur en MS proche de 80 % (augmentation de l'ordre de 40 %) que de 60-

70 % (augmentation comprise entre 8 et 18 %), à cause probablement de problèmes d'appétence et de surcharge d'ammoniac dans le rumen.

Les digestibilités de la matière organique et donc les valeurs énergétiques (UFL/kg de MS) ont été nettement augmentées dans l'expérience A (de 10 à 20 %), mais peu dans l'expérience B (+ 4 % en moyenne). Nous n'avons pas d'explication pour ces résultats différents.

Comme c'est toujours le cas, le traitement augmente les teneurs en matières azotées non digestibles, de 30 à 40 g/kg de MS pour les doses d'ammoniac de 1,6 et 2 %. Apparemment, le fait de traiter en 2 ou 3 fois (expérience A) n'a pas eu d'incidence à ce niveau par rapport au traitement en une fois (expérience B), mais il est difficile de conclure sur ce point, en l'absence de possibilité de comparaison directe entre les deux expériences ; un lot supplémentaire traité en une fois aurait été nécessaire dans l'expérience A.

Dans l'expérience B, le fait d'augmenter la dose d'ammoniac a entraîné une augmentation de l'azote excrété dans les fèces. Les valeurs PDI ont été calculées selon les propositions de DULPHY, BOISSEAU et LEBLANC (1984). Les valeurs PDIE augmentent légèrement dans l'expérience A après traitement (de 8 à 10 %), mais pas dans l'expérience B. Les valeurs PDIN qui étaient déficitaires par rapport aux valeurs PDIE pour les foin témoins sont devenues proches des valeurs PDIE après traitement.

Tableau 52 : Composition chimique et valeur alimentaire des foins. Expérience A - Traitement fractionné en meule (mesures faites avec JP GAREL, INRA Marcenat). Expérience B - Traitement avec le système ARMAKO

	EXPERIENCE A				EXPERIENCE B					
	MS = 61,4		MS = 78,0		MS =73,6			MS = 81,7		
	Témoin sec	Traité NH <sub>3</sub> =2%	Témoin sec	Traité NH <sub>3</sub> =2%	Témoin sec	NH <sub>3</sub> = 0,8%	NH <sub>3</sub> =1,6%	sec	NH <sub>3</sub> =1%	NH <sub>3</sub> =2%
<b>Composition chimique</b>										
MS (p. 1000)	842	714	880	795	849	831	816	880	838	828
Cendres (p. 1000 MS)	74	63	95	110	69	70	75	95	106	100
MAT (p. 1000 MS)	66	151	56	131	87	134	167	56	101	125
Cellulose brute (p. 1000 MS)	-	-	309	-	305	314	317	309	292	282
Parois totales (NDF) (p. 1000 MS)	668	694	652	617	682	709	677	652	644	594
<b>Valeur alimentaire</b>										
Ingestibilité (g MS/kg P <sup>0,75</sup> )	52,5	62,2	52,9	73,7	56,9	57,8	61,6	52,9	74,2	77,1
Digestibilité de la MO %	55,7	64,1	56,8	63,5	59,8	57,9	61,7	56,8	57,5	58,9
<b>Matières azotées (g/kg MS)</b>										
non digestibles	40	80	35	68	44	64	77	35	48	62
digestibles	26	71	21	63	43	70	90	21	53	63
PDIN g/kg M5	41	66	35	59	54	69	80	35	53	59
DDIE g/kg MS	60	66	58	63	72	70	72	58	58	59
<b>UFL/kg MS</b>	0,60	0,74	0,60	0,69	0,67	0,65	0,71	0,60	0,62	0,65

### 3.5.2.3.3. Discussion

L'objectif de cet essai était de mieux valoriser l'azote apporté par l'ammoniac grâce au fractionnement et à la réduction de la dose de traitement.

Le fractionnement de l'injection comporte certes des contraintes puisqu'il suppose la présence quasi permanente du matériel de traitement sur l'exploitation ; dans le cas de notre essai, le fractionnement en deux ou trois fois de la dose totale apportée (soit 2 %) a permis de ne pas porter la température du fourrage à plus de 50°C, limitant ainsi les risques de déclenchement de réactions de Maillard. Malgré cela, les teneurs en matières azotées non digestibles des foins traités de cette manière ont augmenté d'environ 30-40 g/kg de MS.

Les fourrages traités, mis en condition aérobie, n'ont été le siège d'aucun échauffement ; l'ammoniac a donc provoqué l'inhibition de la majeure partie de la microflore, à l'exception des espèces relativement tolérantes, déjà rencontrées lors des précédents essais, en l'occurrence *Penicillium roqueforti* et *Scopulariopsis brevicaulis*.

Le traitement individuel des balles avec le système ARMAKO n'a pas permis, dans le cas des fourrages les plus humides (73,6 % de MS) de réduire la dose d'ammoniac apportée à moins de 1,6 %, ainsi que l'ont montré les reprises d'échauffement constatées sur les lots traités à 0,8 et 1,2 % ; la pollution microbienne pour ces fourrages était surtout due au *Scopulariopsis brevicaulis*, à *Eurotium amstelodami* et aux bactéries.

Le système ARMAKO mis au point pour le traitement de la paille à l'ammoniac, reste à l'heure actuelle un matériel d'entreprise ou de CUMA, en raison de l'investissement élevé qu'il représente ; il est donc peu probable de le voir utilisé dans un avenir proche pour le traitement des foins humides, les contraintes de la fenaison paraissant incompatibles avec la programmation, même à court terme, de chantiers de traitement à l'ammoniac.

Dans les deux expériences, l'ammoniac a eu un effet positif sur la valeur alimentaire des fourrages, très marqué sur l'ingestibilité, un peu moins net sur la digestibilité. L'apport d'ammoniac s'est traduit également à chaque fois par une augmentation de la teneur en matières azotées non digestibles, correspondant principalement à des pertes d'azote dans les fèces, mais également par un accroissement de la teneur en matière azotées digestibles, traduite par le relèvement de la valeur PDIN.

Cependant, la méthode de calcul employée pour la valeur PDIN surestime probablement la valeur azotée des foins traités ; pour vérifier cette hypothèse, les bilans azotés des animaux ont été mesurés ; les résultats sont en cours d'interprétation et vont être prochainement publiés (BENHAMED et DULPHY, 1986).

### 3.5.2.4. Discussion générale et conclusion sur l'ammoniac anhydre

Au cours d'essais de laboratoire menés en enceintes calorifugées à aération contrôlée, nous avons démontré l'effet améliorateur très net de l'ammoniac sur l'échauffement et les pertes de MS de fourrages contenant pour certains seulement 49,7 % de MS. Les doses à employer dans les conditions du laboratoire sont de 1 à 1,5 % pour les fourrages à 65-75 % de MS et de 1,5-2 % pour les fourrages plus humides ; des essais de ce type n'ont pas été rapportés dans la revue bibliographique réalisée.

Les premières expériences effectuées en conditions réelles (traitement sur la presse et traitement sous vide en cuve étanche) se sont soldées par de mauvais résultats, expliqués par l'absence de

confinement des fourrages traités sous atmosphère ammoniacale, selon les conclusions d'essais similaires de KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW (1980) et de KOEGEL, STRAUB et SHINNERS (1985). Le traitement par fumigation à l'intérieur de meules bâchées suivi de la conservation temporaire ou intégrale en atmosphère ammoniacale a donc été retenu pour la suite des expériences, à l'exemple de WINTHER et al. (1983, THORLACIUS et ROBERTSON (1984) et WOOLFORD et TETLOW (1984).

Une élévation importante de la température du fourrage est constatée à l'injection, en raison de la chaleur de dissolution de l'ammoniac et peut-être, selon KOEGEL, STRAUB et SHINNERS (1985), du fait de réactions exothermiques de liaison avec les constituants du fourrage (et plus particulièrement la lignine).

Nous avons constaté que l'échauffement augmentait avec la dose apportée et l'humidité du fourrage et qu'il pouvait atteindre 70°C, valeur proche des températures maximales 80 et 86°C citées respectivement par KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW (1980) et ATWAL et HESLOP (1984).

L'effet inhibiteur de l'ammoniac attribué au relèvement du Ph par WOOLFORD et TETLOW (1984) ou à l'ammoniac "libre" par LANCASTER et al. (1975) augmente avec la dose de traitement et devient extrêmement net à partir de 3-4 % ; cet effet apparaît sélectif aux doses plus faibles, les bactéries se montrant dans l'ensemble, lors de nos essais, plus tolérantes à l'ammoniac que les champignons ; KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW (1980) étaient déjà parvenus à une conclusion analogue, non confirmée cependant par WOOLFORD et TETLOW (1984).

Les actinomycètes apparaissent sporadiquement dans nos échantillons sans qu'il soit possible de dégager de tendance ; leur tolérance à l'égard de l'ammoniac semble d'ailleurs controversée (BENHAM et REDMAN, 1980 ; PAHLOW, 1981).

La flore fongique des foins traités ne correspond en aucune manière à celle des foins humides échauffés dans lesquels figurent surtout des espèces thermophiles ou thermotolérantes décrites au chapitre 1 : *Aspergillus fumigatus*, *Rhizomucor pusillus*, *R. miehei*, *Absidia corymbifera*, *Emericella nidulans*, *Thermomyces lanuginosus*, etc...

Les foins ammoniés hébergent une flore très sélectionnée composée de levures (*Rhodotorula rubra* et *Candida sp.*) auxquelles s'ajoutent principalement *Penicillium roqueforti*, *P. steckii*, *Eurotium amstelodami* et surtout *Scopulariopsis brevicaulis*, dont l'activité métabolique peut se traduire par la production d'ammoniac (BOTTON et al., 1985).

Le développement de ces espèces à la mise en aérobiose se traduit par des échauffements limités, constatés au cours de nos essais.

Ce risque d'instabilité des foins traités selon la dose, la durée du confinement, puis le temps de conservation en aérobiose, a été signalé par WINTHER et al. (1983) et THORLACIUS et ROBERTSON (1984). Il semble donc préférable, sauf contraintes particulières, de laisser les meules bâchées durant le stockage et de ne découvrir les foins qu'environ 1 à 2 semaines avant l'utilisation par les animaux pour permettre à la majeure partie de l'ammoniac libre de s'échapper (et éviter ainsi des phénomènes d'inappétence).

L'ammoniac apporté en quantité excédentaire, n'est pas valorisé par les animaux et passe dans les fèces et dans l'urine ; la mauvaise utilisation de l'azote apporté par l'ammoniac est également signalée par LECHTENBERG et al. (1978), WINTHER et al. (1983), DULPHY, ROUEL et BONY (1985). Ce phénomène pourrait être dû, d'une part, à l'effet thermique du traitement (Réactions de Maillard), amplifié par la présence d'ammoniac (cité par DEMARQUILLY et ANDRIEU, 1986), d'autre part, à une plus faible synthèse bactérienne dans le rumen, liée à une dépression de l'activité cellulolytique (BENHAMED et DULPHY, 1985).

Il est donc préférable de limiter la dose de traitement à une valeur juste suffisante pour inhiber la majeure partie de la microflore ; 2 % du poids brut représente de ce point de vue, un compromis acceptable qui correspond sensiblement aux valeurs recommandées par THORLACIUS et ROBERTSON (1984) et par KUNTZEL, LESHEM et PAHLOW (1980).

Le fractionnement de l'injection, étudié dans nos essais, malgré une élévation plus faible de la

température du fourrage, n'a pas eu d'effets sensibles sur la préservation de la valeur azotée ; cette technique pourrait en outre, être à l'origine d'une moins bonne stabilisation du fourrage (DULPHY, ROUEL et BONY, 1985).

Les foins traités ont, dans nos essais, été mieux ingérés par les moutons que les foins humides témoins ou même que les foins secs témoins ; des résultats analogues ont été obtenus par JONES et al. (1985), LECHTENBERG et al. (1978) ; par contre, DULPHY, ROUEL et BONY (1985) signalent, sur vaches laitières, une moins bonne ingestibilité des foins traités par rapport aux foins témoins secs.

L'ingestion de quantités trop importantes de fourrages traités n'est cependant pas souhaitable en raison des dangers d'intoxication ammoniacale (CORDESSE, 1982). Pour cette raison, DULPHY, ROUEL et BONY (1985) recommandent que la part du foin traité ne représente pas plus de 50-60 % de la ration de base.

En conclusion, même si la valeur azotée réelle des fourrages traités n'est pas encore parfaitement connue (BENHAMED et DULPHY, 1986), le traitement à l'ammoniac d'un foin récolté trop humide, sous la menace de conditions météorologiques défavorables, peut être pratiqué, avec les meilleures chances de réussite en respectant les précautions suivantes :

- traiter des fourrages d'humidité inférieure à 35-40 % pour éviter les problèmes de fixation préférentielle ;
- traitement sous bâche étanche avec 2 % d'ammoniac (par rapport au poids brut de fourrage), effectué dans les 24 heures suivant la récolte ;
- maintien des fourrages sous bâche jusqu'à utilisation par les animaux ;
- limitation de l'apport du foin traité à 50-60 % de la ration de base.

Ces travaux menés dans le domaine de la conservation des foins humides ont également eu pour résultat d'ouvrir de nouvelles perspectives dans l'emploi de l'ammoniac.

En 1985, nous avons ainsi réalisé, conjointement avec la Société LIMAGRAIN et le CRZV de Theix (M. CHENOST) une opération portant sur la conservation et la valorisation pour l'alimentation animale de 2000 t de spathes humides de maïs traitées à 2 % d'ammoniac avec le système ARMAKO (cf. photographie 2).

*Photographie 2 : Vue générale du chantier de traitement de spathes de maïs avec le système ARMAKO*



### 3.6. CONCLUSION DES ETUDES DE CONSERVATEURS POUR FOINS HUMIDES

Plusieurs enseignements tant au niveau des techniques d'étude que des conservateurs eux-mêmes et de leurs perspectives d'emploi peuvent être tirés de nos expériences.

#### Techniques d'étude

L'évaluation rationnelle de l'efficacité d'un nouveau conservateur semble devoir être menée par étapes probatoires mettant en œuvre successivement des méthodes de complexité et de coût croissants. L'étude peut débuter par des mesures au laboratoire portant sur l'inhibition de microorganismes caractéristiques des foins échauffés, choisis par exemple, sur des critères de fréquence, de pouvoir toxigène ou de thermophilie ; le conservateur testé peut ainsi être comparé à un produit de référence (par ex. l'acide propionique).

L'étape suivante toujours menée au laboratoire comporterait des essais sur petits lots de foin, placés en bocaux de verre ou mieux en flacons DEWAR ou en enceintes calorifugées à aération contrôlée pour permettre aux échauffements de s'exprimer normalement. Réalisés indifféremment à partir de fourrage frais ou de fourrage réhumidifié, ces essais se rapprochent des conditions réelles car ils tiennent compte de la présence sur le fourrage d'une microflore variée, de risques d'adsorption ou d'inactivation du conservateur par le végétal, de l'influence de l'échauffement,

A l'issue de ces essais sur petits lots de foins, s'offrent schématiquement deux possibilités : si la substance étudiée ne parvient à inhiber la microflore qu'à des concentrations très élevées, inacceptables dans la pratique (coût élevé, risques sanitaires, ...), les tests devraient alors s'arrêter à ce stade ; sinon il est nécessaire de les poursuivre sur le terrain car, nous l'avons vu pour l'acide propionique, les résultats de laboratoire ne permettent pas de préjuger de l'efficacité en conditions réelles ; les essais de terrain complètent les observations sur la qualité de conservation par des mesures de valeur alimentaire sur animaux, sans lesquelles il n'est pas possible de porter un jugement global sur un conservateur (cf. le cas de l'ammoniac).

La méthodologie des essais en conditions réelles devrait prévoir systématiquement à côté des fourrages traités, la mise en place de deux témoins :

- un fourrage témoin humide, récolté au même taux de matière sèche que le fourrage traité et conservé dans les mêmes conditions - ce témoin donne le seuil qualitatif minimal à dépasser par le fourrage traité ;
- un fourrage témoin séché par ventilation (ou à défaut séché au sol dans de très bonnes conditions), ce témoin constituant la référence qualitative optimale à atteindre par le fourrage traité.

Cette méthodologie permet de préciser très exactement l'effet du conservateur ; elle a cependant pour inconvénient d'alourdir le chantier de récolte (personnel et matériel), ce qui rend parfois son application difficile ou impossible ; dans ce dernier cas, l'objectif prioritaire doit être de préparer un témoin humide ainsi que des échantillons séchés à l'étuve, qui serviront de référence qualitative pour les analyses in vitro.

La conservation comparée des différents lots s'appuie normalement sur des mesures d'échauffement, de pertes de matière sèche, de valeur nutritive et de qualité microbiologique ; la mesure la plus sujette à imprécision reste sans conteste l'estimation des pertes de matière sèche, les bilans direct et indirect se révélant parfois très divergents en raison de l'hétérogénéité du fourrage. A défaut de multiplier les prélèvements d'échantillons, l'emploi de témoins de fourrage de caractéristiques parfaitement connues, enfermés dans des sachets non biodégradables à mailles

finés, placés dans les andains à la récolte et analysés après conservation nous semble une solution intéressante qui serait à tester.

L'évaluation de la qualité microbiologique des fourrages représente également une difficulté ; au cours de nos essais, la distribution sur de courtes périodes à des moutons adultes non gestants de fourrages très contaminés par des espèces potentiellement toxigènes n'a jamais été à l'origine d'accidents sanitaires ; il est vrai que la présence même en grande quantité d'une espèce réputée toxigène ne permet pas de prédire de sa part une éventuelle production de toxines (RENAULT et al., 1974). Faut-il alors faire des recherches systématiques de mycotoxines dans les fourrages soumis à expérimentation, sachant que les techniques correspondantes sont longues et coûteuses à mettre en œuvre ? Peut-on envisager sinon des essais rapides d'ingestion sur petits animaux (PELHATE, 1985, communication personnelle) ? Aucune de ces deux techniques n'a été employée jusqu'à présent dans les travaux sur les foin humides.

Faut-il plus simplement, en rester à l'analyse microbiologique classique et obtenir par ce moyen un diagnostic de suspicion sur les fourrages examinés ? Malgré ses limites, cette dernière solution semble effectivement devoir rester à la base des investigations d'ordre microbiologique sur les foin humides. Pratiquée en fin de stockage, elle représente également un moyen précieux pour retracer l'historique de la conservation de foin anonymes, grâce à l'identification de certaines espèces caractéristiques.

### **Les conservateurs**

L'acide propionique n'a pas concrétisé lors des essais en conditions réelles, les espoirs placés en lui, suscités par une efficacité reconnue sur maïs grain, et au laboratoire sur foin ; les raisons des échecs rencontrés tiennent surtout dans l'imperfection des techniques d'application, caractérisées par l'hétérogénéité du traitement laissant subsister des zones non traitées.

Ce problème a été rencontré sous forme accentuée avec les spécialités commerciales en raison de la faiblesse des doses d'emploi recommandées ; conséquence tangible de ces essais, les spécialités commerciales ont disparu du marché, dans l'intérêt des agriculteurs qui retiraient de leur emploi une fausse et dangereuse impression de sécurité.

Ne reste commercialisé aujourd'hui par la Société BP que le propionate acide d'ammonium sous le nom d'ACTIFOIN (doses recommandées de 5 l à 15 l/T pour des fourrages de 80-75 % de MS à 70-65 % de MS) ; les résultats récents de DULPHY et al. (1986) avec ce produit ne diffèrent pas sensiblement de ceux obtenus avec l'acide propionique et amènent aux mêmes conclusions.

Produit à faible pouvoir inhibiteur par rapport à l'acide propionique, le chlorure de sodium ne démontre un effet conservateur au laboratoire que pour des doses élevées, potentiellement toxiques pour le bétail ; a fortiori, ce constat d'inefficacité se trouverait aggravé en conditions réelles, par des difficultés d'incorporation au moins équivalentes à celles constatées avec les conservateurs présentés sous forme liquide.

Pierre d'achoppement de l'utilisation des conservateurs liquides et solides, l'homogénéité recherchée de l'incorporation ne semble pouvoir être atteinte qu'en modifiant temporairement ou non, au cours du traitement la structure physique du fourrage à l'aide de procédés mécaniques spécifiques. Toutefois, les investissements supplémentaires correspondants, assortis peut-être de complications des chantiers de récolte apparaissent peu compatibles avec le caractère occasionnel du recours aux conservateurs.

Le problème d'incorporation peut être résolu de manière simple en utilisant des conservateurs diffusant sous forme gazeuse au sein du fourrage enfermé dans une enceinte étanche ; de bons résultats concernant la qualité de conservation ont ainsi été obtenus avec l'ammoniac appliqué à raison de 2 % de poids brut de fourrage ; l'intérêt de cette méthode est cependant affaibli par des problèmes de toxicité et de valeur azotée conduisant à limiter la part des fourrages ainsi traités dans la ration.

L'emploi de l'urée, outre des difficultés supplémentaires d'incorporation et de décomposition conduirait inévitablement aux mêmes conclusions.

Ainsi, malgré les progrès réalisés, aucune solution ne paraît encore aujourd'hui totalement satisfaisante pour conserver les foins humides par voie chimique. Il faut en conclure à la nécessité de poursuivre les recherches dans ce domaine, à partir, par exemple, de molécules ou de méthodes de traitement nouvelles, ou, dans le cas de l'ammoniac, en améliorant l'utilisation alimentaire des fourrages traités.

## CONCLUSION GENERALE

Le stockage de foins humides s'accompagne de détériorations et de phénomènes d'échauffement dont nous nous sommes attachés à établir le déterminisme.

Le pic de température constaté dès les premières heures de stockage pouvait être attribué au développement des microorganismes et/ou à la respiration du végétal ; grâce au suivi des populations microbiennes durant cette phase, nous avons pu montrer l'absence de corrélation entre l'échauffement et l'évolution quantitative et qualitative de la microflore, ainsi mise hors de cause.

Pendant le stockage, la flore du champ, thermosensible est rapidement éliminée pour faire place à la flore de stockage thermotolérante ou thermophile composée principalement de *Bacillus*, d'Actinomycètes, de Mucorales (*Rhizomucor pusillus*, *R. miehei*, ...) et d'Hyphomycètes *Thermomyces lanuginosus*, *Aspergillus fumigatus*, ...).

En fin de stockage apparaissent des espèces xérophiles et thermorésistantes, essentiellement des Ascomycètes (*Eurotium amstelodami*, *Emericella nidulans*,...).

Du fait de cette microflore, l'utilisation des foins échauffés et moisissés présente des risques pathogènes (allergies pulmonaires, mycoses et mycotoxicoles).

En étudiant la respiration de végétaux coupés, selon la température et la teneur en matière sèche, nous avons pu vérifier l'étonnante aptitude du métabolisme respiratoire à se maintenir malgré le progrès de la dessiccation et même à s'exaspérer momentanément en face de températures élevées ; la quantification thermodynamique de ce phénomène permet de conclure à la responsabilité du végétal dans le pic initial de température des foins humides ; la micro et la macro-hétérogénéité de la teneur en matière sèche des andains contribuent certainement à entretenir cet effet aux faibles humidités.

L'action du végétal, auto-inhibée thermiquement, s'avère fugitive mais contribue à favoriser l'essor des microorganismes thermotolérants et thermophiles. Le développement microbien s'accompagne d'une thermogénèse active comme nous l'avons montré au cours de plusieurs expériences en comparant la conservation de fourrage à haut degré de stérilisation microbiologique et de fourrages naturellement ou artificiellement contaminés; la thermogénèse microbienne ne peut se maintenir qu'en présence d'oxygène en quantité suffisante.

Au cours d'une de ces expériences, il est également apparu qu'un haut degré de stérilisation microbiologique, (obtenu dans notre cas par irradiation gamma), ne suffisait pas pour garantir une conservation parfaite du fourrage, en raison du "redéploiement" au bout de quelques jours des espèces résistantes.

Le développement des microorganismes, outre une action thermogène néfaste pour la digestibilité de la matière azotée du fourrage, s'effectue au détriment de la matière organique dont la disparition peut atteindre 10 à 20 %.

Maintenir le potentiel nutritif du fourrage durant le stockage exige ainsi l'inhibition complète de la microflore, inhibition que nous avons cherché à obtenir par voie chimique grâce à l'emploi de conservateurs.

L'étude de conservateurs nous a amené à mettre au point une méthode d'essais de laboratoire à partir de petits lots de foin placés dans des enceintes calorifugées à aération contrôlée, fourrage frais et fourrage sec réhumidifié pouvant être indifféremment employés ; les essais de laboratoire permettent d'évaluer rapidement, pour un coût modique, l'efficacité potentielle des conservateurs.

A ce point de vue, ils méritent de constituer une étape probatoire obligatoire dans l'évaluation d'un nouveau produit.

Les essais en conditions réelles sont toutefois indispensables pour mettre en évidence des problèmes d'échelle et pour évaluer sur animaux la valeur alimentaire des fourrages traités

L'homogénéité quasi parfaite de l'incorporation du conservateur au fourrage est apparue déterminante dans la réussite de nos essais de conservation ; ainsi, l'acide propionique efficace au laboratoire s'est-il avéré sans intérêt pratique dans les conditions réelles, l'incorporation s'effectuant dans ce cas par pulvérisation sur le fourrage entrant dans la presse.

Les essais des spécialités commerciales n'ont pas été plus fructueux, l'insuffisance des doses recommandées aggravant encore les conséquences de l'hétérogénéité de l'incorporation.

Le chlorure de sodium, quant à lui, n'a présenté au cours de nos essais de laboratoire, qu'un effet conservateur très limité.

Dès lors, et à moins de mettre au point des procédés spécifiques de traitement homogène, tous les conservateurs agissant sous forme liquide et solide nous sont apparus intrinsèquement condamnés.

Cette conclusion nous a conduits à expérimenter l'ammoniac, employé sous forme gazeuse par fumigation à l'intérieur de meules étanches ; plusieurs essais ont permis de préciser la dose et la technique de traitement à utiliser ainsi que les conditions de conservation.

L'ammoniac appliqué à raison de 2 % du poids brut permet d'obtenir une qualité de conservation satisfaisante, sous réserve de maintenir le fourrage sous atmosphère ammoniacale pendant toute la durée du stockage. En contrepartie de cette efficacité, la distribution du fourrage traité exige le respect de certaines précautions ; en particulier, il est prudent de limiter sa part à 50-60 % de la ration totale pour éviter des problèmes de toxicité et améliorer sa valorisation azotée par les animaux.

Malgré certains progrès, la conservation des foin humides par voie chimique demeure donc aujourd'hui un problème imparfaitement résolu et susceptible de nouvelles recherches.

## **ANNEXES**

**ANNEXE 1****MESURE DE LA TENEUR EN MATIERE SECHE****Méthode lente de référence**

Les échantillons prélevés sur le matériel végétal, de poids environ 300 g, disposés dans des paniers métalliques de dimensions 30 cm x 20 cm x 10 cm, à couvercle et fond grillagés, sont placés dans une étuve CIA RADIEX maintenue à 105°C ; le séchage pendant 24 h jusqu'à poids constant, permet, par différences de pesée (tare, poids initial, poids final) d'obtenir la teneur en matière sèche de chaque échantillon selon la formule :

$$\text{Teneur en Matière Sèche en \%} = 100 (\text{poids final} - \text{tare}) / (\text{poids initial} - \text{tare})$$

La teneur en eau ou humidité du matériel végétal, toujours ramenée dans nos travaux à la matière humide, s'obtient par la formule :

$$\text{Teneur en eau* en \%} : 100 - \text{teneur en Matière Sèche en \%}$$

**Méthode rapide**

Cette méthode est utilisée pour suivre sur le terrain l'évolution de la teneur en matière sèche du fourrage, quand la récolte doit être faite dans des conditions données de siccité.

L'étuve est composée d'un brûleur alimenté à partir de gaz butane, d'un ventilateur et d'un cône diffuseur surmonté d'une grille sur laquelle sont disposés 6 paniers contenant chacun un échantillon d'environ 50 g de fourrage.

La température des gaz de combustion mélangés à l'air ambiant, est réglée à 110°- 120°C ; les premières pesées peuvent intervenir après 30 minutes de séchage, puis toutes les 10 minutes jusqu'à poids constant ; selon la teneur initiale en matière sèche du fourrage, la mesure demande de 140 à 60 minutes (précision  $\pm 1$  point, BULIT, 1977).

\*Pour caractériser l'état de siccité d'un végétal, les anglo-saxons utilisent presque toujours la teneur en eau et non la teneur en matière sèche. Ils rapportent généralement la teneur en eau à la matière humide (moisture content wet basis : m.c.w.b.) et exceptionnellement à la matière sèche (moisture content dry basis : m.c.d.b.).

## ANNEXE 2

### MESURE DES PERTES DE MATIERE SECHE DURANT LA CONSERVATION

#### Bilan direct

Les pertes de matière sèche sont déterminées par mesure du taux de matière sèche et pesée du fourrage, à la récolte et après conservation à partir de la formule :

$$\text{Pertes de matière sèche en \%} = \left(1 - \frac{Q_f \times MS_f}{Q_i \times MS_i}\right) \times 100 \quad (1)$$

où :

- Qi = quantité initiale de matière humide (à la récolte) en kg (ou t)
- Qf : quantité finale de matière humide (après conservation) en kg (ou t)
- MSi = taux initial de matière sèche en %
- MSf =: taux final de matière sèche en %

#### Bilan indirect

Les matières minérales ne variant pas quantitativement au cours de la conservation. On a :

$$Q_i \times MS_i \times C_i = Q_f \times MS_i \times C_i$$

Où :

- Ci = concentration initiale des matières minérales (en g/kg de MS)
- Cf = concentration finale des matières minérales (en g/kg de MS)

Donc, d'après (1) : pertes de matière sèche en % :  $\left(1 - \frac{C_i}{C_f}\right) \times 100$

### DOSAGE DES MATIERES AZOTEES TOTALES

(Méthode de KJELDAHL modifiée)

L'échantillon sec est minéralisé par l'acide sulfurique concentré porté à ébullition (330°C) pendant 3-4 h, en présence d'un catalyseur. L'azote total est ensuite transformé en azote ammoniacal, lequel est dosé avec un auto-analyseur TECHNICON, après passage à travers une membrane de dialyse, par la méthode de BERTHELOT, modifiée par WEATHERBURN (1967) et automatisée par MICHEL (1971).

Les matières azotées totales sont calculées, à partir du facteur de conversion 6,25 :

Matières azotées totales : azote total x 6,25

**ANNEXE 3****DOSAGE DE LA CELLULOSE BRUTE**

(Méthode de WEENDE)

Peser exactement 1 g de l'échantillon à analyser et le placer dans un erlenmeyer à col rodé de 300 ml.

*Attaque acide*

Ajouter 100 ml d'H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> (12,5 g par litre, soit H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> 0,255 N).

Chauffer à reflux au bain d'huile à 120°C pendant 30 mn et agiter par intermittence.

Éliminer la liqueur surnageante sur un creuset en verre fritté de porosité n° 2 préalablement séché et taré, en entraînant le moins possible de particules. Laver le résidu dans l'erien et filtrer le surnageant dans les mêmes conditions jusqu'à ce que les eaux de lavage ne soient plus acides. Laver le résidu déposé sur le creuset à l'eau bouillante à 3 ou 4 reprises.

Détacher et transvaser les particules entraînées sur le creuset dans l'erienmeyer correspondant, à l'aide de 50 ml d'eau distillée.

*Attaque alcaline*

Ajouter dans l'erienmeyer 50 ml d'une solution de soude à 25 g/litre (la concentration de la soude dans l'erienmeyer sera alors de 1,25 g/litre, soit 0,313 N) et ajouter 1 goutte d'antimousse Rhodorsil).

Porter l'erienmeyer à ébullition dans les mêmes conditions que précédemment.

Recueillir le résidu sur le creuset en verre fritté en filtrant sous vide. Laver à l'eau bouillante jusqu'à neutralisation des eaux de lavage.

Placer le creuset pendant 48 h à 80°C.

Peser après refroidissement → P1

Calciner à 550°C pendant 8 h et peser → P2

Le poids du résidu déminéralisé représente la quantité de cellulose brute présente dans l'échantillon.

Cellulose WEENDE (en %) =  $(P1 - P2) \times 100$

**ANNEXE 4****DOSAGE DES CONSTITUANTS PARIETAUX**

(Méthode au détergent neutre NDF, VAN SOEST et WINE, 1967)

*Réactifs* : solution "détergent neutre"

Peser :

- 18,61 g de sel disodique d'EDTA, 2 H<sub>2</sub>, 2 H<sub>2</sub>O
- 6,81 g de borate de sodium, 10 H<sub>2</sub>O
- 4,56 g de phosphate disodique anhydre
- 30,0 g de lauryl sulfate de sodium

Dissoudre dans environ 500 ml d'eau. Transvaser dans une fiole jaugée de 1 l.

Ajouter 10 ml de 2 éthoxyéthanol (éthylène glycol, monoéthylether). Compléter avec de l'eau distillée. Le pH de la solution doit être compris entre 6,9 et 7,1.

*Mode opératoire*

Peser exactement 2 g de l'échantillon à analyser et l'introduire dans un erlenmeyer de 300 ml à col rodé. Introduire 100 ml de la solution détergente et une goutte d'antimousse Rhodorsil. Chauffer à ébullition (120°C) au bain d'huile à reflux, pendant 60 mn. L'ébullition est obtenue en 10 mn. Filtrer sur verre fritté n° 2 préalablement séché et taré. Rincer à l'eau chaude (4 fois), puis à l'acétone (1 fois). Sécher à l'étuve à 80°C pendant 48 h.

Le résidu (NDF) obtenu correspond à la quantité de parois contenues dans l'échantillon initial.

*Nota*

En cas de difficultés de filtration, on peut procéder par centrifugation de la façon suivante : Transvaser le contenu de l'erien dans des pots de centrifugeuse préalablement séchés et tarés. Centrifuger une 1ère fois pendant 10 mn à 16 000 g. Eliminer le surnageant qui doit être parfaitement limpide.

Répéter les centrifugations 3 fois en dispersant le culot avec de l'eau bouillante.

Sécher les pots de centrifugeuse et leur contenu à 80°C pendant 48 h. Peser.

Le résidu est ensuite récupéré pour l'analyse de la fraction ADF. Broyer le résidu et le placer à 80°C pendant 24 h pour déterminer le poids du résidu soumis à l'hydrolyse ADF.

**ANNEXE 5**  
**DOSAGE DES GLUCIDES SOLUBLES**  
(Méthode de SOMOGYI, 1952)

*Principe*

Les glucides simples libres, les composés azotés, les acides organiques, les mucilages, les tanins et les gommés sont mis en solution par extraction aqueuse à 40°C; après défécation par précipitation des protéines, des mucilages et des gommés, on procède à l'hydrolyse des sucres solubles ; on dose ensuite les sucres par mesure du pouvoir réducteur.

*Réactifs*

- Acétate de zinc à 30 %.
- Ferrocyanure de potassium à 15 %.
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,2 N ; NaOH 4N ; NaOH 0,1N
- Liqueur cuivrique : 30 g de tartrate de Na et K ; 30 g de Na<sub>2</sub> CO<sub>3</sub> ; 40 ml de NaOH N ; 8 g CuSO<sub>4</sub> ; 180 g de Na<sub>2</sub> S<sub>04</sub> ; 25 ml de KIO<sub>3</sub> N (35,68 g %) ; 8 g de KI ; eau distillée q.s.p. 1000 ml. La préparation de la liqueur cuivrique s'effectue en 3 étapes.
- Solution de thiosulfate de sodium N/20 (12,4 g de Na<sub>2</sub> S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> / litre d'eau distillée).
- Solution de glucose à 1 g/l.

*Mode opératoire**\* Extraction aqueuse*

Peser exactement 4 grammes de l'aliment sec finement broyé dans un erlenmeyer de 250 ml. Ajouter 100 ml d'eau distillée à 40°C et mettre 1 h au bain-marie 40°C en agitant tous les quarts d'heure. Laisser décanter. Prélever le surnageant, le filtrer sur filtre plissé et recueillir le filtrat. Rajouter 100 ml d'eau à 40°C à la partie décantée et laisser 30 minutes au bain-marie à 40°C. Filtrer tout le contenu de l'erlenmeyer et ajouter le filtrat au filtrat précédent. Laver le résidu qui se trouve sur le filtre jusqu'à 500 ml de filtrat total. Mettre le filtre + résidu total à l'étuve jusqu'à poids constant. On peut ainsi en déduire le poids des substances mises en solution.

*\* Défécation*

Mettre 200 ml de filtrat dans une fiole. Retirer 20 ml, puis ajouter 4 ml d'acétate de zinc et 5 ml de ferrocyanure de potassium. Compléter à 200 ml avec de l'eau. Agiter, filtrer sur filtre plissé et recueillir le filtrat.

*\* Hydrolyse des glucides solubles*

Mettre 25 ml du filtrat obtenu comme indiqué ci-dessus dans une fiole de 50 ml. Ajouter 5 ml d'H<sub>2</sub> S<sub>04</sub> 1,2 N. Couvrir la fiole d'une bulle de verre et la porter 30 mn au bain-marie bouillant. Transvaser dans un bécher de 50 ml, et neutraliser la solution au pH-mètre avec Na OH 4 N (jusqu'à pH 6 environ) puis avec NaOH 0,1 N entre pH 6 et pH 7. Après la neutralisation, la quantité totale de filtrat + soude est d'environ 50 ml. Remettre dans une fiole de 50 ml (cas des ensilages : peu de sucres), 100 ml (cas des dactyles) ou 200 ml (ray-grass, luzerne) selon la concentration en sucre, et compléter à 50, 100 ou 200 ml selon les cas avec de l'eau distillée.

*\* Dosage du pouvoir réducteur*

Les dosages sont effectués dans des tubes de 25 x 200 mm.

Echantillons à doser (Gamme) :

- 5 ml d'échantillon + 5 ml de liqueur cuivrique
- 5 ml d'eau + 5 ml de liqueur cuivrique
- 0,5 ml de la solution de glucose (1 g/litre) + 4,5 ml eau + 5 ml sol. Cuivrique
- 1 ml de la solution de glucose (1 g/litre) + 4 ml eau + 5 ml sol. Cuivrique
- 2 ml de la solution de glucose (1 g/litre) + 3 ml eau + 5 ml sol. cuivrique

Mettre sur chaque tube une bulle de verre et les mettre 15 mn au bain-marie bouillant, dans un portoir métallique, puis les refroidir. Ajouter 1 ml d'H<sub>2</sub> S<sub>04</sub> 5 N et agiter pour dissoudre le précipité de Cu<sub>2</sub>O. Puis ajouter 0,4 ml d'empois d'amidon à 1 %. L'iode en excès est dosé par Na<sub>2</sub> S<sub>2</sub> O<sub>3</sub> N/200 en versant doucement le thiosulfate et en agitant bien le tube jusqu'au virage de la couleur au gris-vert.

## ANNEXE 6

### PREVISION DE LA DIGESTIBILITE DES FOURRAGES PAR LA METHODE ENZYMATIQUE "PEPSINE-CELLULASE"

(AUFRERE, 1982)

Les traitements ont lieu dans des creusets de 90 ml (hauteur 12,5 cm, diamètre intérieur 3 cm) munis d'un filtre en verre frite de porosité 2.

Ils comportent les deux étapes suivantes :

- un pré-traitement de 24 h au bain-marie à 40°C avec 0,2 p. 100 de pepsine (MERCK, 7 190 pouvoir digestif 1/10 000) dans de l'acide chlorhydrique 1 N permet une attaque plus facile par la cellulase. On utilise 50 ml de solution pepsine HCl pour 500 mg d'échantillon broyé à la grille de 0,8 mm ;
- après filtration et lavage à l'eau distillée, l'attaque avec la préparation cellulasique s'effectue dans 50 ml de tampon acétate de sodium 0,05 M à pH 4,6, pendant 24 h au bain-marie à 40°. La préparation cellulasique choisie est extraite de *Trichoderma viride* : cellulase Onozuka R 10 (Yakult Pharmaceutical industry Co LTD 21, Shingikancho, Nishinomiya 622 - Japan) ; elle est employée à raison de 100 mg/100 ml de tampon.

Après filtration et rinçage, le résidu est séché à l'étuve à 103° pendant 48 h puis pesé. Le résidu représente l'indigestible à la pepsine-cellulase et nous appelons digestibilité par la pepsine-cellulase le pourcentage de matière sèche solubilisé par l'ensemble des deux traitements.

Un fourrage témoin est introduit dans chaque série et permet d'estimer les différences entre les séries.

### ESTIMATION DE LA TENEUR EN MATIERES AZOTEES NON DIGESTIBLES A PARTIR DU DOSAGE DE L'AZOTE INSOLUBLE DANS LA PEPSINE

(DULPHY, non publié)

L'équation de prédiction pour les graminées traitées à l'ammoniac anhydre est la suivante :

$$\text{MAND} = 26,4 + 0,413 \text{ IP} + 0,225 \text{ MAT} \pm 8,6 \quad r = 0,933$$

Où :

- MAND : matières azotées non digestibles en g/kg de MS
- IP = matières azotées (N x 6,25) insolubles dans la pepsine en g/kg de MS

L'azote insoluble dans la pepsine est dosé selon la méthode de GOERING et VAN SOEST (1970).

#### Mode opératoire

Peser 0,5 g échantillon sec broyé (grille 1 mm) dans un erlen de 125 ml.

Ajouter 0,5 g de pepsine et 50 ml HCl 0,1 dans l'erlen.

Boucher et agiter (bulles de verre).

Placer les erlens dans une étuve ou dans un bain-marie à 39° pendant 20 m,

Filtrer sur filtre Watman (sans azote) 12,5 cm n°4 (41 ou 54).

Laver avec précaution avec de l'eau distillée.

Prendre le papier filtre contenant le résidu insoluble dans la pepsine et le mettre dans une fiole Kjeldahl pour la détermination de la teneur en azote.

## ANNEXE 7

## MESURE DE LA VALEUR ALIMENTAIRE DES FOURRAGES

(DEMARQUILLY C. et BOISSEAU J.M., 1976)

## MATERIEL MINIMUM NECESSAIRE

Cages à digestibilité (minimum 4 - si possible 6), avec collier de maintien, auge pour la distribution des fourrages, plancher à claire-voie métallique ou en lattes de bois, bac pour la récolte des fèces. Balance pour peser les rations et le refus.

Balance pour peser les échantillons. Etuve ventilée à grande capacité avec réglage possible de la température de séchage aux environs de 80°C. Hache-paille.

Animaux: béliers castrés âgés de 1 à 5 ans d'une race ayant de bons aplombs pour résister à un séjour prolongé en cage.

## METHODE UTILISEE

## Principe général

Le coefficient de digestibilité de la matière sèche (dig. MS) est déterminé à partir de la mesure de la matière sèche offerte (MSO), refusée (MSR) et excrétée (MSF), selon la formule :

$$\text{Dig. MS} = \frac{(MSO - MSR) - MSF}{(MSO - MSR)} \times 100$$

(MSO - MSR) correspond à la matière sèche ingérée (MSI).

Les autres coefficients de digestibilité (MAT, CB) sont obtenus par analyse d'échantillons représentatifs de MSO, MSR et MSF. Compte tenu de la vitesse de transit relativement lente chez le ruminant il faut prévoir une période pré-expérimentale suffisamment longue (15 jours) avant la première récolte des fèces, ainsi qu'une durée minimum (6 jours) pour la période expérimentale proprement dite.

## DETAILS DES MESURES

*Quantités ingérées*

Pesée des quantités distribuées à chacun des deux repas journaliers de 8 h à 16 h. La teneur en matière sèche est déterminée à chaque repas sur 1000 g pour les fourrages verts, une seule fois par jour pour les fourrages secs.

Pesée des refus cumulés de 2 repas de la veille avant la distribution du premier repas de la journée et détermination de la teneur en matière sèche.

Les échantillons secs ayant servi à la détermination des teneurs en matière sèche sont cumulés par période puis broyés en totalité pour constituer l'échantillon représentatif du fourrage offert et du fourrage refusé pour la période de mesure de 6 jours.

Pour toutes les mesures de quantités ingérées, la quantité de matière sèche moyenne ingérée pour les 6 jours est exprimée en g/jour, en kg pour 100 kg de poids vif et en g par kg p<sup>0,75</sup>

*Quantités excrétées*

A chaque récolte de fèces, la quantité excrétée par chaque mouton est pesée au g près et soigneusement mélangée. On sèche ensuite à l'étuve une fraction toujours identique pendant la même période de mesure de la récolte totale, soit 1/2, 1/3, 1/4 ou 1/5. La fraction séchée est cumulée individuellement par période, mélangée puis broyée pour constituer l'échantillon représentatif des fèces excrétées par chaque animal pendant la période.

## ANNEXE 8

## SCHEMA SIMPLIFIE DE DETERMINATION DES PRINCIPALES FAMILLES BACTERIENNES

« À partir des critères « Gram, morphologie, sporulation, catalase, oxydase, dépendance à l'égard de l'oxygène »

Critères	Familles
<b>GRAM+</b>	
<b>Forme ronde</b> <i>Sporulées</i>  <i>non sporulées</i> catalase+ oxydase- Anaérobies strictes ou ana. fac. catalase - oxydase - Anaérobies fac. ou ana. strictes catalase - Anaérobies strictes	BACILLACEAE <i>Sporosarcina ureae</i>  MICROCOCCACEAE STREPTOCOCCACEAE PEPTOCOCCACEAE
<b>Forme bâtonnet</b> <i>sporulées</i> catalase + oxydase - Aérobie strictes ou ana. fac. catalase - Anaérobies strictes  <i>non sporulées</i> catalase - oxydase -	BACILLACEAE BACILLACEAE <i>Bacillus</i> BACILLACEAE <i>Clostridium</i>  LACTOBACILLACEAE
<b>Forme irrégulière</b> catalase + catalase - Anaérobies strictes catalase variable forme mycélienne	CORYNEFORMES CORYNEFORMES PROPIONIBACTERIACEAE ACTINOMYCETALES
<b>GRAM variable</b>	
<b>Forme bâtonnet</b>	CORYNEFORMES CORYNEBACTERIACEAE
<b>GRAM -</b>	
<b>Forme ronde</b> Oxydase +	NEISSERIACEAE
<b>Forme bâtonnet</b> catalase + oxydase + aérobie strictes catalase + oxydase- aérobie ou anaérobies fac. Oxydase+ anaérobies fac.	PSEUDOMONADACEAE ENTEROBACTERIACEAE VIBRIONACEAE

## ANNEXE 9

## TESTS BIOCHIMIQUES DE LA GALERIE API 20 E

<b>ONPG</b>	mise en évidence de la $\beta$ -galactosidase par hydrolyse de l'Orthonitrophénol- $\beta$ -galactopyranoside avec libération d'orthonitrophénol de couleur jaune.
<b>ADH</b>	recherche en anaérobiose d'une arginine dihydrolase dont la présence entraîne une alcalinisation du milieu et le virage de l'indicateur de pH (rouge de phénol).
<b>LDC</b>	recherche en anaérobiose d'une lysine-décarboxylase dont la présence provoque une alcalinisation du milieu et le virage de l'indicateur de pH (rouge de phénol).
<b>ODC</b>	recherche en anaérobiose d'une ornithine décarboxylase qui provoque une alcalinisation du milieu et le virage de l'indicateur de pH (rouge de phénol).
<b>CIT</b>	utilisation du citrate (citrate de SIMMONS) comme seule source de carbone, il y a alcalinisation du milieu et virage de l'indicateur de pH (bleu de bromothymol).
<b>H2S</b>	production d'H <sub>2</sub> S par réduction du thiosulfate de sodium. Le H <sub>2</sub> S produit se combine avec un sel de fer pour donner un sulfure de fer noir.
<b>URE</b>	recherche d'une uréase en anaérobiose. Il y a alcalinisation du milieu et virage de l'indicateur de pH (rouge de phénol).
<b>TDA</b>	détection d'une tryptophane désaminase mise en évidence par le perchlorure de fer.
<b>IND</b>	dégradation du tryptophane en indole par la tryptophanase, mise en évidence par le réactif de Kovacs
<b>VP</b>	test de VOGES-PROSKAUER. Production d'acétoïne à partir du pyruvate de sodium mise en évidence à pH basique avec l' $\alpha$ -naphtol (coloration rose à rouge).
<b>GEL</b>	hydrolyse de la gélatine de Kohn entraînant la diffusion d'un pigment noir dans tout le milieu.
<b>NIT</b>	réduction des nitrates en nitrites, mise en évidence avec le réactif de Griess dont on ajoute 1 ou 2 gouttes au tube Gluc. L'apparition d'une coloration rouge est un test positif.
<b>Gaz</b>	la production de gaz se manifeste lors de la fermentation des glucides par la formation de petites bulles sauf dans le tube Gluc qui renferme des nitrates.
	Test de fermentation des glucides. Mise en évidence par acidification du milieu faisant virer au jaune le bleu de bromothymol. Ce test concerne les substrats suivants: glucose, mamitol, inositol, sorbitol, rhamnose, saccharose, mélibiose, amygdaline, arabinose.



## ANNEXE 11

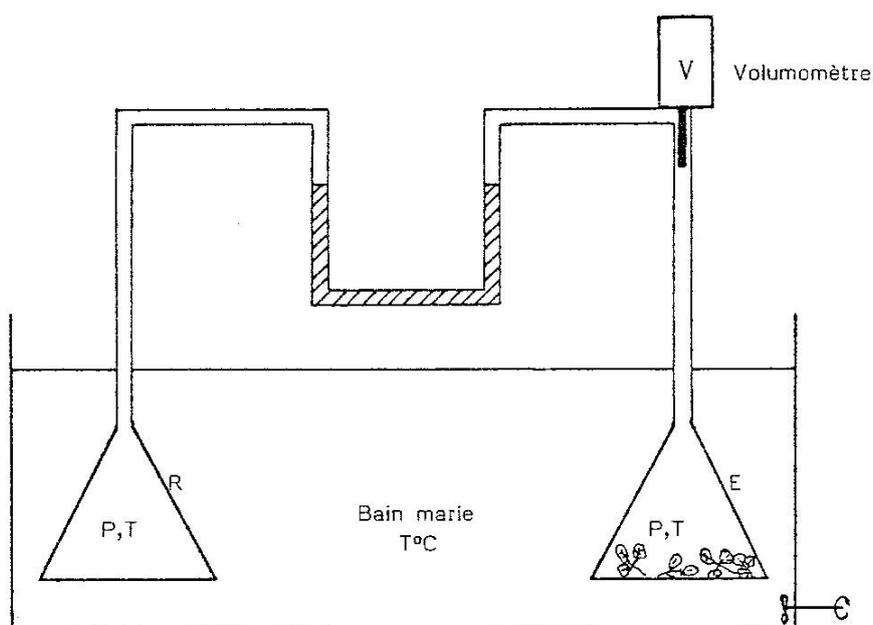
## MISE EN ŒUVRE DU RESPIROMÈTRE GILSON

## Principe

L'enceinte E contenant le corps à étudier (cf. figure 43) est reliée à une enceinte de référence R par l'intermédiaire d'un manomètre (tube en U) contenant un liquide coloré ; les deux enceintes sont maintenues à température identique T grâce à un bain-marie.

Au début de l'expérience, les pressions des deux enceintes sont équilibrées à la valeur P. Toute variation ultérieure de volume gazeux dans l'enceinte E se traduit par un déséquilibre des branches du manomètre que l'on corrige en agissant sur le piston du volumomètre de manière à rétablir la pression P dans les deux enceintes ; le déplacement du piston mesuré en microlitre permet ainsi d'obtenir la variation de volume dans l'enceinte E. La lecture donne directement le volume du gaz absorbé ou émis à la pression P correspondant à la température T, que ce gaz se trouve seul ou en mélange dans l'enceinte E. Pour les mesures portant sur la respiration des végétaux, le gaz carbonique produit est piégé par de la potasse, ce qui permet d'obtenir directement la consommation d'oxygène.

Figure 43 : Schéma de principe du respiromètre Gilson



## Description du respiromètre utilisé

L'appareil comprend :

- un bain-marie thermorégulé, chauffé électriquement (deux allures de chauffe) et maintenu en mouvement par un agitateur ; un serpentin en fond de cuve branché sur le circuit d'eau froide permet d'obtenir, par son action, une régulation souple et précise ( $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) de la température ;
- 8 manomètres-volumomètres disposant chacun d'une étendue de mesure de 500 microlitres ;

- 8 fioles dites "actives" connectées par des tuyaux capillaires souples aux branches des manomètres, dans lesquelles se déplacent les pistons des volumomètres ; les organismes à étudier sont placés dans les fioles actives ;
- une fiole dite de référence reliée par un tuyau souple et des dérivations rigides aux branches opposées des manomètres ;
- les fioles actives et la fiole de référence sont placées sur un support animé d'un mouvement de va-et-vient pendant les mesures ;
- des robinets :
  - un robinet G qui permet de relier l'atmosphère des fioles avec l'air ambiant ; ce robinet est fermé pendant les mesures ;
  - un robinet C par fiole active pour isoler éventuellement une fiole non utilisée ;
  - un robinet to par fiole active dont le rôle est d'isoler ou de relier entre elles les deux branches de chaque manomètre ; commandés par un levier général, les robinets to, ouverts avant le début de l'expérience (pression P dans les fioles actives et la fiole de référence), sont tous fermés en même temps à l'instant choisi pour commencer les mesures.

### Mode opératoire

- Mise en route du bain-marie : chauffage principal, chauffage d'appoint (qui est coupé lorsque la température désirée est atteinte), circulation d'eau, brassage.
- Mise en place du contenu des fioles actives et de 0,3 ml de potasse à 10 % dans la cupule centrale de chaque fiole (un papier filtre plié en accordéon est également placé dans la cupule, de manière à augmenter la surface d'échange afin de faciliter le piégeage du gaz carbonique par la potasse).
- Installation des fioles sur les rodages mâles reliées aux manomètres ; l'étanchéité est assurée par un film de graisse siliconée.
- Vérification de la parfaite fermeture des bouchons des fioles.
- Mise en place des fioles dans le bain-marie. Mise en route de l'agitation.
- Isolement de l'atmosphère expérimentale, constituée par l'air ambiant, par la fermeture du robinet G.
- Au bout de 20 mn, temps nécessaire pour atteindre l'équilibre (pression et température) dans toutes les fioles, abaissement du levier général, commandant l'isolement des deux branches des manomètres. Début de l'expérience proprement dite.
- Au bout de 10, 20 ou 30 mn selon l'intensité respiratoire observée, toutes les fioles actives sont ramenées à la pression P grâce aux volumomètres.
- Lecture des variations de volumes gazeux sur les volumomètres.
- En fin d'expérience, relever le levier général afin de relier entre elles, la fiole de référence et les fioles actives et d'éviter le transfert du liquide des manomètres dans les tubes capillaires.

## ANNEXE 12

## RESPIRATION DU VEGETAL ET ECHAUFFEMENT : MODELISATION

La respiration du végétal s'accompagne d'une production de chaleur qui élève sa température. La modélisation du phénomène permet d'établir la dynamique de l'échauffement du fourrage, et ainsi de vérifier que la respiration est capable d'élever la température de plusieurs dizaines de °C en quelques heures.

Hypothèses de modélisation :

- Le milieu « fourrage » étant très isolant, les balles rondes de 1,5m de diamètre sont considérées comme un milieu infini (pas de pertes thermiques)
- T : Température (en °C)
- MS : Taux de matière sèche (en %)
- c : chaleur spécifique du fourrage sec (en Kcal.°C<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>)

La chaleur spécifique C du fourrage humide est donnée par la relation :

$$C = c \frac{MS}{100} + \left(1 - \frac{MS}{100}\right) = 1 - \frac{MS}{100} (1 - c)$$

D'après GREENHILL (1959), WOOD et PARKER (1971), l'intensité respiratoire IR (en  $\mu\text{l}.\text{mn}^{-1}.\text{g MS}^{-1}$ ) varie avec MS et T, selon la formule :

$$IR = (a - b MS) \frac{e^{kT}}{e^{kT_0}} \quad (a \text{ et } b \text{ sont les coefficients déterminés à la température } T_0)$$

Sachant que la combustion de 1  $\mu\text{l}$  d'O<sub>2</sub> correspond à une production de chaleur de :

$$\frac{673}{6 \times 22,4} \times 10^{-6} = 5 \times 10^{-6} \text{ Kcal}$$

L'IR, exprimée en  $\mu\text{l}.\text{mn}^{-1}.\text{g MS}^{-1}$ , équivaut à une puissance P (en Kcal.h<sup>-1</sup>.kg MS<sup>-1</sup>) de :

$$P = (a - b MS) \frac{e^{kT}}{e^{kT_0}} \times 5 \times 10^{-6} \times 60 \times 1000 = 0,3 (a - b MS) \frac{e^{kT}}{e^{kT_0}}$$

Pendant l'intervalle de temps dt, l'énergie thermique dE produite par la respiration d'un kg de fourrage humide vaut :  $dE = \frac{P \cdot dt \cdot MS}{100}$

L'élévation de température correspondante dT du fourrage s'obtient par la relation :  $dT = \frac{dE}{C}$

$$\text{D'où : } dT = 0,3 \frac{(a - b MS) MS}{C \times 100} \times \frac{e^{kT}}{e^{kT_0}} dt \quad \text{ou encore } dT = K e^{kT} dt \quad (1)$$

$$\text{En posant } K = \frac{0,3 (a - b MS) MS}{100 (1 - \frac{MS}{100} (1 - c))} \times \frac{1}{e^{kT_0}}$$

En intégrant (1) sur l'intervalle [0, t], avec pour t : 0, T : T<sub>0</sub>, on obtient la loi de variation de la température avec le temps :  $T = -\frac{1}{k} \ln(-k T t + e^{kT_0}) \quad (2)$

Mathématiquement, cette relation est valable pour :

$$k K t + e^{-kT_0} > 0, \text{ c'est-à-dire pour } t < \frac{e^{-kT_0}}{kK}$$

La relation (2) équivaut à la relation :  $t = \frac{e^{-kT_0} - e^{-kT}}{kK}$  (t en h) qui donne le temps t nécessaire pour que la température s'élève de T<sub>0</sub> à T.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- AINSWORTH G.C., 1968. In "the Fungi" (Eds G.C. AINSWORTH and A.S. SUSSMAN), 3, 505-514. Academic Press, NEW YORK and LONDON.
- ALLEZARD V., 1984. Les prairies françaises - Présentation générale et relations avec le pédo-climat. Fourrages, 100, 9-36.
- ANDERSON A.W., 1977. The significance of yeasts and molds in foods. Reprinted from Food technology, February, 47-51.
- ANDRIEU J., DEMARQUILLY C., WEGAT-LITRE E. et WEISS P., 1981. Préviation de la valeur énergétique des foins. Préviation de la valeur nutritive des aliments des ruminants, INRA, Publ., 119-127.
- Annuaire ROUSSET, 1969. Lexique technique des produits chimiques. Imprimerie Fabre et Cie, PARIS.
- Anon., 1952. Comptes rendus des journées d'études sur la conservation des fourrages. Fanage - salage - ensilage - déshydratation artificielle. Association Française de Zootechnie, PARIS.
- Anon., 1970. Chemical conservation of hay. Annual report. Drayton Experimental Husbandry Farm, 10 p.
- Anon., 1971. Hay additive trials. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Results of experiments at Experimental Husbandry Farm, 19, 135-143.
- Anon., 1972. Chemicals additives for hay. Annual report. Drayton experimental Husbandry Farm, 29 p.
- AOAC, 1970. Official methods of analysis (11th. Ed.). Association of official analytical chemists, Washington, D.C.
- ARTOISENET P. et PAQUAY R., 1986. Effets d'un traitement au sel de l'herbe fauchée sur l'utilisation du foin par le mouton. XVIèmes journées du Grenier de Theix, 21-23 Mai 1985. Ed. INRA Publications, Route de St-Cyr, 78000 Versailles.
- ATWAL A.S. et HESLOP L., 1984. Preserving hay in large round bales with ammonia and propionic acid. Can. J. of anim. Sci., 64 (4), 1081.
- AUFRERE J., 1982. Etude de la préviation de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. Ann. Zootech., 31 (2), 111-130.
- AWAO T. et MITSUGI K., 1973. Notes on thermophilic fungi in Japan. 1. Trans. Mycol. Soc, Japan, 14, 145-160.
- BAILY, BIXIO et MALPEYRE, vers 1850. Maison rustique du 19ième siècle. Encyclopédie d'agriculture pratique. Tome I. Agriculture proprement dite. Ed. Librairie agricole de la Maison rustique. PARIS.
- BARNES R.F., 1967. Brief outline of two stage in vitro fermentation technique. Purdue University and USDA-ARS. Mineograph.
- BENHAM C.L. et REDMAN P.L., 1980. Preservation of moist hay - a review. ADAS Quarterly Review, 39, 212-225.
- BENAHMED H. et DULPHY IP., 1985. Note sur la valeur azotée des fourrages pauvres traités par l'urée ou l'ammoniac. Ann. Zootech., 34 (3), 335-346.
- BENHAMED A. et DULPHY J.P., 1986. Influence du traitement des foins à l'ammoniac sur leur valeur azotée appréciée par la méthode des bilans azotés (à paraître).
- BERTOLDI et al., 1980. cités par KAISER (1981).
- BILAI V.I. et ZAKHARCHENKO V.A., 1971 (Range of soil micromycete growth temperature). Mykrobia. Zh., 33 (1), 30-34.

- BOLLEN G.J., 1969. The selective effect of heat treatment on the microflora of a greenhouse soil. *Neth. J. Pl. Path.*, 75, 157-163.
- BOTTON B., BRETON A., FEVRE M., GUY Ph., LARPENT J.P. et VEAU P., Moisissures utiles nuisibles - importance industrielle. Ed. MASSON Paris.
- BOTHAST R.J., LANCASTER E.B. et HESSELTINE C.W., 1973. Ammonia kills spoilage molds in corn. *J. Dairy Sci.*, 56 (2), 241-245.
- BOWES P.C., 1984. Self-heating : evaluating and controlling the hazards. Ed. LONDON, Her Majesty's Stationery Office, 500 p.
- B.P., non daté. PROPCORN. Document commercial.
- B.P. CHEMICALS Ltd, 1968. Procédé pour empêcher le développement des moisissures dans les produits de récolte et les produits alimentaires pour les animaux. Brevet d'invention. France.
- BREKKE O.L., CONWAY H. F., PEPLINSKI A.J., VOJNOVICH C. et ANDERSON R.A., 1979. Deodorization of ammoniated corn by drying and other methods. *Trans. ASAE*, 1979, 22 (2), 421-424.
- BREKKE O.L., PEPLINSKI A.J., NOFSINGER G.W., CONWAY H.F., STRINGFELLOW A.C., MONTGOMERY R.R., SILMAN SOHNS V.E. et BAGLEY E.B., 1979. Aflatoxin inactivation in corn by ammonia gas : a field trial. *Trans. ASAE*, 22 (2), 425-432.
- BRITT D.G. et HUBER J.T., 1976. Preservation of and Animal performance on high moisture corn treated with ammonia or propionic acid. *J. Dairy Sci.*, 59 (4), 668-674.
- BUHLMANN V. et WURTELE K.H., 1981. Zur Konservierung von feuchtheu mit futterharnstoff. *Wirtschaftseigene Futter*, 28 (1), 35-46.
- BULIT J.F., 1977. Etude des phénomènes liés à la conservation du foin humide en vue de l'utilisation de produits conservateurs. Mémoire de fin d'études, ENITA de BORDEAUX.
- BUTLER G.W. et BAILEY R.W., 1973. Chemistry and biochemistry of herbage, Vol. 3. Ed. Academic Press, LONDON et NEW-YORK.
- CACERES, 1956. cité par BOWES (1984).
- CARLYLE R.E. et NORMAN A.G., 1941. Microbial thermogenesis in the decomposition of plant materials. Part II factors involved. *J. Bact.*, 41 (4), 699-724.
- CARTER B.L.A. et BULL A.T., 1971. The effect of oxygen tension in the medium on the morphology and growth kinetics of *Aspergillus nidulans*. *J. Gen. Microbiol.*, 65, 265-273.
- CHANG Y. et HUDSON H. J., 1967. The fungi of wheat straw compost. 1. Ecological studies. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 50, 649-666.
- CHARLICK R.H., 1974. The application of propionic acid in the conservation of hay. NIAE, Departemental Note. M/475/1365.
- CHARLICK R.H., HOLDEN M.R., KLINNER W.E. et SHEPPERSON G., 1980. The use of preservatives in hay making. *J. Agric. Engng. Res.*, 25, 87-97.
- CHEFTEL J.C., CUQ J.L. et LORIENT D., 1985. Protéines alimentaires - Biochimie - Propriétés fonctionnelles - Valeur nutritionnelle - Modifications chimiques. Ed. Technique et Documentation. Lavoisier. PARIS.
- CLARK S.C., RYLANDER R. et LARSSON L., 1983. Levels of Gram-negative Bacteria, *Aspergillus fumigatus*, dust and endotoxin at compost plants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45 (5), 1501-1505.
- CLEMENT J.M. et al., 1981. LAROUSSE AGRICOLE. Ed. LIBRAIRIE LAROUSSE, 17, rue du

Montparnasse et 114, Bd Raspail, 75006 PARIS.

CNEEMA - ITCF, 1966. Le séchage du fourrage par ventilation.

COLE G.T. et KENDRICK B., 1981. Biology of conidial fungi, Vol. 2. Ed. Academic Press.

COONEY D.G. et EMERSON R., 1964. Thermophilic fungi. Ed. W.H. FREEMAN et Co. San FRANCISCO.

CORBAZ R., GREGORY P.H. et LACEY M.E., 1963. Thermophilic and mesophilic actinomycetes in mouldy hay. J. Gen. Microbiol., 32 (3), 449-455.

CORDESSE R., 1982. Amélioration de la valeur nutritive des pailles par les traitements chimiques - Revue bibliographique. Traitement de la paille de blé dur avec l'ammoniac anhydre. Thèse Dr Ing. ENSA de MONTPELLIER.

CURRENCE H.D. et SEARCY S.W., 1975. Effect of moisture density and acid treatment on hay quality. Paper n° 75-1040 for presentation at the 1975 Annual Meeting Society of Agriculture] Engineers University of California, Davis, 22-25 June.

CURRENCE H.D., SEARCY S.W. et MATCHES A.G., 1976. Large bale storage losses. Paper n° 76-1510 for presentation at the 1976 Winter Meeting ASAE, Chicago, 14-17 December.

CURRIE J.A. et FESTENSTEIN G.N., 1971. Factors defining spontaneous heating and ignition of hay. J. Sci. Fd. Agric., 22, 223-230.

DAVIES M.H., 1974. Studies on the production and utilization of propionic acid-treated hay. M. Sc, thesis, University College of Wales, Aberystwyth.

DAVIES M.H. et WARBOYS I.B., 1978. The affect of propionic acid on the storage losses of hay, J. Br. Grassl. Soc., 33, 75-82.

DAVIS N.D., WAGENER R.E., MORGAN-JONES G. et DIENER U.L., 1975. Toxigenic, thermophilic and thermotolerant fungi. Appl. Microbiol., 29, 455-457.

DAWSON J.E., MUSGRAVE R.D. et DANIELSON R.E., 1950. Effect of fungicides on occurrence of losses due to mold respiration during cutting and storage of hay. Agron. J., 42, 534-536.

DEMARQUILLY C. et BOISSEAU J.M., 1976. Méthode de mesure de la valeur alimentaire des fourrages. C.R.Z.V. - INRA, Theix.

DEMARQUILLY C. et ANDRIEU J., 1986. Prévision de la valeur alimentaire des fourrages secs au laboratoire. XVIèmes journées du Grenier de Theix, 21-23 Mai 1985. Ed. INRA Publications, route de St-Cyr, 78000 Versailles.

DEMARQUILLY C., 1986. La fenaison : Evolution de la plante au champ entre la fauche et la récolte - Perte d'eau, métabolisme, modifications de la composition morphologique et chimique. XVIèmes journées du Grenier de Theix, 21-23 Mai 1985. Ed. INRA Publications, route de St-Cyr, 78000 Versailles.

DEPLOEY J.J. et FERGUS C.L., 1975. Growth and sporulation of thermophilic fungi and actinomycetes in O<sub>2</sub>-N<sub>2</sub> atmospheres. Mycologia, 67, 780-797.

DESCHAMPS A.M. et LEBEAULT J.M., 1980. Identification et caractères biochimiques des bactéries hémicellulolytiques d'un compost de bois et d'écorce. C.R. Acad. Sc. PARIS, 291 (série D), 485-487.

DE SOLAGES M., 1928. Une méthode simple, rationnelle et économique de conservation des fourrages. MEZENS (Tarn).

DIJKSTRA et VAN DER SCHAAF, 1955. cités par ANDRIEU et DEMARQUILLY (1986).

DIJKSTRA N.D., 1957. Onderzoek naar de voederwaarde van gebrocid hooi (the feeding

value of heated hay). 61 (15). Ministerie van Landbouw.

DI MENNA M.E., CARTER M.E. et CORDES D.O., 1972. The identification of *Mortierella wolfii* isolated from cases of abortion and pneumonia in cattle and a search for its infection source. Res. Vet. Sci., 13, 439-442.

DUBOURG J. et DEVILLERS P., 1962. La réaction de Maillard - ses méfaits en sucrerie. Industr. Alim. Agri, 79 (7-8), 625-629.

DULPHY J.P. et CABON G., 1986. Fenaison : pertes en cours de récolte et de conservation. XVIIèmes journées du Grenier de Theix, 21-23 Mai 1985. Ed. INRA Publications, route de St-Cyr, 78000 Versailles.

DULPHY JP et ZWAENEPOEL P., 1978. Les conservateurs pour foin. Bull. Techn. C.R.Z.V. Theix - INRA, 32, 13-18.

DULPHY J.P., BOISSEAU J.M. et LEBLANC F., 1984. Influence du traitement à l'ammoniac sur la valeur alimentaire de pailles distribuées à des génisses. Bull. Techn. C.R.Z.V. Theix - INRA, 55, 25-32.

DULPHY J.P., ZWAENEPOEL P., KOMAR A. et ABOULFARAJ S., 1984. Valeur alimentaire des foins traités à l'ammoniac. Ann. Zootechn., 33 (2), 187-200.

DULPHY J.P., ROUEL J. et BONY J., 1985. Utilisation de foins humides traités à l'ammoniac par des vaches laitières. Bull. Techn. C.R.Z.V. Theix - INRA, 62, 19-25.

DULPHY J. P., AGABRIEL J., GAREL J.P., GIRAUD J.M. et ROUEL J., 1986. Influence du traitement à l'ammoniac des foins tardifs sur leur valeur alimentaire : étude sur génisses et vaches allaitantes. Bull. Techn. C.R.Z.V. Theix - INRA, 63, 25-30.

ECKHOFF S.R., BENDER D.A., OKOS M.R. et PEART R.M., 1985. Preservation of chopped sweet sorghum using sulfur dioxide. Trans. ASAE, 28 (2), 606-609.

EMMONS C.W., BINFORD CH.H., UTZ J.P. et KWON-CHNUNG K.J., 1977. Medical mycology. LEA et FEBIGER, PHILADELPHIA, 3 RD ED. 592 p.

ESPINASSE J., 1984. Intoxication ammoniacale chez les ruminants. Point. Vét., 16 (85), 47-52.

EVANS H.C., 1971. Thermophilous fungi of coal spoil tips. 2. Occurrence, distribution and temperature relationships. Trans. Br. Mycol. Soc., 57, 255-266.

FALTHFULL N.T., 1971. Automated simultaneous determination of nitrogen, phosphorus, potassium and calcium on the same herbage digest solution. Laboratory Practice, 20, 41-44.

FERGUS C.L., 1982. The heat resistance of some mesophilic fungi isolated from mushroom compost. Mycologia, 74 (1), 149-152.

FERGUS C.L. et AMELUNG R.M., 1971. The heat resistance of some thermophilic fungi on mushroom compost. Mycologia, 63 (3), 675-679.

FESTENSTEIN G.N., 1966. Biochemical changes during moulding of self-heated hay in Dewar flask<sup>5</sup>. J. Sci. Fd. Agric., 17, 130-133.

FESTENTEIN G.N., 1971. Carbohydrates in hay on self-heating to ignition. J. Sci. Fd. Agric., 22, 231-234.

FESTENSTEIN G.N., LACEY J., SKINNER F.A., JENKINS P.A. et PEPYS J., 1965. Self-heating of hay in Dewar flasks and the development of farmer's lung antigens. J. Gen. Microbiol., 41, 389-407.

FINSTEIN et MORRIS, 1975. Cités par KAISER (1981).

FLEISCHMANN, 1912. Cité par GREENHILL, 1959.

- FRANZ G., 1975. Temperaturansprueche mikroskopischer bodenpilze aus klimatisch une geographisch verschiedenen standorten. Z. Pflernachr. Bodenk., 1975 (1), 73-87.
- FUJITA T., NUNOMURA K., KAGAMI I. et NISHIKAWA Y., 1976. Design and testing of a calorimeter for microbiological uses. J. Gen. Appl. Microbiol., 22, 43-50.
- GAILLARD F., 1986. L'état de la mécanisation des foins et des pailles de la parcelle à l'étable. XVIèmes journées du Grenier de Theix, 21-23 Mai 1985. Ed. INRA Publications, Route de St-Cyr, 78000 Versailles.
- GAMS W. et BRETON A., 1978. *Sagenomella sclerotialis*. sp. nov., in connected and disconnected chains of *phialoconidia* and *Sagenomella* gen. nov. segregated from *Acremonium*. Persoonia, 10, Part 1, 97-112.
- GARCIA C.E. et ALCINA M.Y., 1981. Flore microbiologica predominante en el bagazo de cana de azucar. Acta Cient. Venerolana, 32, 177-183.
- GASKILL J.O. et GILMAN J.C., 1939. Role of nitrogen in fungus thermogenesis. Plant physiol., 14, 31-53.
- GHATE S.R. et BILANSKI W.K., 1979. Treating high moisture alfalfa with urea. Trans. ASAE, 22(3), 504-506.
- GHATE S.R., BILANSKI W.K. et ROBINSON J.B., 1980. Urea and chemstor as preservatives for high moisture corn. Trans. ASAE, 23 (6), 1569-1572.
- GHATE S.R., BILANSKI W.K. et WINCH JE., 1981. Urea as a forage preservative. Trans. ASAE, 24 (3), 564-567.
- GILMAN J.C. et BARRON D.H., 1930. Effect of molds on temperature of stored grain. Plant physiol., 5, 565-573.
- GIRARDIN J. et DU BREUIL A., vers 1850. Cours élémentaire d'agriculture. Tome II, 605 p. Edit. LANGLOIS et LECLERCQ, VICTOR MASSON, PARIS.
- GOERING H.K. et GORDON C.H., 1973. Chemical aids to preservation of high moisture feeds. J. Dairy Sci., 56, 1347-1351.
- GOERING H.K. et VAN SOEST P.J., 1970. Forage fiber analysis (Apparatus, Reagents, Proceoures and some applications). Agriculture Handbook n° 379. USDA, U.S. Government Printing Office.
- GOERING H.K. et VAN SOEST P.J., 1973. Relative susceptibility of forages to heat damage as affected by moisture, temperature and pH. J. Dairy Sci., 56 (1), 137-143.
- GOODFELLOW M., MORDARSKI M. et WILLIAMS S.T., 1984. The biology of the actinomycetes. Ed. Ac. Press.
- GORDON A.H. et CHESSON A., 1983. The effect of prolonged storage on the digestibility and nitrogen content of ammonia-treated barley straw. Anim. Fd. Sci. Technol., 8, 147-153.
- GREENHILL W.L., 1959. The respiration drift of harvested pasture plants during drying. J. Sci. Food Agric., 10, 495-501.
- GREGORY RH., FESTENSTEIN G.N., LACEY M.E., SKINNER F.A., PEPYS J. et JENKINS P.A., 1964. Farmer's lung disease : the development of antigens in moulding hay. J. Gen. Microbiol., 36, 429-439.
- GREGORY P.H. et LACEY M.E., 1963. Mycological examination of dust from mouldy hay associated with farmer's lung disease. J. Gen. Microbiol., 30, 75-88.
- GREGORY P.H., LACEY M.E., FESTENSTEIN G.N. et SKINNER F.A., 1963. Microbial and biochemical changes during the moulding of hay. J. Gen. Microbiol., 33, 147-174.

- HARRIGAN W.F. et Mc CANCE M.E., 1976. Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press. LONDON-NEW YORK-SAN FRANCISCO, 452 p.
- HARRINGTON, 1945. Cité par BOWES (1984).
- HARRISON H.P., 1985. Preservation of large round bales at high moisture. Trans. ASAE, 28 (3), 675-679, 686.
- HARRISON J.W., 1934-1935. Thermogenesis in hay - in habiting fungi. J. Sci., 9, 37-59.
- HAYHOE H.N., BOISVERT J. et COUTURE J.N., 1986. Contraintes climatiques durant la période de fenaison. Symposium sur les plantes fourragères, 3 Avril 1986, Le Concorde, QUEBEC.
- HEDGER J.N. et HUDSON H.J., 1974. Nutritional studies of *thermomyces lanuginosus* from wheat straw compost. Trans. Br. Mycol. Soc., 62, 129-143.
- HELLER R., 1969. Biologie végétale. II. Nutrition et métabolisme. Editeurs MASSON et Cie, 579 p.
- HEMMING J.G., 1980. Slow drying of hay and straw bigrolls using urea as a prohibitive. Sveriges Landbruksuniversitet, Uppsala, 64, 15 p.
- HERMAN J.P.M., JAKUBCZAK E., IZARD D. et LECLERC H., 1980. Apport de la microcalorimétrie dans la taxonomie de quelques groupes d'Enterobacteriaceae. Can. J. Microbiol., 26 (4), 413-419.
- HODEN A. et DULPHY J.P., 1985. Azote non protéique et tannage des tourteaux, économiseurs de protéines chez les ruminants. B.T.I., n spécial Protéines, 397-398, 145-146.
- HOFFMAN E.J. et BRADSHAW M.A., 1937. Losses of organic substances in the spontaneous heating of alfalfa hay. J. Agric. Res., 54 (3), 159-184.
- HOFFNER S.E.S., MEREDITH R.W.J. et KEMP R.B., 1985. Estimation of heat production by cultured cells in suspension using semi-automated flow microcalorimetry. Cytobios, 42, 71-80.
- HOPKINS R.B. et WIAN T.D.E., 1955. Chemicals as mould inhibitors in hay. Michigan quarterly Bulletin 38, 431-449.
- HUBER J.T. et SANTANA O.P., 1972. Ammonia-treated corn silage for dairy cattle. J. Dairy Sci. 55, 489-493.
- HUGUES M., 1978. The measurement of propionic acid in hay. Dep. Note ON/CL/829/07004 Nat. Inst. Agric. Engng. SILSOE (unpubl.).
- HUITSON J.I., 1968. Cereals preservation with propionic acid. Process Bioch., 3, 31-32.
- INRA, 1978. Alimentation des ruminants. Ed. INRA Publications (Route de Saint-Cyr), 78000 Versailles,
- INRAP, 1984. Alimentation des bovins. Ed. ITEB-TECHNIPEL, PARIS.
- ITCF, 1970. Le séchage du fourrage par ventilation. Ed. ITCF, 8, Avenue du Président-Wilson, Paris.
- ITCF, 1982. Préstockage du maïs humide avec une protection antifongique par l'anhydride sulfureux SO<sub>2</sub> (Oct.-Nov.-Déc. 1982). Compte rendu d'essai, 34 p.
- ITCF, BCMEA et EDE, 1985. Le foin séché par ventilation. Ed. GIE LAIT Viande Rhône-Alpes.
- ITEB, 1981. Enrichissement de l'ensilage de maïs en ammoniac anhydre - Observations sur les chantiers et sur l'utilisation par les vaches laitières. Etude n° 811061.
- JAMES J.H., RETTGER L.F. et THOM C., 1928. Microbial thermogenesis. II. Heat production in moist organic materials with special reference to the part played by microorganisms. J. Bact., 15 (2), 117-

141.

JARRIGE R., 1962. La valeur alimentaire des foins. Bull. des CETA. Journées CETA. Etude n° 652.

JARRIGE R., 1986. Place des fourrages secs dans l'alimentation des herbivores domestiques. XVIèmes journées du Grenier de Theix, 21-23 Mai 1985. Ed. INRA Publications, Route de St-Cyr, 78000 Versailles.

JARRIGE R., DEMARQUILLY C. et DULPHY J.P. 1982. La conservation des fourrages. Bull. Tech. C.R.Z.V. Theix, INRA, 50, 5-32.

JAY J.M., 1978. Preservation of foods by drying. in : Modern food microbiology, p. 237-252. Van Nostrand Reinhold Company, NEW-YORK.

JENSEN H.L., 1931. The fungus flore of the soil. Soil Sci., 31, 123-158.

JENSEN A.H., BREKKE O.L., FRANCK G.R. et PEPLINSKI A.J., 1977. Acceptance and utilization by swine of aflatoxin - contaminated corn treated with aqueous or gaseous ammonia. J. Anim. Sci., 45 (1), 8-12.

JODICE R., FERRARA R., CERUTI-SCURTI J., FIUSSELLO N., OBERT F. et CORTELLEZZI G.C., 1974/75. Miceti termofili. 1. Contributo sull'isolamento, sul metabolismo e sulla capacita di degradazione di materiali organici. Allionia, 20, 53-74.

JOHNSON J.C. et Mc CORMICK W.C., 1976. Influence of a preservative on bermudagrass hay stored with approximatively 16 and 24 % moisture content. J. anim. Sci., 42 (1), 175-179.

JONES, 1979. cité par DEMARQUILLY, 1986.

JONES A.L., MORROW R.E., HIRES W.G., GARNER G.B. et WILLIAMS J.E., 1985. Quality evaluation of large round bales treated with sodium diacetate or anhydrous ammonia. Trans. ASAE, 28 (4), 1043-1046.

JOURNET M., HODEN A., PION R., PRUGNAUD J., DEMARQUILLY C., LECHOPIER P. et BARRE F., 1982. Ensilages de maïs et ammoniac anhydre - Conséquences au niveau de leur valeur azotée (PDI). Bull. Techn. C.R.Z.V. Theix, INRA, 49, 15-22.

KAISER M., 1981. Analyse microbiologique des composts. Dans rapport du Colloque international "Composts - amendements humides et organiques" - 16-17 Novembre 1991, PARIS.

KANE E.A., JACOBSON W.C. et MOORE L.A., 1949. Digestibility studies on dairy cattle a comparison of the total collection methods ; conventional vs chromium oxide and lignin techniques. J. Anim. Sci., 8, 623.

KASPERSSON A., HLODVERSSON R., PALMGREN U. et LINDGREN S., 1984. Microbial and biochemical changes occurring during deterioration of hay and preservative effect of urea. Swedish J. Agric. Res., 14, 127-133.

KENNEDY W.K. et SCHENK R.U., 1954. The use of fungicides in the preservation of moist hay. Agron.J., 46, 252-257.

KERR J.A.M. et BROWN W.O., 1965. A comparison of nutrient losses in baled hay from forage harvested, crimped or tedded swards with those in barn-drying. 1. Brit. Grassl. Soc., 20, 156-163.

KLINNER W.E., 1976. Mechanical and chemical field treatment of grass for conservation. Proceedings. of the Annual Conference of Institution of Agriculture' Engineers, LONDON, 29 p.

KLINNER W.E. et HOLDEN M.R., 1978. Advances with chemical preservatives for hay. Intl Grain and forage harvesting conf. Proc., ASAE, 303-307.

KLINNER W.E. et SHEPPERSON G., 1975. The state of haymaking technology - a review. J. Br. Grassld Soc., 30, 259-266.

- KLOPOTEK A. VON., 1962. Ueber das vorkommen und verhalten von schimmelpilzen bei der kompostierung staedtischer abfallstoffe. *Antonie van leeuwenhoek*, 28, 141-160.
- KNAPP W.R., HOLT D.A. et LECHTENBERG V.L., 1974. Anhydrous ammonia and propionic acid as hay preservatives. *Agron. J.*, 66, 823-824.
- KNOESEL D. et RESZ A., 1973. Pilze aus muellkompost. *Staedtehygiene*, 6, 6 pp.
- KOEGEL R.G., STRAUB R.J. et SHINNERS K.J., 1995. Ammonia treatment of large and small hay packages. *Trans. ASAE*, 28 (3), 726-730.
- KOHN F.S. et HENNEMAN S.A., 1977. Novel quality assurance procedure for the Gram stain. *J. Amer. Med. Technol.*, 39, 20-21.
- KOMAR A., 1982. Etude du traitement à l'ammoniac pour la valorisation des fourrages pauvres. Thèse Dr. Ing. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Montpellier.
- KOZAKIEWICZ Z. et CLARKE J.H., 1973. Techniques for determining toxicity of propionic acid to fungi from stored grain. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 61, 355-367.
- KREGER-VAN RIJ, 1965. cité par VAN UDEN N. et BUCKLEY H. dans *The "YEASTS"*, LODDER J., 1970. NORTH-HOLLAND Publishing Company - Amsterdam LONDON.
- KUNTZEL U. et PAHLOW G., 1980. Wassefrei ammoniak zur konservierung von "Feuchtheu". *Wirtschaftseigene Futter*, 26, 39-52.
- KUNTZEL U., LESHEM Y. et PAHLOW G., 1980. Anhydrous ammonia as a hay preservative. Forage conservation in the 80's, Editor C. Thomas, Occasional Symp. n° 11, *Brit. Grassl. Soc. Brighton*, 252-256.
- KUSHNER Di., 1978. *Microbial life in extreme environments*. Academic Press, LONDON.
- LACEY J., 1981. cité par GOODFELLOW, MORDARSKI et WILLIAMS, 1984.
- LACEY J. et DUTKIEWICZ J., 1976. Methods for examining the microflora of mouldy hay. *J. Appl. Bact.*, 41, 13-27.
- LACEY J. et LORD K.A., 1977. Methods for testing chemical additives to prevent moulding of hay. *Ann. Appl. Biol.*, 87, 327-335.
- LACEY J., LORD K.A., KING H.G.C. et MANLOVE R., 1978. Preservation of baled hay with propionic and formic acids and a proprietary additive. *Ann. Appl. Biol.*, 88, 65-73.
- L'AIR LIQUIDE, non daté. L'ammoniac anhydre - engrais azoté. 22 p.
- LANCASTER E.B., STRINGFELLOW A.C. et BREKKE O.L., 1975. Treating shelled corn with ammonia - Application via ammonia - air mixtures. *Trans. ASAE*, 18 (6), 1156-1164.
- LARPENT J.P. et LARPENT-GOURGAUD M., 1985. *Eléments de microbiologie*. HERMANN, Editeurs des Sciences et des Arts.
- LANCASTER E.B., HALL G.E. et BREKKE O.L., 1974. Treating corn with ammonia - Behavior of the corn-water-ammonia system. *Trans. ASAE*, 17 (2), 331-334.
- LE BARS J., 1976. Mycoflore des fourrages secs : croissance et développement des espèces selon les conditions hydrothermiques de conservation. *Rev. Mycol.*, 10, 347-360.
- LEA C.H. et HANNAN R.S., 1949. Studies between proteins and reducing sugars in the dry state. I. The effect of activity of water, pH and temperature on the primary reaction between casein and glucose. *BIOCHEM and Biophys. Acta.*, 3, 313-325.
- LE BARS J. et ESCOULA L., 1973. Techniques d'homogénéisation, de dilution et

d'ensemencement en vue de l'analyse mycologique de fourrages secs et ensilés. Rapport présenté lors du 5ème Colloque de la Société Française de Phytopharmacie, 10 p.

LE BARS J. et ESCOULA G., 1974. Champignons contaminant les fourrages. Aspects toxicologiques. *L'Alim. et la vie*, 62 (2), 125-142.

LE BARS J. et ESCOULA L., 1974. Mycoflore des fourrages secs. I. Inventaire et fréquence des espèces. *Bull. Soc. Sci. Hyg. Alim.*, 62 (2), 273-282.

LECHTENBERG V.L., BUETTNER M.R., HOLT D.A., RICHEY C.B. et PARSONS S.D., 1978. Hay preservation by anhydrous ammonia treatment. *Intl grain and forage harvesting conf. Proc.*, ASAE, 327-328 et 338.

LEHTOKARI M., NIKKOLA P. et PAATERO J., 1983. Determination of ATP form compost using the firefly bioluminescence technique. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 17, 187-190.

LESAGE L., RICHARD-MOLARD D., DRAPRON R. et CAHAGNIER B., 1985. Développement des moisissures en relation avec l'acidification de grains de maïs en cours de stockage. *Sci. Aliments*, 5, 483-499.

LEWIS B.D., 1951. Prevention of mould on high moisture hay with emphasis on the fatty acids as fungicidal agents. M.Sc. Thesis, Michigan State University, U.S.A.

LORD K.A., CAYLEY G.R., et LACEY J., 1981. Laboratory application of preservatives to hay and the effects of irregular distribution on mould development. *Anim. Sci. Technol.*, 6, 73-82.

LORD K.A. et LACEY J., 1978. Chemicals to prevent the moulding of hay and other crops. *J. Sci. Food Agric.*, 29, 574-575.

LOTZ A., 1983. Feucht getreide konservierung durch chemische zusätze. *Grundlagen der landtechnik*, 33 (5), 148-153.

LUECK E., 1980. Antimicrobial Food additives. Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, NEW-YORK.

MALIK K.A. et SANDHU G.R., 1973. Some studies on the fungi of kallar grass (*diplachne fusca*) compost. *Pakist. J. Bot.*, 5, 57-63.

MARLEY S.J., WILCOX C. et DANLEY M.M., 1976. The storage characteristics of large round bales. Paper n° 76-1509 for presentation at the Winter Meeting ASAE, Chicago, 14-17 December.

MARRE E., 1928. The importance of salt in the feeding of dairy cows. *World's dairy Congress* June 26th, July 12 th.

MARSHALL C.R. et WALKLEY V.T., 1952. Some aspects of microbiology applied to commercial apple juice production. 5. Thermal death rates of spoilage organisms in apple juice. *Fd. Res.*, 17, 204-211.

Mc GHEE J.E., BAGLEY E.B. et BOTHAST R.J., 1979. Treating corn with aqua ammonia : effect on mea constituents. *Cereal Chem.*, 56 (3), 128-129.

MELVIN J.F. et SIMPSON B., 1963. Chemical changes and respiratory drift during the air drying of rye grass. *J. Sci. Fd Agric.*, 14, 228-234.

MICHEL, 1971. cité par KOMAR, 1982.

MIEHE, 1907, cité par FESTENSTEIN et al. (1965).

MONROE C.F., HILTON J.H., HODGSON R.E., KING W.A. et KRAUSS W.E., 1946. The loss of nutrients in hay and meadow crop silage during storage. *J. Dairy Sci.*, 29, 239-256.

MOREAU C. et M., 1959. Technique simple de comparaison du pouvoir fongicide de diverses substances. Mesure de l'action répressive sur la phase linéaire de croissance. *Rev. de Mycol.*, 24 (1), 59-64.

- MOREAU C., 1968. Moisissures toxiques dans l'alimentation. Ed. Le Chevalier, PARIS, 359 p.
- MOREAU C., 1974. Quelques manifestations de mycotoxicoses nouvelles ou peu connues en France. Rec. Med. Vet., 150, 17-26.
- MOUCHACCA J., POLY P. et JOLY F., 1970. Essais d'application de méthodes de traitement numérique des informations systématiques. 5. Etude de l'action de fortes concentrations de NaCl sur le développement de quelques champignons des sols désertiques. Bull. Trimest. Soc. Mycol. Fr., 86, 883-910.
- MOUBASHER A.H., ELNAGHY M.A. et ABDEL-HAFEZ S.I., 1972. Studies on the fungus flora of three grains in Egypt. Mycopath. Mycol. Appl., 47, 261-274.
- MOSSEL, 1962. cité par ANDERSON (1977).
- MUJUMDAR S.B. et BHIDE V.P., 1970. Effect of carbon dioxide concentration on fungi from rhizosphere and non-rhizosphere soil of sugar cane. J. Univ. Poona., 38, 137-141.
- MULLER A. et PECCATE J.R., 1982. Utilisation d'un ensilage d'herbe enrichi en ammoniac par de jeunes bovins en croissance. Bull. Techn. C.R.Z.V. Theix, INRA, 49, 51-57.
- MURPHY D.J., 1982. Silo fire extinguishment. Trans. ASAE, 25 (24), 1015-1018.
- MUSSELMAN, 1937. cité par CURRIE et FESTENSTEIN (1971).
- NASH J.M., 1978. Crop conservation and storage in cool temperature climates. Ed. Pergamon Press.
- NASH M.J. et EASSON D.L., 1971. Propionic acid treatment of hay. Annual Report, Edinburgh School of Agricultural, 49-50.
- NASH M.J. et EASSON D.L., 1977. Preservation of moist hay with propionic acid. J. stored Prod. Res., 13, 67-75.
- NEHRIR H., KJELGAARD W.L., ANDERSON P.M., LONG T.A. et HOFFMAN L.D., 1978. Chemical additives and hay attributes. Trans. ASAE, 21 (2), 217-221 et 226.
- NICOULAUD J.P., 1975. Compte rendu de l'expérimentation de divers conservateurs de fourrages. CNEEMA, B.I., 211-212, 51-55.
- NOFSINGER G.W., BOTHAST R.J. et ANDERSON R.A., 1979. Field trials using extenders for ambient conditioning high moisture corn. Trans. ASAE, 22 (5), 1208-1213.
- NOFSINGER G.W. et ANDERSON R.A., 1979. Note on inactivation of aflatoxin in Ammonia-treated shelled corn at low temperatures. Cereal Chem., 56 (2), 120-121.
- NOFSINGER G.W., BOTHAST R.J., LANCASTER E.B. et BAGLEY E.B., 1977. Ammonia-supplemented ambient temperature drying of high-moisture corn. Trans. ASAE, 20 (6), 1151-1154 et 1159.
- OHTOMO T., SUGIYAMA J. et IIZUKA., 1975. Physiology and fine structure in chlamydospore of *thermomyces lanuginosus*, A. Thermophilic hyphomycete. Trans. Mycol. Soc. Japan, 16, 289-300.
- OHYAMA Y., HARA S. et MASAKI S., 1977. The use of caproic acid to prevent aerobic deterioration of silages after opening, with special reference to the amounts and time of application. J. Sci. Fd Agric., 28, 369-374.
- PAGE HARRISON H., 1985. Preservation of large round bales at high moisture. Transactions of the ASAE, 28 (3), 675-679 et 686.
- PAHLOW G., 1981. influence of ammonia on the growth of pathogenic actinomycetes in preserved moist hay. Landbanforschung Volkenrode, 31 (2), 69-71.
- PARKE D., DUMONT A.G. et BOYCE D.S., 1978. A mathematical model to study forage

conservation methods. J. Brit. Grassl. Soc., 33, 261-273.

PASCAL P. et BAUD P., 1932. Traité de chimie minérale - Tome III. Edit. MASSON, 79-105.

PELHATE J., 1968. Inventaire de la mycoflore des blés de conservation. Bull. Trimest. Soc. Mycol. Fr., 84, 127-143.

PELHATE J., 1973. Stabilisation de la mycoflore de maïs-grains humides ensilés. Ann. Technol. Agric. 1973, 22 (4), 647-661.

PELHATE J., 1973 a. Moisissures des maïs-grains en cours de conservation - Leur inhibition par l'acide propionique. Bull. Soc. Mycol. Fr., 89 (1), 53-65.

PELHATE J., 1977. Protection des fourrages ensilés contre la spoliation fongique. Ann. Technol. Agric., 27 (3), 319-330.

PELHATE J., 1982. Premières observations relatives au traitement par l'ammoniac de grains de conservation. 107ème Congrès National des Sociétés Savantes, Brest, Sciences, Fasc. I., 173-180.

PEPLINSKI A.J., BREKKE O.L., BOTHAST R.J. et BLACK L.T., 1978. High moisture corn - an extended preservation trial with ammonia. Trans. ASAE, 21 (4), 773-776 et 781.

PEPYS J., JENKINS P.A., FESTENSTEIN G.N., GREGORY P.H., LACEY M.E. et SKINNER F.A., 1963. Farmer's lung. thermophilic actinomycetes as a source of "farmer's lung hay" antigen. The LANCET. September 21, 607-611.

PITT J.I. et CHRISTIAN J.H.B., 1970. Heat resistance of xerophilic fungi based on microscopical assessment of spore survival. Appl. Microbiol., 20, 682-686.

PITT J.I., 1981. Extrait de Biology of conidial fungi. Vol. 2. Ed. Cole et Kendrick Academie Press.

PIZARRO E.A., 1972. Comparative studies on moist hay. Ph. D. Thesis, University College of Wales, Aberystwyth,

POISSON J. et CAHAGNIER B., 1973. Traitement du maïs grain humide par irradiation gamma - Aspects microbiologiques. Ann. Technol. Agric., 22. (4), 757-772.

RAPER K.B. et FENNELL D.I., 1965. The genus *aspergillus*. WILLIAMS et WILKINS CO., BALTIMORE. REPRINT HAFNER, NEW-YORK, 1968.

REES D.V.H., 1982. A discussion of sources of dry matter loss during the process of haymaking. J. Agric. Engng Ras., 27, 469-479.

RENAULT L., JOLIVET G., FREMONT Y., GOUSSE R., KIM A., LAPLASSOTTE J. et MUREAU G., 1974, Mycotoxicoles et alimentation animale - une question d'actualité. Rec. Méd. Vét., 150 (10), 907-914.

RESZ A., 1968. Untersuchungen ueber den mikroorganismenbesatz von belueftetem. Heu. Zentbf. Bakt. Parasitkde. Abt. 2, 122, 597-634.

RIDE J.P. et DRYSDALE R.B., 1972. A rapid method for the chemical estimation of filamentous fungi in plant tissue. Phys. Plant Path., 2, 7.

ROTHBAUM H.P., 1963. Spontaneous combustion of hay. J. appl. Chem., 13, 291-302.

SAMSON R.A., 1974. Paecilomyces and some allied hyphomycetes. Stud. Mycol. Baarn, 6, 119 p.

SASAKI Y. et YOSHIDA T., 1971. Microbiological studies on river pollution, 1. On molds in slime of paper mills. Mem. Fac. Agric. HOKKAIDO Univ., 8, 59-70.

SAUER D.B., HODGES T.D., BURROUGHS R. et CONVERSE H.H., 1975. Comparison of propionic acid and methylene bis propionate as grain preservatives. Trans. ASAE, 18 (6), 1162-1164.

- S.C.E.E.S., 1984. Les prairies en 1982. Collections de statistique agricole, 223, 71 p.
- SCHENK R.U. et KENNEKY W.K., 1955. Laboratory evaluation of fungicides for the preservation of moist hay. *Agronomy Journal*, 47, 64-69.
- SEMENIUK G., 1954. Microflora in "Storage of cereal grains and their products". Published by American Association of Cereal Chemists, St-Paul, Minnesota.
- SENEZ J.C. et BELAICH J.P., 1963. Etude microcalorimétrique de la croissance bactérienne et du contrôle de l'activité métabolique par le phosphate. *Coll. Int. Cent. Natn. Rech. Scient.*, 124, 357-369.
- SHEPHERD, 1959. cité par DEMARQUILLY, 1986.
- SIMPSON B., 1961. Effect of crushing on the respiratory drift of pasture plants during drying. *J. Sci. Food. Agric.*, 12, 706-712.
- SMITH D.F. et LYNCH C.P., 1973. *Aspergillus fumigatus* in samples of moldy silage. *J. Dairy Sci.*, 56, 828-829.
- SMITH R.D., PEART R.M., ECKHOFF S.R. et OKOS M.R., 1985. Preservation of corn silage sugars with sulfur dioxide. *Trans. ASAE*, 28 (5), 1650-1656.
- SMITH R.E. et STEVENSON K.R., 1975. Factors influencing the growth of fungi in high-moisture corn treated with propionic acid. *Int. Biodetn. Bull.*, 11 (3), 97-100.
- SNOW D., 1945. Mould deterioration of feeding stuffs in relation to humidity of storage. III. The isolation of mould species from feeding stuffs stored at different humidities. *Ann. Applied Bio.*, 32, 40-44.
- SOMOGYI M., 1952. Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, 195, 19-23.
- SPINDLER F., 1984. Le mode d'exploitation des prairies et leur part dans le bilan des ressources fourragères du troupeau. *Fourrages*, 100, 105-128.
- STUART L.S. et JAMES L.H., 1931. The effect of salt on the microbial heating of alfalfa hay. *J. Agric. Res.*, 42, 657-664.
- SUNDSTOL F., COXWORTH E. et MOWAT D.N., 1978. Amélioration de la valeur nutritive de la paille par le traitement à l'ammoniac. *Revue Mondiale de Zootechnie*, 26, 13-21.
- SWANSON C.O., CALL L.E. et SALMON S.C., 1919. Losses of organic matter in making brown and black alfalfa. *J. Agric. Res.*, 18, 299-304.
- TABAK H.H. et COOKE W.B., 1968. Growth and metabolism of fungi in an atmosphere of nitrogen. *Mycologia*, 60, 115-140.
- TANSEY M.R. et BROCK T.D., 1971. Isolation of thermophilic and thermotolerant fungi from hot spring effluents and thermal soils of yellow-stone park. *Bact. Proc.*, 71, 36.
- TANSEY M.R. et BROCK T.D., 1978. Microbial life at high temperatures : ecological aspects. Chapter 5, 159-215. Published in : KUSHNER D.J., *Microbial life in extreme environments*, Academic Press, London.
- TEAGUE G.S., 1974. The bacteriology of fermenting dark-fired tobacco. *Tobacco*, 176 (16), 33. •
- TERRIEN I. et GUINIER A., 1981. *La Physique*. Ed. GAUTHIER-VILLARS.
- TETLOW R.M., 1981. Urea as a hay preservative under aerobic and anaerobic conditions. Grassland Research Institute, Hurley, Maidenhead, Report 1981, 66-67.
- THIERRY A., 1986. Etude de l'évolution des propriétés biochimiques au cours de l'humidification biologique. Thèse Dr. ing. Académie de Montpellier.

- THORLACEUS S.O. et ROBERTSON J.A., 1984. Effectiveness of anhydrous ammonia as a preservative for high-moisture hay. *Can. J. Anim. Sci.*, 64, 867-880.
- TILLEY J.M.A. et TERRY R.A., 1963. A two stage technique for the in-vitro digestion of forage crops. *J. Brit. Grassl. Soc.*, 18, 104.
- TRUNINGER E., 1929. cité par CURRIE et FESTENSTEIN (1971).
- TURESSON G., 1916. The presence and significance of molds in the alimentary canal of man and higher animals. *Sv. Bot. Tidskr.*, 10, 1-27.
- VALION F., 1986. Climat et fenaison. XVIèmes journées du Grenier de Theix, 21-23 Mai 1985. Ed. INRA Publications, route de St-Cyr, 70000 Versailles.
- VANCAUWENBERGE J.E., ECKHOFF S.R., BOTHAST R.J. et ANDERSON R.A., 1982. A comparison of the trickle-ammonia process with the trickle sulfur-dioxide process for drying high-moisture corn, *Trans. ASAE*, 25 (5), 1431-1434.
- VAN SOEST P.J., 1965. Use of detergents in analysis of fibrous feeds. III. Study of effects of heating and drying on yield of fiber and lignin in forages. *J.Ass. Offici. Agr. Chemists*, 48, 785.
- VAN SOEST P.J. et WINE R.F-I., 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of cell-wall constituents. *J.Ass. Offici. Agr. Chemists.*, 50, 50-55.
- VIROBEN G. et DELORT-LAVAL J., 1978. Inactivation des aflatoxines par traitement à l'ammoniac. Etudes *in vitro* de tourteaux d'arachide détoxiqués. *Ann. Nutr. Alim.*, 32, 167-185.
- WATSON S.J. et NASH M.J., 1960. The conservation of grass and forage crops. Ed. Oliver and Boy Ltd. Edinburgh.
- WEATHERBURN, 1967. cité par KOMAR, 1982.
- WEENDE, 1809. Norme ISO-AFNOR (NF. V03 040, 1977).
- WEISS W.P., COLENBRANDER V.F. et LECHTENBERG V.L., 1982. Feeding dairy cows high moisture alfalfa hay preserved with anhydrous ammonia. *J. Dairy Sci.*, 65, 1212-1218.
- WIERINGA G.W., SCHUKKING S., KAPPELLE D. et DEHAAN S.J., 1961. cité par GOERING et VAN SOEST, 1973.
- WINTHER P., SKOVBORG E.B., KRISTENSEN V.F., WOLSTRUP J., HOLM E. et LUND A., 1983. Different methods for preservation of hay. Beretning fra Faellesudvalget for Statens PTanteavls og husdyrbrugsforsog, 8-10.
- WOOD J.G.M. et PARKER J., 1971. Respiration during the drying of hay. *J. Agric. Engng Ras.*, 16(3), 179-191.
- WOOLFORD M.K. et TETLOW R.M., 1984. The effect of anhydrous ammonia and moisture content on the preservation and chemical composition of perennial rye-grass hay. *Anim. Fd Sci. Technol.*, 11, 159-166.
- YEMM E.W. et WILLIS A.J., 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by Anthrone. *Bioch. J.*, 57, 508-514.
- YAMARA M. et NUMAKAWA T., 1978. Improvement of preservation and quality of semi-dried hay by anhydrous ammonia treatment. *Jap. J. Zootech. Sci.*, 49, 648-652.
- ZWAENEPOEL P., DULPHY J.P., PELHATE J. et BEAULIEU G., 1986. Les effets de l'ammoniac anhydre sur la conservation et la valeur alimentaire de foins humides de ray-grass. 1. Effet de la dose d'ammoniac selon la teneur du foin en matière sèche. *Bull. Tech. du Machinisme et de l'Équipement Agricoles*, 1, 15-25.

ZWAENEPOEL P., DULPHY J.P., PELHATE J. et BRETON A., 1986. La conservation des foins humides. XVIèmes journées du Grenier de Theix, 21-23 Mai 1985. Ed. INRA Publications, Route de St-Cyr, 78000 VERSAILLES.

ZWAENEPOEL P., PELISSIER D., DULPHY J.P. et BRETON A., 1979. Etude du conservateur pour foin LITTOFOIN. 1979. CNEEMA, B.I., 258, 47-57.

ZWAENEPOEL Philippe, 1986

## BIODETERIORATIONS ET CONSERVATION DES FOINS HUMIDES

U.F.R. de Recherche Scientifique et Technique, UNIVERSITE DE CLERMONT II

### RESUME

L'évolution physico-chimique et microbiologique de foins humides conditionnés en balles rondes a été suivie durant le stockage ; la dynamique des populations microbiennes, conduisant au remplacement de la flore du champ par une flore de stockage à dominantes thermophile et xérophile n'est pas apparue corrélée avec le pic initial de température.

L'étude du déterminisme des phénomènes d'échauffement a été poursuivie à l'échelle du laboratoire à partir de mesures d'intensité respiratoire de végétaux coupés et d'expériences sur la conservation de foins stérilisés et contaminés ; les rôles respectifs de la respiration du végétal dans la thermogenèse initiale et des microorganismes dans la persistance de l'échauffement et la disparition d'une partie de la matière organique ont été établis.

L'expérimentation de conservateurs liquides et solides n'a pas donné de résultats satisfaisants en raison de l'imparfaite homogénéité du traitement réalisé au champ (cas de l'acide propionique), aggravée pour les spécialités commerciales et le chlorure de sodium par l'insuffisance des doses recommandées et une action inhibitrice limitée.

L'ammoniac introduit par fumigation à l'intérieur de meules bâchées permet d'améliorer nettement la conservation mais implique des précautions particulières lors de la distribution des foins traités aux animaux.

#### Mots-clés

Foin  
Conservation  
Respiration des végétaux  
Microorganismes thermophiles  
Thermogenèse  
Conservateurs  
Acide propionique  
Ammoniac