



HAL
open science

Etude de l'effet de l'origine botanique de l'amidon sur sa digestibilité antécoecale chez le cheval : mise en place d'une méthode de référence in sacco

Alice Jevardat de Fombelle-Guermonprez

► To cite this version:

Alice Jevardat de Fombelle-Guermonprez. Etude de l'effet de l'origine botanique de l'amidon sur sa digestibilité antécoecale chez le cheval : mise en place d'une méthode de référence in sacco. Autre [q-bio.OT]. INAPG (AgroParisTech), 2003. Français. NNT : 2003INAP0034 . tel-00006594

HAL Id: tel-00006594

<https://pastel.hal.science/tel-00006594>

Submitted on 27 Jul 2004

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.

Institut National Agronomique de Paris – Grignon

Ecole Doctorale ABIES

Thèse

Présentée par

Alice JEVARDAT de FOMBELLE – GUERMONPREZ

Pour l'obtention du grade de

Docteur de l'Institut National Agronomique de Paris – Grignon

Spécialité : Nutrition Animale

**Etude de l'effet de l'origine botanique de l'amidon sur sa
digestibilité antécaecale chez le cheval**

Mise en place d'une méthode de référence *in sacco*

Directeurs : Dr. V. JULLIAND

Pr. D. SAUVANT

Soutenue le 11 décembre 2003 devant la commission d'examen

Rapporteurs : Mme M. CHAMP INRA, Nantes, France
 M. B. CARRE INRA, Tours, France

Membres : Mme V. JULLIAND Maître de conférences à l'ENESAD, Dijon, France
 M. D. SAUVANT Professeur à l'INAPG, Paris, France.
 M. A. GUYONVARCH Directeur scientifique, EVIALIS, Saint Nolff, France
 M. J. VAN EYS Consultant G.A.N.S. Inc.
 Mme C. BAYOURTHE Professeur à l'ENSAT, Toulouse, France
 Mme M. MOORE-COLYER University of Wales Aberysthwyth, Royaume-Uni

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury

A Madame M. CHAMP,

Malgré vos engagements multiples, vous avez accepté d'être rapporteur de cette thèse. Vous avez également pu modifier votre calendrier pour assister à la soutenance de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

A Monsieur B. CARRE,

Le cheval est bien loin des volailles mais cela n'a pas entravé votre curiosité de chercheur. Vous avez accepté d'être rapporteur de cette thèse. Je vous en remercie.

A Monsieur D. SAUVANT,

Malgré vos nombreuses responsabilités et votre calendrier très chargé, vous avez suivi ce projet dès son démarrage. Vous avez pu vous libérer lors de mes visites à l'INA pour éclairer l'analyse des résultats obtenus et valider l'enchaînement des différents étapes expérimentales. Pour tout l'intérêt que vous avez porté à ce travail, recevez l'expression de ma très grande reconnaissance.

A Madame V. JULLIAND,

Vous m'avez accordé une très grande confiance en me proposant ce sujet de thèse. Vous avez toujours fait preuve d'une grande disponibilité et votre rigueur constante ont été des éléments déterminants dans la réussite de ce travail. Que dire à part MERCI ?

A Madame C. BAYOURTHE,

A Toulouse, vos préoccupations actuelles sont peut-être un peu éloignées du thème général de ce travail. Vous avez néanmoins accepté de participer à ce jury et je vous en remercie chaleureusement.

A Monsieur A. GUYONVARCH,

Suite au rachat d'AEF par EVIALIS, vous avez pris en charge la poursuite de cette étude tant sur la plan opérationnel que scientifique. Vous avez su vous rendre disponible pour permettre l'avancée de toutes les étapes de ce travail, y compris dans la longue phase de rédaction... Je tenterai de rester fidèle à votre conseil et de ne pas « me laisser déborder par ma passion ». Pour m'avoir permis d'aller au bout de ce projet, merci beaucoup.

A Monsieur J. VAN EYS,

Vous avez été à l'initiative de cette thèse à l'époque de votre mission au sein d'Agribands International. Dès le départ, votre esprit d'analyse a permis de recadrer la problématique de cette étude et d'adapter l'approche expérimentale à mettre en œuvre. Grâce à cela je me suis « éclatée » dans un sujet qui m'a beaucoup passionné. Malgré votre départ, vous m'avez toujours soutenue et encouragée. Je vous adresse mes plus vifs remerciements.

To M. MOORE-COLYER,

In spite of your overbooked planning, you managed to attend the defence of this thesis in Paris. We had the opportunity to exchange richfull discussions about this work. For your contribution, please receive my warm regards.

AVANT-PROPOS

Je me souviens de ce professeur de zootechnie qui, pour expliquer le sens du mot « opportunité », le résumait ainsi : « c'est comme quand on voit un train passer devant soi. On a deux possibilités : soit monter dedans sans vraiment connaître sa destination, soit on choisit d'assurer ce que l'on a et de le laisser passer ». Ce train, encore faut-il se trouver au bon endroit et au bon moment pour le voir !...

L'histoire de mon train (ma thèse) commence par une proposition de Véronique Julliard « Si je te paye les frais d'inscription au prochain congrès de l'ENPS aux Etats-Unis, prendrais-tu en charge le coût de ton billet d'avion pour présenter les travaux de Carole ? ». Cette proposition a pu voir le jour pour deux raisons : 1- Carole Drogoul venait de décider que les contraintes liées à la rédaction de sa thèse ne lui permettaient pas de participer à ce congrès. 2- Véronique Julliard a toujours favorisé l'implication de ses étudiants dans la valorisation et la diffusion de travaux qu'ils ont menés. C'est donc vers ces deux personnes que je souhaite me tourner en premier pour leur adresser toute ma reconnaissance. Sans vous, je n'aurais jamais eu la chance de vivre cette expérience. A vos côtés, j'ai pu bénéficier de votre dynamisme et de votre complémentarité qui permet de rendre toute chose possible : Madame Julliard, vous avez su me laisser mener ce projet avec beaucoup d'autonomie tout en étant toujours présente dès la moindre interrogation. Vous m'avez appris la rigueur du raisonnement scientifique et avez su me faire tirer le meilleur de moi-même. Carole, tu m'avais donné un avant goût des « plaisirs » de la rédaction d'une thèse. Grâce à toi, je savais à quoi je m'engageais... Lors de la mise en place des expérimentations, ta bonne humeur à toute épreuve, ta disponibilité et ton sens pratique ont été d'une grande aide dans la conduite de ce travail.

Je me suis donc retrouvée dans l'avion pour Raleigh, le cœur battant à l'idée de faire une présentation de 10 min en anglais... Le train s'est présenté par une petite phrase anodine au détour d'un couloir : « ça fait du bien d'entendre parler français ! ». Je venais de faire la rencontre de Pierre Frumboltz, responsable cheval chez Agribrands International. En quittant les Etats Unis, j'avais mis un pied à bord d'un train portant tous mes espoirs : un projet de thèse conçu au service d'une entreprise et une bourse CIFRE. Même si nous n'avons pu mener ce projet à son terme ensemble, Pierre, je souhaite t'exprimer ma profonde gratitude pour la confiance que tu m'as portée dès le départ. Sans toi, je ne serais pas là entraîné d'écrire ces lignes.

J'avais le sujet, le cadre mais il me manquait une chose pour me lancer dans l'aventure d'une thèse : le soutien de mon très cher Johann... Tu n'as pas hésité longtemps à quitter notre Bretagne natale et abandonner (pour un temps !) une mission dans laquelle tu te réalisais pour me rejoindre à Dijon et monter dans mon train. Du soutien j'en ai eu besoin ! Tu as toujours été présent à mes côtés et tu as su montrer beaucoup de compréhension et de patience face à mes incertitudes et mes sautes d'humeur trop fréquentes dans la phase de rédaction. Grâce à toi et à Louison, j'ai trouvé un équilibre familial et professionnel qui m'ont permis de me réaliser pendant ces quatre années. Reçois ici mes plus profonds remerciements.

Dès son démarrage, cette thèse a bénéficié du soutien scientifique de nombreuses personnes : Jan Van Eys, Pierre Frumboltz, Celina Torre, Daniel Sauvart, Thierry Gidenne, Alain Guyonvarch, Louis-Patrick Borgida, Pascal Boisot et Gérard Fonty. En contribuant à l'avancée de ce travail, vous avez été la locomotive de mon train. Votre expertise et vos conseils avisés m'ont été d'une grande aide dans toutes les étapes de sa réalisation. Je vous en remercie très chaleureusement.

Tout ceci n'aurait pas vu le jour sans la collaboration des membres de l'équipe « Nutrition et santé digestive des herbivores ». Vous avez constitué les wagons du train. A l'animalerie, j'ai bénéficié de l'aide compétente et du soutien de Genest Brigand, René Comte, Christelle Chezeau, David Poillion et Lysiane Beaulieu. Les expérimentations sur chevaux sont lourdes à mettre en œuvre et chacun de vous a contribué à leur réussite. Un grand merci ! Côté paillasse, l'efficacité, et la minutie d'Emmanuel Jacotot (roi de la logique par association d'idées, tu sais cultiver la subtilité d'un sous entendu susceptible de déclencher les plus gros fou rires... avec toi, la pénibilité des ensemencements de microbiologie était effacée !), Carole Reibel (ta constance et ta grande rigueur t'ont permis de relever le défi de l'amidon et du MRX, bravo, tu es une technicienne hors pair !), Josette Lambert et Patricia Dorsemaine ont été des atouts précieux pour l'analyse des multiples échantillons et la confection des milliers de sachets de nylon. Soyez certains de ma sincère gratitude. Il y a ceux dont j'ai reçu l'aide ponctuelle mais néanmoins précieuse : Marie-Laure Guyon, Frédérique Respondek (j'ai appris à te connaître un peu plus tard et je te souhaite toute la réussite que tu mérites !) et bien sûr Luis Veiga (nos sept mois de travail en binôme resteront l'un des meilleurs souvenirs de ma thèse...) Vous m'avez tous beaucoup apporté tant sur le point opérationnel que moral, merci beaucoup. Et puis, il y a les collègues et voisins de bureau : Bertrand qui a été mon vis-à-vis pendant trois ans (nos longues discussions et ton avis m'ont été très précieux), Anne-Gaëlle qui m'a fait découvrir une nouvelle discipline équestre : l'endurance (ta volonté te permet de surmonter toutes les épreuves, bonne chance pour la suite !), Marie qui est toujours prête à rendre service (tu a pris la suite de cette étude, je te souhaite autant de plaisir que j'en ai eu), Stéphane qui a su relever le défi de la machine à café (tu es toujours prêt à prêter main forte, en perpétrant la régularité de la pause café tu contribue à la bonne ambiance entre tous les gens du département) et Christelle qui a été mon soutien inconditionnel dans les moments de déprime (ta capacité d'écoute et ton esprit critique sont de gros atouts pour rester objectif, bon courage pour toutes tes missions !). Ces quelques m² partagés avec vous étaient un concentré de bonne humeur qui m'a bien aidé pour mener cette thèse à son terme. Plus que des collègues, vous êtes devenus des amis.

Et puis je voudrais remercier tous les membres de ma famille qui, malgré les kilomètres et l'aspect un peu « rébarbatif » d'une thèse, ont toujours manifesté beaucoup de curiosité pour la mission que j'avais entreprise. Vous m'avez tous encouragée à poursuivre et c'est aussi grâce à vous que j'ai la chance de vous consacrer ces quelques mots.

Ibis, First, Pirandello, Nuage, Trollic, Djinn, Garlonn, Socks, Appache, Dupe, Gurry, Largo, Djell et tous ceux dont je n'ai pas oublié le nom ont contribué à alimenter une passion découverte à l'âge de 8 ans. Sur leur dos, à leur côté et au delà de l'aspect sportif, j'ai appris le sens des mots persévérance, effort, courage, humilité et patience. Ma plus belle récompense serait que cette modeste contribution puisse un jour vous servir, en retour de tout ce que vous m'avez apporté.



TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	1
AVANT-PROPOS	2
TABLE DES MATIERES	4
TABLE DES ILLUSTRATIONS	9
LISTE DES ABREVIATIONS	13
PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	14
INTRODUCTION GENERALE	16
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
INTRODUCTION	19
I. L'amidon des céréales : un substrat énergétique de choix pour l'alimentation du cheval athlète	20
I.1. L'utilisation des céréales dans l'alimentation du cheval	20
I.1.a Pratiques alimentaires dans les écuries	20
I.1.b Evaluation de la quantité d'amidon ingérée par les chevaux	22
I.2. L'amidon : glucide de réserve stocké par les végétaux	23
I.2.a Composition et structure chimique de l'amidon	23
I.2.b Procédés technologiques de transformation des céréales	25
II. La digestion de l'amidon chez le cheval : mécanismes mis en œuvre en antécæcal	27
II.1. Transit des aliments dans la partie antécæcale du tractus digestif	27
II.1.a Préhension des aliments et transit œsophagien	27
II.1.b Motricité de l'estomac et vidange gastrique	28
II.1.c Motricité et transit dans l'intestin grêle	29
II.1.d Facteurs de variation du transit antécæcal	31
II.2. Sécrétions digestives, digestion de l'amidon et absorption intestinale	32
II.2.a Sécrétions salivaires et digestion dans la cavité buccale	32
II.2.b Sécrétions gastriques et digestion stomacale	33
II.2.c Sécrétions et digestion enzymatique de l'amidon dans l'intestin grêle	35
II.3. L'écosystème antécæcal : un rôle à identifier	38
II.3.a Micro-organismes identifiés	39
II.3.b Paramètres fermentaires	40
II.3.c Rôle nutritionnel et sanitaire de la microflore intestinale	42
III. Les facteurs de variation de la digestion antécæcale de l'amidon	46
III.1. Effets liés aux pratiques alimentaires	46
III.1.a Effet du choix et de la proximité de la distribution de fourrages	46

III.1.b Effet de la quantité d'amidon ingérée _____	48
III.2. Effets liés à la nature (qualité) de l'amidon _____	49
III.2.a Effet de l'origine botanique _____	49
III.2.b Effet du traitement technologique _____	51
CONCLUSION _____	55
PROBLEMATIQUE _____	57
 PARTIE EXPERIMENTALE	
PUBLICATION N°1 _____	61
<i>Characterisation of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses fed two distinct diets</i> _____	62
<i>Abstract</i> _____	62
<i>Introduction</i> _____	64
<i>Material and methods</i> _____	64
Animals, Management and Diets _____	64
Preparation of horses and digesta sampling _____	65
Microbial Analyses _____	66
Biochemical Analyses _____	67
Statistical Analysis _____	67
Results _____	68
Concentrations of microorganisms (Table 22) _____	68
Biochemical parameters _____	69
Discussion _____	71
Acknowledgements _____	76
References _____	77
PUBLICATION N°2 _____	79
<i>Partial and total apparent digestibility of dietary carbohydrates in horses as affected by the morning meal and the diet</i> _____	80
<i>Abstract</i> _____	80
<i>Introduction</i> _____	82
<i>Material and methods</i> _____	83
Animals, management and diets _____	83
In vivo total tract digestibility trial procedure and sampling _____	83
Postmortem partial digestibility trial procedure and sampling _____	83
Biochemical analysis _____	84
Data calculations _____	84
Statistical analysis _____	85

Results	85
Organ length, volume and dry matter content of digesta	85
Dietary components digestibility	86
Discussion	88
Implications	92
Acknowledgments	93
Bibliography	93
COMMUNICATION ORALE N°1	96
<i>Effect of the diet on prececal digestion of different starches in the horse measured with the mobile bag technique</i>	97
<i>Literature cited</i>	99
ETUDE TECHNIQUE	100
<i>Mise en place de la technique des sachets mobiles sur chevaux porteurs d'une canule cœcale</i>	101
Introduction	101
I. Matériel et méthodes	102
I.1. Animaux et alimentation	102
I.1.a Animaux	102
I.1.b Alimentation	102
I.2. Préparation des sachets	104
I.2.a Toile de Nylon utilisée	104
I.2.b Dimensions des sachets et fabrication	104
I.2.c Broyage et masse des échantillons d'aliments testés	105
I.2.d Substrats testés dans les sachets	105
I.3. Intubation et récupération des sachets	105
I.3.a Mode d'intubation et nombre de sachets intubés	105
I.3.b Procédure de récupération des sachets	106
I.3.c Traitement des sachets	107
I.4. Paramètres mesurés sur les sachets intubés aux chevaux	107
I.4.a Taux de récupération des sachets mobiles	107
1) Taux de récupération brut	107
2) Nombre de sachets exploitables pour les mesures de disparition de substrat	108
I.4.b Cinétiques de récupération des sachets	108
I.4.c Temps de rétention moyen des sachets dans la partie antécœcale du tractus digestif	108
I.4.d Mesures de disparition de matière sèche	109
I.4.e Mesures de disparition d'amidon	109
I.5. Mesure des pertes particulières	110

I.5.a Mode opératoire _____	110
I.5.b Mesures effectuées _____	111
I.6. Analyse statistique des résultats _____	111
I.6.a Mise en place de la technique des sachets mobiles _____	111
I.6.b Mesure des pertes particulières _____	111
II. Résultats _____	112
II.1. Compte rendu du déroulement de la mise en place de la technique _____	112
II.2. Taux de récupération des sachets _____	112
II.3. Cinétiques de récupération des sachets mobiles _____	113
II.4. Temps de rétention moyens _____	113
II.5. Disparitions de matière sèche _____	114
II.6. Disparitions d'amidon _____	114
II.7. Mesure des pertes particulières _____	115
III. Discussion _____	116
<i>PUBLICATION N°3 _____</i>	<i>123</i>
<i>Effect of diet composition and feeding pattern on the prececal digestibility of starches from diverse botanical origins measured with the mobile nylon bag technique in horses _____</i>	<i>124</i>
<i>Abstract _____</i>	<i>124</i>
<i>Introduction _____</i>	<i>126</i>
<i>Material and methods _____</i>	<i>126</i>
Experimental design and treatments _____	126
Management of horses _____	127
Preparation, intubation and collection of bags _____	128
Treatment of bags and measurements _____	129
Loss of particle from mobile bags _____	129
Statistical Analysis _____	130
<i>Results _____</i>	<i>131</i>
<i>Discussion _____</i>	<i>133</i>
<i>Implications _____</i>	<i>138</i>
<i>Literature cited _____</i>	<i>139</i>
DISCUSSION GENERALE _____	142
I. Approfondissement des connaissances sur la physiologie digestive chez les chevaux _	144
I.1. Volume des <i>digesta</i> et influence des caractéristiques de la ration sur le transit antécæcal _____	144
I.2. Caractérisation de l'écosystème antécæcal et évaluation de sa contribution dans la digestion des glucides de la ration _____	145
II. Etude de la digestion antécæcale de l'amidon chez le cheval _____	150
II.1. Approche méthodologique _____	150
II.2. Digestion antécæcale de l'amidon _____	154

II.3. Partition de la digestion de l'amidon en antécæcal	157
CONCLUSION GENERALE	161
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	165
ANNEXES	179

Annexe 1 : Tableau de synthèse bibliographique sur la digestibilité antécæcale de l'amidon

Annexe 2 : Détermination de l'apport énergétique de la ration distribuée aux chevaux lors de la mise en place de la technique des sachets mobiles

Annexe 3 : Dosage de l'amidon par la méthode d'Edwards

Annexe 4 : DMS des substrats testés dans les sachets mobiles en fonction de leur temps de retrait du cæcum

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Liste des figures

Etude bibliographique

Figure 1 : Répartition de la production céréalière française en 2002 (Source : FAOSTAT)

Figure 2 : La molécule d'amylose

Figure 3 : La molécule d'amylopectine

Figure 4 : Schéma de la structure primaire de l'amylopectine. 1) Couche plus dense, plus cristalline ; 2) Couche moins dense et moins organisée, riche en liaisons α -1,6

Figure 5 : Conformation de l'estomac du cheval

Figure 6 : Evolution post-prandiale de l'activité α -amylasique dans le chyme jéjunal en fonction de la composition de la ration (■ : céréales ; Δ : foin) (d'après Kienzle et al., 1994)

Figure 7 : Effet de la quantité de fourrage ingéré sur la digestibilité antécœcale de l'amidon (d'après Hintz et al., 1971; Householder, 1978; Arnold et al., 1981; Arnold, 1982; Hinckle et al., 1983; Radicke et al., 1991; Kienzle et al., 1992; Meyer et al., 1993 et 1995)

Figure 8 : Effet de la distribution de fourrage, et du type de fourrage choisi sur la digestibilité antécœcale de l'amidon de l'avoine, du maïs et du sorgho ; pour chaque modalité, la quantité d'amidon ingérée est indiquée quelle que soit la céréale (d'après Hintz et al., 1971; Householder, 1978; Arnold et al., 1981; Arnold, 1982; Hinckle et al., 1983; Radicke et al., 1991; Kienzle et al., 1992; Meyer et al., 1993 et 1995)

Figure 9 : Effet de la quantité d'amidon ingérée sur la quantité d'amidon non dégradée en antécœcal (d'après Hintz et al., 1971; Householder, 1978; Arnold et al., 1981; Arnold, 1982; Hinckle et al., 1983; Massey et al., 1985; Brown, 1987; Radicke et al., 1991; Kienzle et al., 1992; Meyer et al., 1993 et 1995)

Figure 10 : Quantité d'amidon digérée dans l'intestin grêle en fonction de la quantité d'amidon ingérée (d'après Potter et al., 1992)

Figure 11 : Digestibilité antécœcale de l'amidon en fonction de son origine botanique pour une quantité d'amidon ingérée comprise entre 150 et 200 g / 100 kg PV / repas (d'après Arnold, 1982; Massey et al., 1985; Brown, 1987; Radicke et al., 1991; Kienzle et al., 1992; Meyer et al., 1993 et 1995)

Figure 12 : Digestibilité antécœcale de l'amidon en fonction de son origine botanique et de la quantité d'amidon ingérée par repas (d'après Hintz et al., 1971b; Householder, 1978; Arnold et al., 1981; Arnold, 1982; Hinckle et al., 1983; Massey et al., 1985; Brown, 1987; Radicke et al., 1991; Kienzle et al., 1992; Meyer et al., 1993 et 1995)

Figure 13 : Digestibilité antécœcale de l'amidon d'avoine, de maïs, d'orge et de sorgho en fonction du traitement technologique appliqué au grain (d'après Hintz et al., 1971b; Householder, 1978; Arnold et al., 1981; Arnold, 1982; Hinckle et al., 1983; Radicke et al., 1991; Kienzle et al., 1992; Meyer et al., 1993 et 1995)

Figure 14 : Mécanismes impliqués dans la digestion antécœcale de l'amidon chez le cheval et principaux substrats énergétiques formés disponibles pour l'animal. Identification du mode d'action des principaux facteurs de variation conditionnant la digestibilité antécœcale de l'amidon

Partie expérimentale

Figure 15 : Postprandial effect of the marker (● ADL and ▲ AIA) on dietary components digestibilities in the digestive tract (STO = Stomach; JEI = Jejunum-ileum; CEC = Caecum; RVC = Right ventral colon; LVC = Left ventral colon; LDC = Left dorsal colon; RDC = Right dorsal colon; SMC = Small colon; FAE = Faeces) of horses fed a low starch diet (D1)

Figure 16 : Postprandial effect of the marker (● ADL and ▲ AIA) on dietary components digestibilities in the digestive tract (STO = Stomach; JEI = Jejuno-ileum; CEC = Caecum; RVC = Right ventral colon; LVC = Left ventral colon; LDC = Left dorsal colon; RDC = Right dorsal colon; SMC = Small colon; FAE = Faeces) of horses fed a high starch diet (D2)

Figure 17 : Paddock utilisé pour la sortie bi-hebdomadaire des chevaux

Figure 18 : Représentation schématique des sachets mobiles fabriqués (A), Etapes de la fabrication des sachets mobiles (B)

Figure 19 : Matériel utilisé pour l'intubation des sachets par voie naso-œsophagienne et leur récupération dans le cæcum

Figure 20 : Intubation des sachets de nylon par voie naso-œsophagienne. Dix sachets sont placés dans la sonde (A) – Les sachets sont chassés dans l'œsophage avec une seringue à droguer contenant de l'eau (B).

Figure 21 : Représentation schématique de l'aimant utilisé pour capter les sachets mobiles à leur arrivée dans le cæcum

Figure 22 : Le retrait de l'aimant toutes les 30 min permet de récupérer les sachets arrivés dans le cæcum

Figure 23 : Une fois rincés, le numéro des sachets récupérés et l'heure de collecte sont notés sur la feuille d'enregistrement de chaque cheval

Figure 24 : Vibroboyeur oscillant utilisé pour broyer le substrat résiduel récolté dans les sachets mobiles

Figure 25 : Cinétique de récupération des sachets mobiles pour chaque cheval

Figure 26 : Temps de rétention moyen (TRM) des sachets dans la partie antécæcale du tube digestif pour chaque jour d'intubation effectué et pour chaque cheval testé

Figure 27 : DMS antécæcale de l'avoine, de l'orge, du maïs et de la pulpe de pomme de terre en fonction du jour de mesure

Figure 28 : Damidon antécæcale de l'avoine, de l'orge, du maïs et de la pulpe de pomme de terre mesuré par la technique des sachets mobiles en fonction du jour de mesure

Figure 29 : Cumulated collection of mobile nylon bag in the cecum of horses fed a diet composed of either a high fibre (HF) or a high starch (HS) pellet and hay, distributed in 3 (2 meals of pellets + 1 meal of hay) or 5 (3 meals of pellets + 2 meals of hay) daily meals. ^{a,b,c} Within a time of collection, bars without a common superscript letter differ (P < 0.05)

Discussion générale

Figure 28 : Fermentation du lactate en acétate et en propionate selon la voie acrylique (acryloyl-CoA ; A) et la voie succinique (methylmalonyl-CoA ; B), d'après Stams et al., 1998.

Figure 29 : Confrontation des digestibilité antécæcale de l'amidon en fonction de son origine botanique mesurées dans la littérature, lors de la mise en place de la technique des sachets mobiles et dans la publication n°3

Figure 30 : Digestion stomacale (en % de la digestibilité antécæcale) de l'amidon en fonction de la teneur en amidon soluble déterminée in sacco ou d'après la fraction « a » définie chez le ruminant

Figure 31 : Digestibilité antécæcale de l'amidon en fonction de la proportion d'amidon arrivant dans l'intestin grêle

Liste des tableaux

Etude bibliographique

Tableau 1 : Description de la ration alimentaire distribuée dans les écuries de course en fonction de l'activité (galop ou trot) et du pays (d'après Respondek et al., 2003)

Tableau 2 : Estimation de la quantité d'amidon apportée par les céréales dans le rationnement des chevaux de course (trotteurs et galopeurs) en fonction du pays

- Tableau 3 : Teneur en amidon et composition non glucidique de l'amidon de diverses graines et tubercules
- Tableau 4 : Production de salive en fonction de l'aliment consommé
- Tableau 5 : Caractéristiques de la salive du cheval en fonction de la glande sécrétrice d'après (Klingeberg-Kraus, 2001)
- Tableau 6 : Composition chimique de la salive du cheval
- Tableau 7 : Volume récolté (mL / 15 min) et concentration ionique (mEq / L) du contenu gastrique chez des chevaux à jeun dont le pyllore était obstrué (B) ou non (NB) (d'après Kitchen et al., 2000)
- Tableau 8 : Volume (mL / 15 min) et concentration en électrolytes (mEq / L) du contenu duodénal chez le cheval (d'après Kitchen et al., 2000)
- Tableau 9 : Activité de l' α -amylase pancréatique dans le pancréas, au niveau de l'épithélium intestinal et dans le contenu intestinal chez différentes espèces (d'après Roberts, 1974 et Kienzle, 1993)
- Tableau 10 : Concentration (CFU / mL) des différentes espèces bactériennes identifiées dans les compartiments antécœcaux du tractus digestif du cheval
- Tableau 11 : Concentration (CFU / mL) dans le jéjunum de différentes espèces bactériennes 4 heures après le repas en fonction du régime distribué (d'après Kollarczik et al., 1992)
- Tableau 12 : Concentration en acides gras volatils (mmol / L) dans les différentes régions de l'estomac du cheval
- Tableau 13 : Concentration en lactate total (mmol / L) dans les différents compartiments antécœcaux du tractus digestif du cheval en fonction du régime distribué
- Tableau 14 : Evolution postprandiale de la concentration en lactate (mmol / L) dans l'intestin grêle du cheval en fonction du régime distribué
- Tableau 15 : Concentration en acides gras volatils (mmol / L) et proportion en acétate (% C2), propionate (% C3) et butyrate (% C4) dans l'intestin grêle du cheval en fonction du régime consommé
- Tableau 16 : Effet de la forme de présentation du foin sur la digestibilité antécœcale de l'avoine et du maïs.
- Tableau 17 : Effet du traitement technologique du grain de maïs sur la structure de l'amidon dans l'aliment et sur la digestibilité antécœcale de l'amidon (d'après Kienzle et al., 1997)
- Tableau 18 : Fractions de l'amidon natif et extrudé (à haute - HT - ou basse - LT - température) de différentes céréales et de pomme de terre (d'après Murray et al., 2001)

Partie expérimentale

- Table 19 : Description of diets fed
- Table 20 : Daily feeding program of each diet tested
- Table 21 : Mean time (hours) elapsed between the ingestion of morning meal (M), inducing of anaesthesia (A) and collection (C) of the digestive tract anatomic part from two groups of horses
- Table 22 : Microbial concentration in the different parts of the digestive tract of horses fed two distinct diets
- Table 23 : pH and D- / L-Lactate concentrations in the different parts of the digestive tract of horses fed two distinct diets
- Table 24 : Volatile fatty acids (VFA) concentrations in the different parts of the digestive tract of horses fed two distinct diets
- Table 25 : Chemical composition and description of the high fibre diet (D1) and of the high starch diet (D2) given to horses
- Table 26 : Mistrubution patterns of the high fibre diet (D1) and the high starch diet (D2) given to horses
- Table 27 : Mean time (hours) elapsed between the ingestion of morning meal (M), the anaesthesia induction (A) and the digesta collection (C) from horses given a high fiber (D1) or a high starch (D2) diet
- Table 28 : Organ length, volume and dry matter content of digesta collected in the digestive tract of horses given a high fiber (D1) or a high starch (D2) diet

Table 29 : Apparent digestibility of organic matter and dietary carbohydrates, using acid insoluble ash (AIA) as indigestible internal

Table 30 : Apparent digestibility of organic matter and dietary carbohydrates, using acid detergent lignin (ADL) as indigestible internal marker, along the digestive tract of horses given a high fiber (D1) or a high starch (D2) diet

Table 31 : Mean (s.e.) Dry Matter (DMD) and Starch (SD) Disappearance from Nylon bags containing either oats, barley or corn collected in the stomach or the small intestine of horses fed two distinct pellets

Tableau 32 : Composition de l'aliment granulé distribué lors de la mise en place de la technique des sachets mobiles

Tableau 33 : Composition analytique du foin distribué lors de la mise en place de la technique des sachets mobiles

Tableau 34 : Composition de la salive artificielle du cheval à pH 7,56

Tableau 35 : Modèles statistiques utilisés pour chaque variable

Tableau 36 : Etude du taux de récupération brut (TRB) des sachets mobiles pour chaque cheval

Tableau 37 : Effet des différents facteurs de variation sur la disparition de matière sèche (DMS)

Tableau 38 : Effet des différents facteurs de variation sur la disparition d'amidon (Damidon)

Tableau 39 : Disparition de matière sèche des sachets lors de la mesure des pertes particulières en fonction de la solution utilisée (moyenne \pm écart-type)

Tableau 40 : Teneur en amidon des aliments introduits dans les sachets et de la fraction perdue pour chaque substrat testé lors de la mesure des pertes particulières

Tableau 41 : Disparition d'amidon des sachets de Nylon lors de la mesure des pertes particulières en fonction de la solution utilisée et du substrat testé (moyenne \pm écart-type)

Table 42 : Description and analytical composition of feeds used

Table 43 : Daily feeding patterns of diet tested

Table 44 : Chemical composition (DM basis) and proportion of particles smaller than 48 μ m of starch sources (ground at 3 mm) tested in mobile bags

Table 45 : Mean retention time (MRT) of bags in the prececal part of the digestive tract in horses fed a high fibre (HF) or a high starch (HS) pellet, and hay, in 3 or 5 daily meals

Table 46 : Dry matter (DMD_p) and starch ($StarchD_p$) disappearance from mobile bags for each starch source tested after either 1h incubation in artificial gastric content at pH 5.5 (Incubation procedure) or 3 consecutive washings in demineralized water in a domestic washing machine (Washing procedure)

Table 47 : Prececal DM disappearance (DMD_c) and starch disappearance ($StarchD_c$) (corrected with losses occurred during incubation of substrate in artificial gastric content) from substrates tested with the mobile bag technique in horses fed a high fiber (HF) or high starch (HS) pellet

Discussion générale

Tableau 48 : Quantité d'amidon dégradée dans l'estomac entre l'arrêt du transit et le prélèvement du chyme gastrique en fonction de la composition du repas

LISTE DES ABREVIATIONS

ADL	acid detergent lignin (lignine)
AIA	acid insoluble ash (cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique)
AGV	acides gras volatils
ATP	adénosine 5'-triphosphate
CFU	colony forming unit (unité formant colonie)
CMM	complexe myoélectrique (= moteur) migrant
DP	degré de polymérisation
g	gramme
h	heure
l	litre
m	mètre
MADC	matière azotée digestible cheval
MB	matière brute
min	minute
NSP	non-starch polysaccharide (glucides autres que amidon)
ppr	post-prandial
PV	poids vif
RDS	rapidly digestible starch (amidon rapidement digestible)
RS	resistant starch (amidon résistant)
t	tonne
s	seconde
SDS	slowly digestible starch (amidon lentement digestible)
T ₅₀	temps de demi vidange gastrique
TRM	temps de rétention moyen
UFC	unité fourragère cheval (= 2200 cal d'énergie nette)

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Articles scientifiques dans des revues internationales à comité de lecture

de FOMBELLE A., VARLOUD M., GOACHET A.G., JACOTOT E., PHILIPPEAU C., DROGOUL C., JULLIAND V., 2003. Characterisation of microbial and biochemical profile along the anatomic parts of the digestive tract of horses fed two distinct diets. *Anim. Sci.*, 77 (2) : 393-304.

de FOMBELLE A., JULLIAND V., DROGOUL C. and JACOTOT E., 2001. Feeding and microbial disorders in horses: 1-Effects of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet. *J. Equine Vet. Sci.*, 21 (9) : 439-444.

DROGOUL C., de FOMBELLE A. and JULLIAND V., 2001. Feeding and microbial disorders in horses: 2- Effect of three hay:grain ratios on digesta flow rate and digestibility in ponies. *J. Equine Vet. Sci.*, 21 (10) : 487-490.

JULLIAND V., de FOMBELLE A., DROGOUL C. and JACOTOT E., 2001. Nutrition and microbial disorders in horses: 3-Effects of three hay:grain ratios on microbial profile and activities. *J. Equine Vet. Sci.*, 21 (11) : 543-546.

Conférences et communications à des congrès scientifiques

de FOMBELLE A., GOACHET A.G., VARLOUD M., BOISOT P. and JULLIAND V., 2003. Effect of the diet on prececal digestion of different starches in the horse measured with the mobile bag technique. *Proceedings of the 18th Equine Nutrition and Physiology Symposium*. East Lansing, Michigan, June 4-7: 115-116.

VARLOUD M., GOACHET A.G., de FOMBELLE A., GUYONVARCH A. and JULLIAND V., 2003. Effect of the diet on prececal digestibility of the dietary starch measured on horses with Acid Insoluble Ash as an internal marker. *Proceedings of the 18th Equine Nutrition and Physiology Symposium*. East Lansing, Michigan, June 4-7: 117-118.

de FOMBELLE A., FRUMHOLTZ P., POILLION D., DROGOUL C., PHILIPPEAU C., JACOTOT E. and JULLIAND V., 2001. Effect of the botanical origin of starch on its

prececal digestibility measured with the mobile bag technique. Proceedings of the 17th Equine Nutrition and Physiology Symposium. Lexington, Kentucky, May31-June2: 153-155.

de FOMBELLE A., MEDINA B., DROGOUL C., JACOTOT E., REIBEL C. et JULLIAND V., 2000. Distribuer une proportion variable de céréales dans la ration : conséquences sur le fonctionnement du système digestif. 26^{ème} journée d'études des Haras nationaux, Paris, 1^{er} mars : 33-43.

MEDINA B., de FOMBELLE A., JACOTOT E. and JULLIAND V., 2000. Effects of a dried live yeast culture on the fibrolytic activity of the equine intestinal ecosystem. *Reprod. Nutr. Dev.* 40 (2): 219.

de FOMBELLE A., DROGOUL C., JACOTOT E., BONNEFOY T. and JULLIAND.V., 1999. Effect of the hay : grain ratio on 1) digesta flow and digestibility 2) cecal and colonic microbial populations and activities in ponies. Proceedings of the 16th Equine Nutrition and Physiology Symposium. Raleigh, North-Carolina, June 2-5 : 151-154.

Communications scientifiques sans comité de lecture

JACOTOT E., de FOMBELLE A. et JULLIAND V., 2000. Activité fibrolytique des micro-organismes intestinaux *in vitro* en fonction de deux réducteurs ; essais préliminaires. Lyon, colloque SFM, microbiologie anaérobie, 5-6 avril 2000 : 52.

JULLIAND V., de FOMBELLE A. et VARLOUD M., 2003. A review on the digestion of starch in horses : effect of the processing. FEZ, Rome, 30 août-3 septembre.

Articles et communications techniques sans comité de lecture

DROGOUL C., de FOMBELLE A. et JULLIAND V., 1999. Digestion et prévention des troubles digestifs : une question d'équilibres. *L'Annuaire d'Information des éleveurs de trotteurs* : 85-88.

de FOMBELLE A., MEDINA B. et JULLIAND V., 1999. Résultats des dernières recherches sur les probiotiques en physiologie digestive chez le cheval. XIIIème Circuit Européen de Conférences Alltech, 6p.

INTRODUCTION GENERALE

Le cheval étant un herbivore monogastrique, il est capable de tirer efficacement profit de l'énergie apportée par tous les hydrates de carbone des végétaux composant sa ration alimentaire. Dans un premier temps, la digestion enzymatique ayant lieu dans l'intestin grêle lui permet d'hydrolyser les glucides simples et l'amidon pour former essentiellement du glucose ; ce substrat énergétique est directement disponible pour les cellules de son organisme. Dans un second temps, les fermentations opérées par des communautés microbiennes hôtes du gros intestin lui permettent de dégrader les polyosides pariétaux pour former des acides gras volatils ; parmi ces acides organiques, le propionate une fois absorbé peut fournir du glucose par néoglucogénèse (Simmons et Ford, 1991).

Dans les conditions normales d'alimentation, il est fréquent qu'une partie de l'amidon de la ration échappe à l'action des enzymes et soit dégradée par les micro-organismes du gros intestin (Radicke *et al.*, 1991). Ce phénomène a une influence directe sur les nutriments énergétiques formés : du propionate et du lactate sont produits au détriment du glucose. Si la quantité déversée dans le gros intestin reste modérée, l'amidon peut être bénéfique au fonctionnement de l'écosystème du gros intestin en stimulant l'activité fibrolytique (Kern *et al.*, 1973; Palmgren Karlsson *et al.*, 2000). Par contre, quand elle est trop importante, non seulement le rendement énergétique de la ration est altéré mais, en plus, la modification du profil biochimique dans le gros intestin, en particulier son acidification, perturbe le développement des micro-organismes hôtes responsables de la dégradation des parois végétales. Les dysfonctionnements de cet écosystème sont impliqués dans le déclenchement de pathologies digestives telles que les coliques, les entérites avec endotoxémies, et les fourbures (Garner *et al.*, 1978; Clarke *et al.*, 1990). Ces troubles peuvent non seulement compromettre définitivement l'avenir sportif de l'animal, mais aussi mettent en jeu sa survie.

Les besoins énergétiques des chevaux dépendent de leur activité ; si le cheval adulte à l'entretien peut se contenter de fourrages pour satisfaire ses dépenses énergétiques, le cheval athlète, quand à lui, requiert une ration alimentaire incorporant des ingrédients plus riches en énergie. En outre, le développement de l'équitation de loisir a rapproché les chevaux des villes. Dans ces conditions, l'accès aux fourrages et leur stockage est limité ; la distribution d'aliments complets, peu encombrants et facile à manipuler, mais dont la densité énergétique

est plus élevée, se généralise. Traditionnellement, l'amidon contenu dans les graines des céréales est le substrat énergétique le plus utilisé. Les céréales sont distribuées soit sous forme native, soit intégrées dans la composition d'aliments fabriqués par les usines d'alimentation du bétail. Parallèlement, la proportion de fourrages distribuée en brins longs diminue tant et si bien que, quand elle n'est pas nulle, elle se limite à la consommation de la paille constituant la litière. Il est probable que l'augmentation de la quantité d'amidon de la ration concomitante à la diminution de la quantité de fourrage, ou à la distribution de composés pariétaux de médiocre qualité, crée une situation fragilisant l'équilibre de l'écosystème intestinal. Par conséquent, la nutrition des chevaux est un véritable challenge si on veut à la fois leur fournir l'énergie nécessaire et préserver l'intégrité des processus de digestion, en particulier la dégradation des parois végétales.

Afin de pouvoir optimiser l'utilisation des sources d'amidon dans l'alimentation du cheval, la société EVIALIS, en collaboration avec l'UPSP « Nutrition et santé digestive des herbivores », a entrepris des travaux de recherche destinés à :

- décrire les phénomènes digestifs associés à la digestion de l'amidon chez le cheval, en particulier, dans la partie antécæcale du tractus digestif,
- mettre au point un outil fiable et facile à mettre en œuvre, sur animaux vivants, afin de pouvoir identifier l'effet de l'origine botanique de l'amidon au sein des nombreux facteurs de variation conditionnant l'étendue de sa digestibilité antécæcale.

L'ensemble de ces travaux de recherche a fait l'objet d'une convention industrielle de formation par la recherche (CIFRE) avec l'ANRT (Dossier ANRT n° 99387).

La méthodologie mise en place lors de cette étude ainsi que les articles présentant les résultats obtenus sont présentés après une synthèse bibliographique ayant pour objet de décrire l'utilisation de l'amidon dans le rationnement des chevaux et d'identifier les mécanismes et les facteurs de variation de la digestion antécæcale de l'amidon.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

Au cours de son évolution, le système digestif du cheval s'est adapté à la digestion de nombreux petits repas, constitués essentiellement de fourrages (cellulose principalement), répartis tout au long de la journée. Les pratiques récentes d'exploitation des chevaux (équitation de loisir, sports équestres et course) les ont conduits dans un environnement confiné où la ration alimentaire n'est divisée qu'en deux ou trois repas quotidiens. Cette augmentation du volume des repas est souvent concomitante à l'augmentation de la densité énergétique de la ration permise par l'incorporation de céréales (amidon) (Clarke *et al.*, 1990).

Afin de tirer un rendement énergétique maximal de l'amidon, et de prévenir les éventuels déséquilibres de l'écosystème du gros intestin, il est nécessaire d'identifier les mécanismes mis en œuvre lors de la digestion de l'amidon ainsi que les facteurs alimentaires interférant sur la digestibilité de l'amidon. En particulier, la connaissance approfondie des particularités anatomo-physiologiques de la partie antécæcale du tractus digestif ainsi que des phénomènes digestifs s'y produisant sont des éléments essentiels pour ajuster les pratiques alimentaires dans les écuries.

Les objectifs de cette étude bibliographique sont, dans une première partie, de décrire les pratiques d'intégration des céréales dans l'alimentation du cheval, ainsi que les caractéristiques et les propriétés de l'amidon en association avec les traitements technologiques qui peuvent être appliqués aux sources d'amidon. La seconde partie expose les mécanismes anatomo-physiologiques antécæcaux mis en œuvre lors de la digestion de l'amidon. Enfin, la troisième partie a permis d'identifier les facteurs de variation de la digestibilité antécæcale de l'amidon au travers des pratiques alimentaires et de la nature de l'amidon ingéré.

I. L'amidon des céréales : un substrat énergétique de choix pour l'alimentation du cheval athlète

I.1. L'utilisation des céréales dans l'alimentation du cheval

Avec une population de 350 000 chevaux¹, la France se situe au 2^{ème} rang de l'Union Européenne, après l'Allemagne. On estime à 175 000 le nombre de chevaux adultes utilisés dans les différentes activités sportives : environ 25 800 en courses (dont 52 % de trotteurs et 48 % de galopeurs), environ 40 000 en compétitions équestres (concours de saut d'obstacles, de dressage, de concours complet, ...), le reste étant réparti dans les centres équestres². Cette population de chevaux est souvent soumise à une activité physique intense. Par conséquent le recours aux aliments riches en énergie (concentrés) est fréquent dans leur alimentation ; parmi eux, les céréales, grâce à l'amidon qu'elles contiennent, représentent la principale source d'énergie distribuée aux chevaux. Ces céréales sont incorporées dans la ration sous forme native et / ou après traitement technologique ; elles entrent également dans la composition des aliments composés fabriqués par l'industrie de l'alimentation animale (environ 198 000 t d'aliments destinés aux chevaux sont produits chaque année en France³). L'incorporation des céréales est liée aux pratiques alimentaires des écuries, elle varie selon de nombreux facteurs.

Remarque : dans cet exposé le terme « céréale » désigne les céréales qui peuvent être distribuées indépendamment de tout autre aliment (il peut s'agir de céréales natives ou de céréales ayant subi un traitement technologique) ; c'est le cas en particulier de toutes les espèces qui seront citées. Le terme « aliment du commerce » désigne les aliments fabriqués par l'industrie de l'alimentation animale ; ces aliments incorporent eux-mêmes des céréales sans que leur proportion et la variété puissent être précisés.

I.1.a Pratiques alimentaires dans les écuries

Dans les écuries, les pratiques d'alimentation et le choix des aliments incorporés dans la ration résultent souvent d'un savoir-faire empirique ; généralement, les usages varient en fonction de la discipline pratiquée et de l'intensité de l'exercice demandé aux chevaux. Il existe donc peu de données chiffrées sur les quantités et les types d'aliments distribués. En

¹ Chiffre année 2002 ; source FAOSTAT actualisé au 10 juin 2003.

² Source : les Haras Nationaux – OESC, 2002.

³ Chiffre année 2000 ; source : la revue de l'alimentation animale n°563.

outre, au sein d'une population de chevaux exploités de façon similaire, les pratiques peuvent varier d'un pays à l'autre en fonction de la disponibilité de certaines matières premières (Tableau 1).

Une enquête, réalisée dans 29 écuries de course en France, a montré que les concentrés représentent environ 50 % de la ration des chevaux (Respondek *et al.*, 2003). L'avoine, constituant traditionnel de l'alimentation des chevaux en France, est utilisée par 97 % des entraîneurs ; cette céréale est souvent utilisée pour son effet neurostimulant. Elle peut être distribuée seule, ou associée à d'autres céréales (orge principalement), ou à un aliment commercial (granulé seul ou granulé mélangé à des céréales ayant subi un traitement technologique ; 69 % des écuries). Il est intéressant de noter que l'orge, utilisée dans 20 % des écuries françaises, ne l'est pas du tout dans les écuries de course américaines (Gallagher *et al.*, 1992a et b) tandis qu'elle est choisie par 12 % des entraîneurs de galopeurs et 57 % des entraîneurs de trotteurs en Australie (Southwood *et al.*, 1993b). A l'inverse, le maïs est peu utilisé dans les écuries françaises alors que plus de 84 % des entraîneurs australiens incorporent du maïs dans l'alimentation de leurs chevaux (Southwood *et al.*, 1993b). Les aliments du commerce, quand ils sont distribués, représentent 25 % des concentrés de la ration, en France.

Deux enquêtes menées à la même époque (2000 - 2001) en France (Bourgogne) (Gonçalves, communication personnelle) et en Suisse (Reiwald et Riond, 2002) ont permis de récolter des informations concernant une population de respectivement 414 et 2 239 chevaux. Dans les deux études, 63 % des animaux enquêtés étaient soumis à un exercice moyen à intense et, malgré cette activité semblable, il semble que les pratiques alimentaires aient été spécifiques de la région étudiée. Ainsi 46 % des chevaux bourguignons recevaient-ils exclusivement un aliment du commerce contre 29 % pour les chevaux helvétiques. Ces derniers recevaient préférentiellement une alimentation à base de céréales distribuées soit seules, soit associées à un aliment complémentaire (21 %). En outre, quand les céréales étaient distribuées, la fréquence d'utilisation des différentes espèces variait entre ces deux régions. En Bourgogne, l'orge et l'avoine étaient les plus fréquemment choisies (respectivement 48 % et 32 %) ; le maïs, quant à lui, n'était incorporé que dans 6 % des rations. En Suisse, l'avoine était la céréale la plus utilisée (41 %) tandis que l'orge et le maïs étaient utilisés de façon identique (15 %). Enfin, il est intéressant de noter que 5 % des chevaux de cette enquête recevaient 0,5 à 2 kg de pommes de terre par jour.

Parmi les compétitions équestres, l'endurance est en plein essor ces dernières années. Le nombre de pratiquants dans cette discipline, la place au 2^{ème} rang des sports équestres en France (derrière le saut d'obstacles)⁴. Parce que les chevaux s'affrontent sur des distances comprises entre 130 et 160 km au niveau national, la nutrition de ces athlètes revêt une importance primordiale. Cependant, leurs besoins alimentaires sont encore mal déterminés et, là encore, les pratiques sont peu connues et restent empiriques. Une petite enquête auprès de 37 cavaliers d'endurance de l'équipe nationale américaine a révélé que 78 % de la ration de leurs chevaux est constituée de fourrages. En outre, les aliments industriels sont souvent préférés aux céréales : 89 % des cavaliers distribuent au moins un aliment du commerce, les céréales, quant à elles, entrant dans 32 % des rations. Parmi ceux qui incorporent des céréales, les deux tiers font en association avec un concentré industriel ; la distribution de céréales seules semble donc être une pratique minoritaire dans ce milieu, mais nous ne disposons à ce jour d'aucune information sur les pratiques européennes ou françaises. Une caractéristique intéressante de cette discipline est l'incorporation de lipides dans la ration dans le but d'augmenter sa densité énergétique : 54 % des chevaux étaient supplémentés en matières grasses, et des aliments industriels riches en graisse (> 6 %) étaient utilisés par 51 % des cavaliers (Crandell, 2002).

1.1.b Evaluation de la quantité d'amidon ingérée par les chevaux

A partir des données récoltées lors des différentes enquêtes menées dans les écuries de course en France (Respondek F., communication personnelle), en Australie (Southwood *et al.*, 1993a) et aux Etats Unis (Gallagher *et al.*, 1992a et b), on peut estimer la quantité d'amidon, apportée par les céréales, distribuée quotidiennement aux chevaux (Tableau 2). Ainsi, en tenant compte de la fréquence d'utilisation des céréales, de leur pourcentage d'incorporation et du type de céréales utilisées, on estime la consommation moyenne quotidienne d'amidon à 491 g / 100 kg PV en France, à 537 g / 100 kg PV aux Etats-Unis et à 564 g / 100 kg PV en Australie. Les valeurs concernant la France et l'Australie sont certainement sous estimées car elles ne prennent pas en compte la quantité d'amidon apportée par les aliments du commerce.

Seules les informations contenues dans l'enquête suisse nous permettent d'évaluer la quantité d'amidon consommée par les chevaux étudiés. En moyenne la quantité quotidienne de céréales distribuées se situait entre 1,4 et 2,2 kg. Compte tenu des proportions dans lesquelles

⁴ Source : Equ'idée printemps 2003.

les différentes céréales étaient utilisées, on peut estimer la teneur en amidon des céréales consommées à 46,4 %, ce qui conduit à une ingestion quotidienne d'amidon comprise entre 650 et 1020 g (soit, pour un animal de 450 kg, une quantité d'amidon ingérée oscillant entre 144 g et 227 g / 100 kg PV par jour) ; là encore, le fait de ne pouvoir évaluer la quantité d'amidon apportée par les aliments du commerce sous estime probablement la quantité quotidienne ingérée. Enfin, les chevaux de cette enquête qui consommaient des pommes de terre, recevaient, quant à eux, une quantité d'amidon quotidienne comprise entre 66 et 262 g (pour une matière première à 20 % de MS) (Reiwald et Riond, 2002).

I.2. L'amidon : glucide de réserve stocké par les végétaux

Après la cellulose, l'amidon est la principale source glucidique synthétisée par les végétaux. Sur la planète, les sources d'amidon sont variées. On distingue, les céréales, les tubercules, les légumineuses ainsi que les fruits. Environ 2 029 millions de tonnes de céréales sont produites chaque année⁵ dont 29,7 % de maïs, 28,4 % de riz, 28,2 % de blé, 6,5 % d'orge, 2,7 % de sorgho et 1,3 % d'avoine. Parmi elles, la FAO estime à environ 660 millions de tonnes, la quantité servant à nourrir le bétail, ce qui représente près du tiers de l'utilisation céréalière totale dans le monde. Avec une production totale avoisinant les 70 millions de tonnes, la France produit presque un tiers des céréales cultivées dans l'Union Européenne. Le blé et le maïs représentent environ 80 % des céréales produites en France (Figure 1). L'alimentation animale constitue le principal débouché industriel des céréales françaises.

I.2.a Composition et structure chimique de l'amidon

L'amidon, glucide de réserve, constitue 40 à 90 % du poids sec des graines de céréales, 30 à 70 % des graines de légumineuses et 65 à 85 % des tubercules (Duprat *et al.*, 1980). L'amidon est constitué à 98 – 99 % de D-glucose et d'une fraction non glucidique. Cette fraction est constituée essentiellement de protéines, de lipides et de matières minérales (phosphore en particulier) (Tableau 3), elle représente 0,5 à 2 % de la composition chimique totale des grains d'amidon. La localisation au niveau du grain et la teneur de ces constituants mineurs sont fonction de l'origine botanique de l'amidon et des conditions de biosynthèse (Buléon *et al.*, 2000).

⁵ chiffres année 2002 ; source : FAOSTAT actualisé au 10 juin 2003.

Le grain d'amidon est constitué d'au moins trois types de composants glucidiques, homopolymères de D-glucose, dont les proportions varient d'un amidon à l'autre (Duprat *et al.*, 1980) :

- L'amylose, macromolécule linéaire, est constituée uniquement d'unités glucose reliées en α -1,4 (Figure 2); le degré de polymérisation (DP) des chaînes d'amylose varie de 200 à 6000 suivant l'origine botanique de l'amidon (French, 1973).
- L'amylopectine est une macromolécule ramifiée, constituée de chaînes d'unités glucose (reliées par des liaisons α -1,4) branchées les unes aux autres par des liaisons α -1,6 (Schoch, 1945) (Figure 3). Ces liaisons α -1,6 représentent 4 à 5 % des liaisons de la molécule. L'amylopectine est constituée d'un ensemble de chaîne courtes, qui forment les « grappes » (DP moyen : 15 – 20), reliées entre elles par des chaînes plus longues (DP moyen : 40 – 45) qui forment l'ossature de la molécule (Figure 4). Le taux de ramification de la molécule conditionne les différences de structure fine entre les amylopectines d'amidon de diverses origines botaniques (Robin, 1976 cité par Duprat *et al.*, 1980).
- Le matériel intermédiaire, appelé « amylose anormale », présente un taux de ramification intermédiaire entre l'amylose et l'amylopectine. Cette fraction représente 5 à 7 % des amidons normaux de céréales (Banks et Greenwood, 1975 cités par Duprat *et al.*, 1980). Le type et la quantité de ce matériel intermédiaire varient selon l'origine botanique et le degré de maturité de l'amidon.

Ces macromolécules s'organisent en couches concentriques pour former des grains d'amidon ; leur taille et leur forme sont des caractéristiques génotypiques et donc fonction de l'origine botanique (Colonna *et al.*, 1995). Pour la plupart des amidons, la teneur en amylose varie entre 15 et 30 %. Cependant, à l'intérieur d'une même espèce végétale, il peut apparaître une grande variabilité. Certaines variétés peuvent contenir jusqu'à 80% d'amylose (amylomaïs, pois ridé) alors que d'autres sont constitués essentiellement d'amylopectine (maïs waxy, amidon cireux d'orge et de sorgho, amidon de riz glutineux), l'amylose ne représentant que 1% de l'amidon (Duprat *et al.*, 1980).

La molécule d'amidon a de nombreuses propriétés. Parmi elles, la gélatinisation (ou empesage) est souvent utilisée pour les substrats destinés à l'alimentation car elle permet d'améliorer la solubilité de l'amidon (Hardy *et al.*, 1999) : elle a lieu quand l'amidon est porté à des températures supérieures à 55 - 60°C en présence d'un excès d'eau. Dans ces

conditions, on observe un gonflement du grain d'amidon suivi d'une dispersion des chaînes d'amylose et d'amylopectine qui passent en solution colloïdale (Duprat *et al.*, 1980).

I.2.b Procédés technologiques de transformation des céréales

Les céréales sont la principale matière première des aliments composés fabriqués pour les animaux d'élevage : leur taux d'incorporation se situe entre 40 et 50 %⁶. Les céréales les plus utilisées sont le blé, l'orge et le maïs. Au total, environ 23 millions de tonnes d'aliments sont fabriquées chaque année dont 42 % sont destinées aux volailles, 30 % aux porcins, 19 % aux bovins et les 9 % restantes, à d'autres espèces animales.

Afin de favoriser l'accessibilité des nutriments (amidon en particulier) et donc d'améliorer la digestibilité des aliments (Fahrenholtz, 1994), il existe différents types de procédés industriels que nous allons passer rapidement en revue. En fonction de la complexité de la technologie mise en œuvre, on peut distinguer trois grands types de procédés :

1. Les traitements mécaniques : ils regroupent les opérations de **broyage**, **concassage** et **aplatissage**. Ces opérations, effectuées à l'aide de broyeurs à marteaux ou à rouleaux, ont pour effet de fragmenter les grains en petites particules afin d'augmenter la surface exposée aux agents digestifs.
2. Les traitements thermiques à sec : ils se distinguent par la source de chaleur utilisée et la durée d'exposition des grains. Le **toastage** consiste à chauffer les grains entre 120 et 140°C ; il existe plusieurs modes de transmission de la chaleur : par conduction sur un support solide, par convection d'air chaud ou par rayonnement infrarouge (**infranisation**) (Sauvant *et al.*, 2002). Ce traitement réduit la teneur en eau des céréales et aboutit à une expansion partielle du grain et une partie de l'amidon peut être gélatinisée (Fahrenholtz, 1994). L'**expansion** consiste à exposer les grains à une source de chaleur élevée (280 à 300°C) mais dans un temps court. La température interne du grain s'élevant rapidement, elle provoque son expansion et la gélatinisation de l'amidon. Cette opération provoquant une augmentation de la densité volumique des grains, elle peut être complétée par un aplatissage (Fahrenholtz, 1994).
3. Les traitements hydrothermiques sont également très répandus dans l'industrie de l'alimentation animale. Un procédé couramment utilisé est le **floconnage** au cours duquel

⁶ Source SNIA, 2003

le grain est porté, pendant 15 à 30 min, à une température autour de 90°C, dans une atmosphère à 17-18 % d'humidité, puis aplati ; c'est la pression des rouleaux qui conditionne le taux de gélatinisation de l'amidon. **La granulation** à chaud, quant à elle, est le procédé le plus utilisé dans l'industrie ; ses paramètres sont très variables et doivent être ajustés en fonction du type de matières premières incorporées dans l'aliment. Le chauffage est permis par l'effet mécanique de la presse et l'éventuel ajout de vapeur d'eau ; la chaleur ainsi appliquée peut être comprise entre une température légèrement au dessus de la température ambiante et 90°C. De même, l'humidité varie entre la teneur normale du grain et 17 %. En fonction de la température et de l'humidité apportée, une partie de l'amidon d'un aliment granulé peut être gélatinisée, mais celle-ci est généralement faible. Enfin, **l'extrusion** consiste à appliquer une pression et une température élevées pendant un temps très court (inférieur à 30 s) ; les aliments sont ensuite mis en forme par passage forcé au travers d'une ou plusieurs filières (Sauvant *et al.*, 2002). Cette opération conduit à la gélatinisation de l'amidon tout en limitant la perte d'autres nutriments (Fahrenholtz, 1994).

Les céréales sont un constituant essentiel de l'alimentation du bétail et des chevaux en particulier. En fonction de divers aspects et suivant les pratiques d'exploitation des chevaux, le choix des céréales et leur mode d'incorporation dans la ration varient. Les céréales peuvent être distribuées soit seules, soit incorporées dans des aliments du commerce, soit en association avec un aliment industriel. Quelle que soit l'activité des animaux, la distribution de céréales natives conduit à une ingestion quotidienne d'amidon comprise au minimum entre 144 et 564 g / 100 kg PV. L'amidon est une molécule complexe constituée d'homopolymères de glucose. En fonction de l'origine botanique, et même selon la variété, la teneur et les caractéristiques de l'amidon des végétaux peuvent être très variables. Pour pouvoir les incorporer facilement dans les aliments qu'elles fabriquent et favoriser leur assimilation par les animaux, les entreprises de l'alimentation animale soumettent les céréales à des traitements technologiques variés. En particulier pour les chevaux, le broyage suivi de la granulation est le procédé industriel le plus utilisé.

Ces différents aspects vont conditionner la valorisation de l'énergie apportée par l'amidon. Il convient donc maintenant d'identifier les mécanismes anatomo-physiologiques qui sont particulièrement impliqués dans la digestion antécœcale de l'amidon chez le cheval.

II. La digestion de l'amidon chez le cheval : mécanismes mis en œuvre en antécæcal

La digestion antécæcale de l'amidon est directement conditionnée par des facteurs anatomo-physiologiques. En effet, le temps de séjour des *digesta* dans la partie antécæcale du tube digestif, couplé à l'intensité des sécrétions enzymatiques et aux caractéristiques microbiennes et physico-chimiques des *digesta*, va influencer la vitesse et l'intensité de la digestion de l'amidon.

II.1. Transit des aliments dans la partie antécaecale du tractus digestif

La partie antécæcale du tractus digestif est composée de trois portions. La première est constituée de la bouche et l'œsophage, la seconde, de l'estomac et la troisième, de l'intestin grêle.

II.1.a Préhension des aliments et transit oesophagien

Le cheval est un consommateur raffiné, sa bouche est spécialement adaptée au tri des aliments. Les caractéristiques anatomiques de la cavité buccale impliquent une mastication poussée des aliments afin de permettre la déglutition des bols alimentaires, et ce d'autant plus que les rations sont riches en fourrages. Le choix des aliments ainsi que leur mode de distribution doivent être adaptés en fonction du temps disponible pour la prise des repas et de l'état de la denture.

La longueur totale de l'œsophage est de 125 à 150 cm. Il est divisé en trois parties distinctes : la partie cervicale (70 à 88 cm), la partie thoracique (53 à 60 cm) et la partie abdominale (2 à 3 cm) (Sisson, 1975).

Le mode de transport des aliments dépend avant tout de leur consistance. Les produits solides ou en bouillie sont acheminés dans l'estomac par les ondes péristaltiques de l'œsophage ; dans la portion thoracique ascendante, il peut se produire un ralentissement et même un arrêt du transit des bols alimentaires, quelle que soit la position du diaphragme, simplement parce que le péristaltisme ne peut surmonter la force de la pesanteur. Hill (1952, cité par Kolb, 1975) a rapporté que la traversée de toute la longueur de l'œsophage dure environ 12 secondes dont la moitié est consacrée au franchissement de la portion thoracique.

Le passage du cardia par le bol alimentaire est sous la dépendance à la fois du processus de déglutition et de l'état de réplétion de l'estomac : une réplétion excessive de l'estomac ou bien une interruption de la préhension des aliments favorisent l'arrêt du bol alimentaire en avant du cardia. Quand il est très volumineux, ce dernier est souvent divisé avant de pénétrer dans l'estomac.

Les liquides sont projetés dans la portion cervicale de l'œsophage beaucoup plus vite que les solides sous l'effet de la contraction de la langue et du pharynx ; si l'animal boit à grandes gorgées, les liquides se rassemblent en un courant continu dans la portion thoracique puis coulent dans l'estomac ; si les gorgées sont très espacées, elles arrivent le plus souvent directement dans l'estomac, sans arrêt dans cette portion thoracique (Kolb, 1975).

II.1.b Motricité de l'estomac et vidange gastrique

L'estomac des équidés a un volume réduit (capacité de 10 - 15 litres). Il ne représente que 4 à 10 % du volume total du tube digestif. Il se divise en trois zones principales (Figure 5) (Barone, 1978): le proventricule (ou *saccus cæcus*) est tapissé par la muqueuse proventriculaire ; cet épithélium stratifié non glandulaire peut être le siège d'ulcérations. La région fundique est tapissée par deux muqueuses : la muqueuse cardiale, qui sécrète du mucus et des bicarbonates, et la muqueuse fundique qui contient des cellules pariétales productrices d'acide chlorhydrique et des cellules sécrétrices de pepsinogène. L'antrum pylorique est tapissé par la muqueuse antrale qui contient des cellules à mucus et des cellules productrices de gastrine (Kolb, 1975). L'estomac est délimité par deux sphincters : le cardia et le pylore. L'orifice du cardia, est très étroit, presque obturé par les plis de la muqueuse œsophagienne. Cet agencement explique l'extrême rareté et la difficulté du vomissement chez ces animaux (Barone, 1978).

La vidange gastrique est permise par des ondes péristaltiques qui prennent naissance dans le corps de l'organe et vont en direction du pylore, tout en augmentant d'intensité (Kolb, 1975). Toutefois le rythme électrique est presque 5 fois moins élevés dans l'estomac que dans le duodénum (Merritt *et al.*, 1989), ce qui traduit une activité musculaire modérée. En outre, la faible puissance des contractions péristaltiques ne permet pas un mélange homogène des aliments ingérés avec la phase liquide du chyme gastrique, en particulier quand la bouillie de fourrages n'est pas assez fluidifiée (Kolb, 1975). La principale incidence de ce phénomène se traduit par un temps de demi vidange gastrique (T_{50}) plus court pour la phase liquide que pour la phase solide des *digesta* (Merritt, 1999).

Jusqu'à présent, il était communément admis que la rétention stomacale des *digesta* ne concernait que le dernier tiers de la ration consommée (Wolter, 1994) et que l'estomac ne jouait pas un grand rôle dans la régulation du transit digestif (Freeman, 1997). En effet, les travaux menés par Ruckebusch, avaient montré qu'il n'existait quasiment pas de relaxation réceptive de l'estomac pour stocker les aliments ingérés (Phaneuf et Ruckebusch, 1983). Par conséquent, il semblait que l'estomac devait se vidanger plusieurs fois au cours d'un même repas, en particulier quand celui-ci était volumineux (Wolter, 1994; Freeman, 1997). Les observations récentes, permises par les méthodes modernes comme la scintigraphie, ont mis en évidence que la vidange gastrique est un phénomène continu. Le temps de rétention des *digesta* et la vitesse de la vidange gastrique sont des paramètres qui varient considérablement en fonction de plusieurs facteurs. En plus de fortes différences interindividuelles (Sutton *et al.*, 2003), le volume et la composition du repas sont des critères déterminants : pour des aliments granulés, à volume égal, le temps de demi vidange est plus court pour un aliment riche en fibre que pour un aliment riche en amidon (respectivement, T_{50} : 93 ± 8 min et 143 ± 29 min). En outre, même si l'augmentation du volume du repas entraîne une augmentation du temps de séjour dans l'estomac (T_{50} : 265 ± 36 min), la vitesse maximale de vidange d'un gros repas (750 g / 100 kg PV) est plus élevée que celle du même aliment distribué en plus faible quantité (300 g / 100 kg PV) : 11 vs 8 g / min (Métayer *et al.*, 2003).

Il est probable que ces modifications de la vidange gastrique soient liées en partie à la relaxation réceptive de la partie proximale de l'estomac lors de l'ingestion du repas. Ce phénomène, qui se poursuit jusqu'à 90 min après l'ingestion, a en effet été démontré récemment grâce à l'utilisation de chevaux porteurs d'une canule gastrique. En particulier, il a été mis en évidence que l'intensité et la durée de la phase de relaxation sont liées à la fois au volume et à la nature du repas ingéré : elles sont plus élevées lors de la consommation de 1 g de foin / kg PV que lors de l'ingestion de 0,5 g de grain / kg PV (Lorenzo-Figueras *et al.*, 2002).

II.1.c Motricité et transit dans l'intestin grêle

L'intestin grêle des équidés se divise en trois parties : le duodénum (1 m), le jéjunum (18 à 25 m) et l'iléon (1 à 2 m) (Barone, 1978). Sa paroi est constituée d'une musculature très développée et d'une muqueuse épaisse tapissée de cellules en brosses productrices d'enzymes et participant activement à l'absorption des nutriments (Kolb, 1975).

Comme cela a été décrit chez d'autres espèces animales, l'intestin grêle présente une activité myoélectrique qui est corrélée à la motilité intestinale (Davies et Gerring, 1983) ; cette activité cyclique est désignée sous le terme de complexe moteur migrant (CMM) et peut être détectée chez l'animal nourri et à jeun. Elle est initiée dans le duodénum, se propage jusqu'à l'iléon distal et se décompose en trois phases : la phase I est caractérisée par des dépolarisations spontanées (ondes lentes) de la membrane des cellules musculaires mais non accompagnées de contractions ; la phase II présente des potentiels d'action, accompagnés de contractions musculaires, sur environ la moitié des ondes lentes ; la phase III est caractérisée par une activité musculaire intense liée à la présence de potentiels d'action sur chaque onde, elle permet la progression du bol alimentaire. Au moins 80 % de l'activité initiée dans le duodénum se propage jusqu'à l'iléon distal en 60 à 110 min et à une vitesse variant entre 12,5 et 30 cm / min (Ruckebusch, 1973). Chez le cheval, la périodicité des complexes est d'environ 69 min, ce qui aboutit à 20 CMM par jour (Davies et Gerring, 1983) ; cette particularité semble caractéristique des herbivores. Il a en effet été montré que le nombre de CMM quotidiens varie entre 15 et 20 pour les ruminants alors qu'il n'est que de 2 à 3 pour les carnivores et voisin de 10 chez l'homme (Ruckebusch, 1981 cité par Davies et Gerring, 1983). Chez le porc, il est intéressant de noter que seulement 40 % des CMM initiés dans le duodénum se propagent jusqu'à l'iléon ; ainsi, sur une période de 24 h, dénombre-t-on 20 CMM dans le duodénum, 16 dans le jéjunum, et seulement 11 dans l'iléon (Laplace *et al.*, 2001).

Des études réalisées chez le chien et le porc ont montré que le CMM était interrompu, ou simplement altéré, lors de l'ingestion d'aliments. Si l'interruption de CMM n'a pas été rapportée chez le cheval, il a été observé que la prise alimentaire prolongeait la durée de la phase II au dépend de la phase I chez des animaux recevant deux repas quotidiens de concentrés et du foin à volonté (Berry *et al.*, 1986). Par contre, le CMM n'est pas modifié quand les animaux reçoivent seulement du foin à volonté par rapport à l'état de jeûne (Davies et Gerring, 1983). En fait, il semblerait que les plus grosses altérations du CMM aient lieu lors de l'ingestion d'un gros repas de concentrés. Il en résulterait une augmentation de l'activité propulsive de l'intestin (Ruckebusch, 1981 cité par Clarke *et al.*, 1990 ; Combrisson, 1991).

II.1.d Facteurs de variation du transit antécæcal

Même s'ils ne permettent pas d'isoler les rôles respectifs de l'estomac et de l'intestin grêle, il existe quelques travaux mettant en évidence l'influence de l'alimentation sur la durée du séjour antécæcal des *digesta*. Dans une étude bibliographique regroupant des mesures utilisant des marqueurs indigestibles, Medina *et al.* (2002a) ont rapporté que le temps de rétention moyen (TRM) des particules en antécæcal était de $6:50 \pm 1:12$ h tandis que celui des liquides était inférieur ou égal à 2:00 h. Cependant, les données synthétisées dans cette étude sont à prendre avec précaution car elles résultent souvent de la différence entre le temps de transit total et le temps de transit dans le gros intestin ; les TRM antécæcaux sont donc obtenus indirectement. En outre, l'emploi des marqueurs pour faire ces mesures doit être étudiée de façon critique car les résultats peuvent être interprétés de façon erronée. Ainsi, en incorporant un granulé d'oxyde de chrome dans la ration, Nyberg *et al.* (1995) ont mesuré un TRM antécæcal de la phase solide des *digesta* compris entre 1:17 et 1:34 h. Ces résultats étant très inférieurs à la moyenne de ceux présentés plus haut, il est vraisemblable qu'ils résultent de la dissolution du marqueur dans la phase liquide des *digesta*. Enfin, une autre façon d'approcher la durée du transit antécæcal repose sur l'utilisation de sachets de nylon intubés dans l'estomac et récupérés dès leur arrivée dans le cæcum (Macheboeuf *et al.*, 1995 et 1996). Les TRM rapportés sont compris entre 3:30 h et 5:54 h. Là encore, les résultats sont à considérer avec précaution car la récupération des sachets pendant la période de collecte n'est pas toujours totale ; ceci constitue donc une limite à la précision du calcul des TRM.

Des critères comme la teneur en constituants pariétaux, la forme de présentation des aliments et les pratiques alimentaires peuvent interagir et conditionner la durée du temps de séjour des *digesta* dans la partie antécæcale du tube digestif. Ainsi, il a été mis en évidence qu'une augmentation de la proportion de constituants pariétaux dans la ration accélère le transit antécæcal (Muuss *et al.*, 1982). Par ailleurs, la condensation des aliments semble provoquer l'allongement du TRM des particules : 7:42 h vs 9:54 h entre un régime grossier, composé de 70 % de paille et 30 % de concentrés, et le même régime sous forme condensée (Cabrera, 1995). Toutefois, le résultat inverse a été observé entre un foin haché et le même foin broyé aggloméré (3:36 h vs 2:00h) (Drogoul, 2000). En outre, quand la ration est distribuée sous forme granulée, la teneur en fibres de l'aliment ne semble pas interférer sur la durée du transit antécæcal : 8:06 vs 8:18 h entre un granulé riche en fibres et un granulé riche en amidon (Medina, 2003). Il semble donc que la présence de concentrés dans la ration ainsi que la forme de présentation de l'aliment soient deux facteurs qui interagissent entre eux sur la

vitesse de transit des *digesta* dans la partie antécœcale du tractus digestif. Enfin, le temps de séjour d'un repas de concentrés en antécœcal est également allongé lorsque le repas de fourrage est distribué avant celui de concentrés (Muuss *et al.*, 1982 ; Tisserand, 1992).

Parmi les quelques données obtenues à l'aide des sachets mobiles, on constate que le TRM antécœcal est peu affecté par la composition de la ration mais surtout par l'ordre de distribution des aliments. En effet, pour une ration 100 % foin, le TRM est compris entre 3:30 h et 4:30 h et, pour une ration composée de 70 % de foin et de 30 % d'orge, le TRM est de 3:42 h. Par contre, pour cette dernière ration, quand la distribution des aliments est inversée (orge en premier), le TRM atteint 5:54 h (Macheboeuf D., communication personnelle 1997). Cette observation semble contradictoire avec celle de Muuss *et al.* (1982) et soulève la limite de l'utilisation de sachets mobiles comme indicateur du transit antécœcal. Dans ses travaux, Macheboeuf récupérait en moyenne 50 % des sachets intubés au cours des 7:30 h suivant l'intubation, il existe donc une incertitude sur les caractéristiques du transit des 50 % restants.

II.2. Sécrétions digestives, digestion de l'amidon et absorption intestinale

Les aliments qui sont consommés vont être soumis à l'action des différentes sécrétions produites dans la bouche, l'estomac et l'intestin grêle. Outre la dilution du bol alimentaire, ces sécrétions vont modifier ses caractéristiques physiques et biochimiques afin de permettre la digestion et l'absorption des nutriments.

II.2.a Sécrétions salivaires et digestion dans la cavité buccale

La mastication intense des aliments est accompagnée d'une sécrétion abondante de salive chargée d'humidifier les aliments ; en moyenne la production quotidienne de salive est de 40 kg. Chez le cheval, la sécrétion salivaire est déclenchée presque exclusivement par des excitations mécaniques (Colin, 1886 cité par Alexander, 1966). La quantité de salive produite semble liée à la nature (taux d'humidité) de l'aliment ingéré (Kolb, 1975) ainsi qu'à la durée de préhension du repas (Meyer *et al.*, 1986) : la quantité de salive produite par minute est d'autant plus élevée que le cheval consomme rapidement sa ration (Tableau 4). Cependant, ces variations de production ne permettent pas d'homogénéiser l'hydratation du bol dégluti : alors qu'elle est comprise entre 85 et 89 % pour des fourrages, elle n'atteint que 62 à 67 % pour des aliments concentrés (Meyer *et al.*, 1986).

La salive est produite par trois glandes principales : la glande parotide, la glande sous-maxillaire et la glande sublinguale. La parotide est la glande la plus volumineuse (Sisson, 1975) et produit la majorité de la salive. Les caractéristiques de la salive produite sont inhérentes à la glande sécrétrice (Tableau 5) et liées en particuliers au type de cellules composant la glande (séreuse et/ou muqueuse) (Kolb, 1975).

L'étude de la sécrétion salivaire montre que le pH de la salive du cheval est voisin de 7,6 (valeurs comprises entre 7,3 et 7,8). Elle contient essentiellement des chlorures, des phosphates et des bicarbonates de potassium, de sodium et de calcium. Il existe peu de données sur la composition de la salive entière et les résultats semblent liés à la méthodologie employée pour la collecter (Tableau 6). Les mesures effectuées par Eckersall *et al.* (1985) sur la salive entière, prélevée sur 6 animaux, ont mis en évidence des variations entre animaux ainsi que des variations au cours du temps pour un même animal. Les auteurs suggèrent que c'est la variation de la contribution relative de chaque glande qui est la principale explication des différences de composition de la salive. En effet, pour chaque glande, la composition de la salive peut varier considérablement, ainsi la concentration en électrolytes de la sécrétion parotidienne est-elle une fonction du débit de salive sécrétée (Alexander, 1966). Cependant, il semble que les caractères principaux (% eau, % matière organique, % matière minérale) de la sécrétion parotidienne ne varient pas en fonction de la composition des repas (Kolb, 1975).

Une des particularités de la salive du cheval est sa pauvreté en α -amylase (Roberts, 1975). L'étude de la bibliographie ne permet pas de trouver de donnée exacte de l'activité de l'amylase salivaire, toutefois, des mesures non publiées, effectuées dans notre laboratoire, ont évalué cette activité à 0,5 U / g de salive ce qui est effectivement extrêmement faible comparé à d'autres espèces monogastrique. Il est donc fort probable que l'hydrolyse de l'amidon au niveau buccal soit très limitée et même négligeable.

II.2.b Sécrétions gastriques et digestion stomacale

Les sécrétions gastriques renferment des constituants organiques (des enzymes protéolytiques, une lipase, du mucus) et des constituants inorganiques (essentiellement de l'acide chlorhydrique). Chez le cheval, la sécrétion de suc gastrique est continue mais elle est stimulée par la préhension des aliments ainsi que par des réflexes conditionnés ; la quantité produite par jour peut atteindre 30 litres (Popow, cité par Kolb, 1975).

Il est très difficile de connaître précisément les caractéristiques des sécrétions gastriques étant donné que même chez le cheval à jeun, le contenu prélevé au niveau d'une canule gastrique renferme presque obligatoirement des produits issus du reflux duodéal (l'effet tampon de la salive est ignoré car la production de salive étant liée à l'activité alimentaire, elle est négligeable chez un cheval à jeun) (Merritt, 1999). C'est l'étude du contenu gastrique prélevé sur des animaux sous infusion de pentagastrine, et dont le pylore est obstrué, qui permet de connaître la composition électrolytique de la sécrétion gastrique suite à l'ingestion d'un repas (Tableau 7) (Kitchen *et al.*, 2000). En effet, la gastrine est un polypeptide hormonal, sécrété dans l'estomac, qui est produit lors des phénomènes mécaniques, nutritionnels et neuro-hormonaux mis en œuvre suite à l'ingestion d'aliments (Guilloteau *et al.*, 1994). Chez le cheval, la gastrine stimule les sécrétions gastriques et pancréatiques (Kitchen *et al.*, 2000) de la même façon que chez les autres espèces monogastriques (Thompson *et al.*, 1987 cité par Guilloteau *et al.*, 1994).

En raison du faible nombre d'études réalisées et de la diversité des objectifs des chercheurs, il est peu aisé de décrire les caractéristiques physico-chimiques du chyme gastrique au cours d'un repas. Néanmoins, le pH du contenu stomacal est un critère assez bien documenté. Il varie, en fonction de nombreux paramètres comme le statut nutritionnel (nourri *vs* à jeun), le temps écoulé depuis l'ingestion du repas, la zone de l'estomac étudiée et la composition de la ration ingérée. Ainsi, la prise alimentaire permet-elle de diminuer l'acidité gastrique (pH 3,1 *vs* 1,6 respectivement pour un animal nourri et à jeun) (Murray et Schusser, 1993), avec des valeurs fluctuant autour de 3,0 unités pH dans les 4 h postprandiales (Merritt A., communication personnelle 2002). Ces valeurs obtenues à l'aide d'une électrode placée à l'intérieur de l'estomac, *via* une sonde naso-gastrique, sont toutefois inférieures à celles mesurées dans des contenus prélevés sur chevaux sacrifiés (pH 5,4 dans la région fundique, Kern *et al.*, 1974 ; pH 5,2 à 5,0, Wolter et Chaabouni, 1979) et celles obtenues avec contenus gastriques prélevés *via* une canule stomacale (pH compris entre 5,0 et 7,0 au cours des 4 heures suivant le repas) (Healy *et al.*, 1995).

L'utilisation d'une sonde placée à l'intérieur de l'estomac permet sans doute des mesures plus précises que celles effectuée sur du contenu prélevé hors de l'animal. Cependant, les mesures intra-gastriques sont intimement liées à la position de la sonde dans l'organe. En effet, des mesures effectuées sur chevaux sacrifiés ont montré une baisse du pH de 5,4 à 2,6 entre la région fundique et la région pylorique (Kern *et al.*, 1974) et de 5,9 à 5,1 puis à 3,8 entre le *saccus caecus*, le fundum et l'antra pylorique (Morris *et al.*, 2003). Cette baisse du pH est

également conditionnée par la nature du régime. En particulier, lorsque les chevaux reçoivent un régime riche en fibre, une sorte de stratification du contenu gastrique se produit en fonction de ses caractéristiques physiques : les matériaux fibreux semblent s'accumuler en surface de la masse de contenu, le chyme gastrique devient plus homogène et plus liquide quand on descend vers le fond de l'organe et qu'on se rapproche de la muqueuse productrice d'acide chlorhydrique. Il en résulte une baisse constante du pH (de 5,0 à 2,0 environ) lorsqu'une sonde est plongée au travers des différentes couches de contenu jusqu'à la muqueuse fundique (Baker et Gerring, 1993). Cette stratification peut avoir deux conséquences majeures : la première est que l'effet tampon de la salive se limite sans doute à la partie supérieure du contenu gastrique, la deuxième est que c'est seulement le contenu situé en partie basse de l'organe qui sera véritablement mélangé aux sécrétions gastriques.

Malgré l'action négligeable de l' α -amylase salivaire, de nombreux auteurs ont observé qu'une partie de l'amidon ingéré disparaît dans l'estomac (Ellenberger *et al.*, cité par Kolb, 1975 ; (Wolter et Chaabouni, 1979; Wolter *et al.*, 1980). Cette disparition pourrait être liée en partie par l'arrivée d' α -amylase pancréatique par le biais du reflux duodéal, or celui-ci reste à être démontré chez l'animal nourri. Enfin, compte tenu des conditions de pH et de la présence d'acide lactique et d'acides gras volatils dans le contenu gastrique (Kern *et al.*, 1974; Wolter *et al.*, 1980; Healy *et al.*, 1995; Morris *et al.*, 2003), il est fort probable que cette digestion soit d'origine microbienne ; cet aspect sera discuté plus loin (cf. II.3).

II.2.c Sécrétions et digestion enzymatique de l'amidon dans l'intestin grêle

1) Sécrétion pancréatique, biliaire et intestinale

A la sortie de l'estomac, le chyme va être soumis aux sécrétions intestinales (5 à 7 L / jour), pancréatiques (7 L / jour) et biliaires (5 L / jour) (Wolter, 1984). La bile, en l'absence de vésicule biliaire, ainsi que les sécrétions pancréatiques sont déversées de façon continue (Alexander et Hickson, 1970) dans la partie craniale du duodénum (Barone, 1978). Entre le pylore et cette zone, la muqueuse du duodénum est tapissée de glandes à mucus : les glandes de Brunner. Ce mucus va avoir pour principale fonction de protéger le duodénum de l'action des sécrétions gastriques (Freeman, 1997).

Les sécrétions digestives du foie et de l'intestin sont peu documentées chez le cheval. D'une manière générale, la bile comporte des produits d'élimination (pigments biliaires, cholestérol) et des substances à action digestive (majoritairement des sels biliaires) (Barone, 1978).

Comparées à d'autres espèces, les sécrétions pancréatiques du cheval ont des caractéristiques inhabituelles (Alexander et Hickson, 1970) :

- elles sont profuses et continues à l'état basal,
- elles peuvent être augmentées à des taux très élevés par le biais de stimulations nerveuses et hormonales,
- leur concentration en ions bicarbonate reste basse et n'excède par celle des chlorures,
- leur teneur en enzymes digestives, α -amylase en particulier, est très faible.

La composition électrolytique des sécrétions produites dans le duodénum (Tableau 8) permet de diminuer l'acidité du contenu intestinal en amenant le pH à des valeurs proches de la neutralité (Alexander, 1962 cité par Alexander et Hickson, 1970). Les conditions de pH sont ainsi propices à l'activation des enzymes digestives. En outre, la concentration en ions HCO_3^- augmente tout au long de l'intestin grêle pour atteindre son maximum dans la partie distale de l'iléon. Ceci permet au contenu digestif déversé dans le gros intestin de tamponner les acides organiques issus des fermentations microbienne ayant lieu dans cette partie du tractus digestif (Alexander et Hickson, 1970).

2) Digestion enzymatique de l'amidon

L'amidon et les glucides simples sont hydrolysés dans l'intestin grêle par les enzymes produites par l'organisme. L'action de l' α -amylase pancréatique (Alexander et Chowdhury, 1958) est complétée par celle des α -glucosidases et des disaccharidases (sucrase, lactase, maltase) de la bordure en brosse de l'intestin (Roberts, 1974 ; Roberts, 1975).

Une partie de l' α -amylase pancréatique est adsorbée sur la bordure en brosse de l'épithélium intestinal. Après avoir été identifiée pour la première fois par Alexander et Chowdhury en 1958, les travaux de Roberts (1974) ont mis en évidence que l'activité de cette enzyme au niveau de la muqueuse est très inférieure à celle mesurée chez d'autres espèces animales. L'autre partie de l' α -amylase peut être détectée directement dans le contenu intestinal et, de la même façon, on constate que l'activité α -amylasique est inférieure à celle mesurée chez d'autres espèces (Kienzle, 1993) (Tableau 9). En outre, les valeurs présentées par Roberts ont été mesurées sur des animaux nourris au foin. Elles ne reflètent donc pas l'activité qui peut être mesurée pour une ration riche en amidon. En effet, des essais publiés 20 ans plus tard ont montré que l'incorporation de céréales dans la ration augmente significativement l'activité de l' α -amylase dans le chyme jéjunal : 5 heures après le repas, l'activité α -amylasique était de 30,8 contre 15,0 U / g de contenu, respectivement pour un régime incluant des céréales et un

régime 100 % foin (Kienzle *et al.*, 1994). De plus, l'activité α -amylasique dans le chyle jéjunal augmente régulièrement au cours des 4 heures suivant le repas pour rejoindre son état basal seulement 8 heures après celui-ci (Figure 6).

Par ailleurs, l'activité α -amylasique semble également liée à l'origine botanique de l'amidon : si Kienzle *et al.* (1994) n'ont pas noté de différence significative entre l'avoine, l'orge et le maïs (respectivement $33,3 \pm 16,6$, $31,5 \pm 11,6$ et $27,9 \pm 14,3$ U / g), un écart significatif dans le chyle jéjunal a été mesuré entre des rations à base d'avoine ($37,2 \pm 20,6$ U / g) ou de maïs ($25,8 \pm 15,6$ U / g) (Radicke *et al.*, 1992). Par contre, l'amidon apporté par les tubercules (pomme de terre ou manioc) n'entraîne pas de modification de l'activité α -amylasique par rapport à une ration 100 % foin (Illenseer, 1994; Kienzle *et al.*, 1994). Enfin, le traitement technologique ne semble pas avoir d'influence sur cette activité enzymatique : aucune modification de l'activité α -amylasique n'a été constatée entre l'avoine distribuée sous forme entière, aplatie ou broyée (Radicke *et al.*, 1992), ni entre du maïs entier, concassé, broyé ou expansé (Radicke *et al.*, 1992; Kienzle *et al.*, 1994).

L'effet de la distribution de fourrage avec les céréales sur l'activité de l' α -amylase dans le chyle jéjunal semble controversée : Kienzle *et al.* (1994) n'ont pas constaté de différences entre des céréales distribuées seules ou avec des fourrages, tandis que Illenseer (1994) a rapporté une activité α -amylasique plus faible avec de l'avoine associée à de la luzerne broyée ($21,8 \pm 13,9$ U / g) qu'avec la même céréale associée à du foin ($37,2 \pm 11,8$ U / g). En outre, le maïs ensilé induit une activité enzymatique identique à celle du régime 100 % foin (Kienzle *et al.*, 1994).

Quand la quantité d'amidon distribuée par repas est importante, elle peut conduire à la saturation de sa digestion dans l'intestin grêle : la production d' α -amylase pancréatique apparaît alors comme un facteur limitant (Radicke *et al.*, 1991). Ceci a pu être confirmé lors de la distribution de maïs broyé : la supplémentation de la ration en amylase a augmenté de plus de 10 points la digestibilité iléale de l'amidon (de 45,6 % à 57,7 %) (Meyer *et al.*, 1993).

L' α -amylase est une endoglucosidase qui hydrolyse les liaisons α -1,4 des polysaccharides contenant au moins 3 unités glucose reliées en α -1,4. Elle peut donc hydrolyser partiellement l'amidon ingéré. Son action conduit à la formation des dextrines limites, de maltotrioses, de maltose et de glucose ; elle est complétée par celle de l'amyloglucosidase, qui hydrolyse les liaisons α -1,4 et α -1,6, ainsi que par celle des maltases. Chez le cheval, il a été démontré que

l'activité maltasique est élevée par rapport à l'homme ou au mouton, et similaire tout au long de l'intestin grêle (0,880, 0,998 et 0,742 $\mu\text{mol} / \text{min} / \text{mg}$ de protéine, respectivement dans le duodénum, le jéjunum et l'iléon) (Dyer *et al.*, 2002). Par conséquent, l'hydrolyse du maltose ne semble pas être un facteur limitant chez le cheval (Roberts, 1975)

Le D-glucose issu des hydrolyses enzymatiques successives est absorbé par les cellules de la bordure en brosse de l'épithélium intestinal grâce à des transporteurs sodium dépendants (SGLT 1). Ces transporteurs sont communs à de nombreuses espèces animales et, chez le cheval, leur expression au niveau de la bordure en brosse diminue graduellement du duodénum à l'iléon ; cette observation est concomitante avec la diminution de la capacité à absorber le glucose tout au long de l'intestin grêle (200, 116 et 38 pmol de glucose absorbé / s /mg de protéine, respectivement dans le duodénum, le jéjunum et l'iléon) (Dyer *et al.*, 2002). Toutefois, ces mesures ont été effectuées à partir de muqueuse intestinale prélevée sur des chevaux consommant un régime à base d'herbe. Par conséquent, étant donné les observations rapportées au sujet de l' α -amylase, il est possible que chez des animaux consommant une ration gluco-formatrice, la capacité d'absorption du glucose soit supérieure, au moins dans le jéjunum. D'ailleurs, l'application du test de tolérance au glucose a mis en évidence que son absorption n'est pas un facteur limitant (Roberts, 1975).

II.3. L'écosystème antécæcal : un rôle à identifier

Le cheval tire profit de l'énergie des glucides pariétaux des fourrages grâce aux micro-organismes résidant dans son gros intestin. Les travaux menés ces 30 dernières années ont contribué à les identifier (Davies, 1964; Bonhomme-Florentin, 1969; Orpin, 1981; Baruc *et al.*, 1983; Mackie et Wilkins, 1988; Julliand, 1996; Jourda de Vaux, 1997) et à connaître leurs activités ainsi que les paramètres influençant leur développement (Garner *et al.*, 1978; Goodson *et al.*, 1988; Drogoul, 2000; de Fombelle *et al.*, 2001b; Julliand *et al.*, 2001; Medina, 2003). L'écosystème antécæcal est peu documenté alors que le tractus digestif des chevaux, comme celui de nombreuses autres espèces animales (Stevens et Hume, 1998), est intégralement colonisé par les micro-organismes. En particulier, ces derniers sont probablement responsables de l'initiation de la digestion de l'amidon dans l'estomac (cf. II.2.b).

II.3.a Micro-organismes identifiés

Les données concernant la microflore antécæcale sont assez rares chez le cheval, et l'estomac reste le compartiment digestif le plus exploré. Avec une concentration comprise entre $2,9 \times 10^6$ et 2×10^8 colonies par ml de contenu, les bactéries anaérobies strictes sont présentes dans des proportions comparables à celle du gros intestin (Kern *et al.*, 1974). D'un point de vue qualitatif, les outils de biologie moléculaire ont permis de démontrer que toutes les zones de l'estomac sont colonisées par des micro-organismes ; leur biodiversité ainsi que la variation de dominance entre les différentes espèces semblent varier entre le *saccus cæcus*, la région fundique et la région pylorique (Morris *et al.*, 2003). Contrairement à celle des compartiments post-iléaux, la flore cellulolytique est largement minoritaire tandis que les populations les plus représentées sont les bactéries productrices d'acide lactique (lactobacilles et streptocoques) ainsi que les bactéries lacticoxytiques (Tableau 10) (Alexander et Davies, 1963; Kern *et al.*, 1974; Mackie et Wilkins, 1988). A notre connaissance, aucune espèce de champignon ou de protozoaire n'a été identifiée dans la partie antécæcale du tube digestif chez le cheval.

Parmi les populations microbiennes, les lactobacilles de l'estomac ont recueilli le plus d'attention : à partir de leurs propriétés physiologiques et des profils fermentaires de glucides, Fujisawa *et al.* (1993) ont caractérisé la présence de *Lactobacillus reuteri* et de *L. acidophilus* ; par contre, ils n'ont pas détecté la présence de *L. salivarius*. Plus récemment, des travaux centrés sur les populations de lactobacilles colonisant la muqueuse non glandulaire de l'estomac ont identifié, grâce à l'utilisation de sondes oligo-nucléotidiques, la présence de *L. salivarius*, *L. crispatus*, *L. agilis* et *L. reuteri* (Yuki *et al.*, 2000). Il existe peu d'information concernant les souches de streptocoques colonisant la partie antécæcale du tube digestif ; sans préciser exactement le lieu de prélèvement, Alexander et Davies (1963) ont identifié *Streptococcus bovis* et *S. equinus* ainsi qu'une souche ressemblant à *S. lactis*. Parmi les bactéries utilisatrices d'acide lactique, trois types de bactéries ont été identifiées : *Veillonella gazogenes*, *L.C. coccus* et une souche d'*Escherichia coli* (Alexander et Davies, 1963).

A l'heure actuelle, les informations concernant les facteurs de variation de la flore antécæcale des équidés sont rares. Chez le chien, il a été démontré que la composition du régime influe sur la composition de sa flore iléale, en particulier quand le régime n'est pas équilibré (Zentek, 1995a), mais aussi sur l'activité des micro-organismes (Zentek, 1995b) ; chez le poulet, la quantité de bactéries adhérant à la muqueuse intestinale est conditionnée par le type

de céréales utilisées ainsi que par la teneur en NSP (Hubener *et al.*, 2002). Chez le cheval, seules deux études ont tenté d'identifier l'effet de l'alimentation sur le profil microbien de l'écosystème antécæcal. Ainsi, sur des animaux sacrifiés, il a été observé que la teneur en lipopolysaccharides, qui est un marqueur de la masse de bactéries gram négatives, était supérieure dans l'intestin grêle quand les chevaux consomment une ration composée de 90 % de concentrés (valeurs comprises entre 0,1 et 1,6 et entre 1,0 et 28,5 $\mu\text{g} / \text{g}$ de contenu digestif, respectivement pour des chevaux recevant une ration 100 % foin et une ration 90 % concentrés – 10 % foin) ; par contre, dans l'estomac, aucun effet du régime n'a été constaté sur ce paramètre (Kamphues, 1992). L'utilisation de chevaux porteurs d'une canule au niveau du jéjunum a permis de montrer que le profil microbien ainsi que les concentrations de bactéries sont modifiés suivant le moment de prélèvement (à jeun vs 4 h ppr) et la composition du régime (Tableau 11) : ainsi la flore principale est-elle plus stimulée par des rations à base d'orge, de « maïs + amylase » et de « maïs + luzerne déshydratée ». En outre, le ratio entre les bactéries productrices d'acide lactique et celles productrices d'AGV est plus équilibré pour les rations « maïs + amylase » et « maïs + luzerne déshydratée » que pour l'orge (Kollarczik *et al.*, 1992).

II.3.b Paramètres fermentaires

La présence d'acides organiques dans le contenu digestif prélevé dans les segments antécæcaux atteste de l'activité fermentaire des bactéries colonisant cette partie du tractus digestif. La production d'acide lactique semble être du même ordre que celle des acides gras volatils. Cette particularité pourrait être spécifique aux compartiments antécæcaux car en effet, dans le gros intestin, c'est la production d'AGV qui prédomine (Alexander et Davies, 1963; Kern *et al.*, 1974). Par ailleurs, cette répartition des acides organiques dans le tube digestif a également été observée chez le porc : la teneur en acide lactique est comprise entre 10 et 40 mmol / L en antécæcal et entre 10 et 20 mmol / L dans le gros intestin, tandis que la teneur en AGV est inférieure à 20 mmol / L en antécæcal et atteint 100 à 140 mmol / L en postiléal (Knudsen *et al.*, 1991).

Dans l'estomac, la concentration en lactate est comprise entre 2,9 et 60,4 mmol / L (Alexander et Davies, 1963 ; Kern *et al.*, 1974 ; Wolter et Chaabouni, 1979 ; Morris *et al.*, 2003). La diversité des valeurs est probablement liée à différents facteurs dont il est difficile d'évaluer la prédominance. En effet, la plupart des données a été obtenue sur des animaux sacrifiés ; les valeurs reflètent donc la teneur en lactate à un instant t qui n'est pas forcément

représentatif de la dynamique de production de lactate suite à l'ingestion d'un repas (Alexander et Davies, 1963; Kern *et al.*, 1974; Wolter et Chaabouni, 1979) (Tableau 12). Ceci peut être illustré par des mesures effectuées en cinétique sur des contenus gastriques prélevés *via* une canule : si la concentration en L-lactate est inférieure à 2,0 mmol / L, 90 min après l'ingestion d'un repas de granulés, elle augmente ensuite progressivement pour atteindre 13,0 mmol / L, 6 heures après le repas (Healy *et al.*, 1995). De la même façon, des variations de la teneur en acide D-lactique et L-lactique, respectivement de 0,4 à 13,4 mmol / L et de 0,6 à 17,8 mmol / L, ont été rapportées suite à la consommation de foin de brome (Nadeau *et al.*, 1997). En outre, la teneur en lactate semble également être fonction de la zone prélevée : elle peut être simultanément de 12,7 mmol / L dans le *saccus cæcus*, 60,4 mmol / L dans le *fundum* et 40,7 mmol / L dans la région pylorique (Morris *et al.*, 2003). Enfin, les données disponibles concernent essentiellement le L-lactate et seulement deux études ont rapporté la concentration des deux isomères ; nous avons ainsi déterminé que le L-lactate constitue 60 à 75 % du lactate total (Wolter et Chaabouni, 1979 ; Nadeau *et al.*, 1997).

En ce qui concerne les AGV, il existe peu de données et, là encore, il est fort probable que le temps écoulé depuis l'ingestion du repas, la composition du régime, ainsi que le lieu de prélèvement (Tableau 13) influent sur leurs concentrations. Si on exclut le *saccus cæcus*, la concentration en AGV totaux est généralement voisine des 10 mmol / L avec un maximum pouvant excéder les 56 mmol / L (Kern *et al.*, 1974 ; Morris *et al.*, 2003 ; Stillions *et al.*, 1970 cités par Nadeau, 2001). Avec une concentration comprise entre 8 et 50 mmol / L (Alexander et Davies, 1963; Kern *et al.*, 1974; Nadeau *et al.*, 1997; Morris *et al.*, 2003 ; Stillions *et al.*, 1970 cités par Nadeau, 2001), l'acétate représente environ 80 % des AGV synthétisés dans l'estomac. En outre, il est intéressant de noter que le profil des AGV produits semble lié à la composition de la ration : les concentrations en acide acétique et en acide propionique dans l'estomac de chevaux consommant une ration à base de foin de luzerne et de céréales sont supérieures à celles mesurée chez les même chevaux consommant un foin de brome (Nadeau *et al.*, 1999).

L'étude des compartiments de l'intestin grêle montre des concentrations en lactate comprises entre 0 et 28,1 mmol / L (Alexander et Davies, 1963; Argenzio *et al.*, 1974; Kern *et al.*, 1974; Wolter et Chaabouni, 1979; Wolter *et al.*, 1980; Kleffken, 1993; Illenseer, 1994) et des concentrations en AGV totaux comprises entre 3,9 et 39,1 mmol / L (Kern *et al.*, 1974; Wolter *et al.*, 1980; Kleffken, 1993; Illenseer, 1994). Comme pour l'estomac, l'inventaire des données disponibles semble indiquer que les acides organiques sont synthétisés tout au long

de l'intestin grêle. En effet, compte tenu de leur absorption probable par les cellules épithéliales de l'intestin, le lactate et les AGV dosés dans le jéjunum et l'iléon ne peuvent provenir uniquement des fermentations gastriques (néanmoins, des teneurs élevées au niveau iléal pourraient être liées en partie au reflux cæcal).

Comme l'illustre la production de lactate, la synthèse d'acides organiques semble continue et évoluer en fonction du temps écoulé depuis l'ingestion du dernier repas (Tableau 14). En outre, la composition de la ration influe sur la production d'acides organiques. Il semble en particulier que l'ajout de céréales dans la ration, et en particulier d'avoine, stimule la synthèse de lactate (Tableau 12) et des AGV (Tableau 15) ; le profil des AGV produits apparaît également influencé par la composition de la ration mais aucune tendance générale ne peut être dégagée. Dans le chyme jéjunal, il a également été démontré que, à quantité d'avoine ingérée égale, l'ajout de 10 % de lipides retarde le pic de production de lactate dans le jéjunum (7 vs 5 h ppr) et diminue la concentration en lactate (Landes et Meyer, 1998).

II.3.c Rôle nutritionnel et sanitaire de la microflore intestinale

Jusqu'à présent, le fait que les conditions de pH et de milieu soient favorables au développement des micro-organismes dans l'estomac et l'intestin du cheval était considéré comme une fragilité de l'animal le prédisposant aux ulcères gastriques, quand les acides organiques sont synthétisés en trop grande quantité (Nadeau *et al.*, 1997; Nadeau *et al.*, 1999), et au développement de bactéries pathogènes dans le cas où il consommerait des aliments contaminés (Wolter, 1994).

Chez les autres espèces animales, porcines et aviaires en particulier, la flore intestinale était traditionnellement considérée comme un compétiteur vis à vis de l'utilisation de la ration alimentaire (Canibe *et al.*, 2001). Jusqu'à une période très récente, des antibiotiques étaient régulièrement intégrés dans l'alimentation de ces animaux. Or, l'évolution de la réglementation en matière de nutrition animale, avec l'interdiction de ces substances, a poussé les chercheurs à considérer cette population microbienne sous un autre angle. Alors qu'ils n'ont jamais été pris en considération chez le cheval, les rôles des micro-organismes commensaux dans la nutrition spécifique de l'hôte ainsi que leur effet protecteur vis à vis des pathogènes a pu être mis en évidence.

1) Rôle nutritionnel :

Chez le cheval, la prédominance de la flore productrice d'acide lactique (streptocoques et lactobacilles), concomitante à la présence d'acide lactique et d'AGV, confirme que cette flore est active dans les segments antécœcaux. Cette activité a d'ailleurs déjà été démontrée chez d'autres espèces animales comme le porc, le poulet et le chien (Knudsen *et al.*, 1991; Murray *et al.*, 2001; Hubener *et al.*, 2002). En outre, il semble que l'intensité fermentaire des micro-organismes est liée au temps de séjour des digesta dans les portions étudiées. Ainsi, en comparant le cheval et le porc, il semble qu'on puisse relier l'intensité de l'activité microbienne à l'activité myoélectrique de l'intestin grêle (cf. II.1.c). En effet, chez le porc, l'activité microbienne la plus élevée, mesurée à travers la production d'ATP, est observée dans le dernier tiers de l'intestin grêle (Jensen, 1988) où la motricité est la plus lente (Laplace *et al.*, 2001). Tandis que chez le cheval, dont la motricité de l'intestin grêle est plus élevée et plus homogène que chez le porc, l'intensité des fermentations microbiennes semble être du même ordre tout au long de l'intestin grêle (les concentrations en acides organiques semblant similaires entre le duodénum, le jéjunum et l'iléon).

Les glucides sont l'un des principaux substrats utilisés par les micro-organismes antécœcaux ; ceux-ci incluent essentiellement l'amidon et les sucres simples. En effet, chez le cheval, la dégradation des polysides pariétaux semble très modérée dans cette partie du tube digestif : la contribution antécœcale à la disparition totale *in sacco* des NSP est comprise entre 9 et 15 % (Moore-Colyer *et al.*, 2002). Ceci semble spécifique au cheval car, chez le porc iléostomisé, on a pu mettre en évidence qu'une fraction importante des pectines, des hémicelluloses et de la cellulose pouvait être dégradée en antécœcal (Rowan *et al.*, 1992). A l'inverse de la cellulose, une étude menée sur des chevaux sacrifiés a permis de mesurer une digestibilité apparente de l'amidon dans l'estomac comprise entre 43 et 47 % (Wolter et Chaabouni, 1979) ; la contribution des micro-organismes de l'intestin grêle est inconnue mais, comme cela a été montré chez le chien (Murray *et al.*, 2001) et au regard des acides organiques produits, elle peut être significative. Dans certaines conditions, les bactéries pourraient donc contribuer à la moitié de la digestion antécœcale de l'amidon chez le cheval.

La dégradation de l'amidon en antécœcal n'est probablement pas sans conséquence sur la nutrition énergétique de l'animal. En effet, le rendement énergétique de l'amidon est conditionné par la façon dont il est utilisé : l'hydrolyse enzymatique, en conduisant directement à la formation de D-glucose, est le processus le plus efficace car son produit terminal peut être directement utilisé par les cellules de l'organisme. Les fermentations

microbiennes, quant à elles, génèrent plus de pertes d'énergie car, outre les pertes sous forme de chaleur ayant lieu lors de l'activité fermentaire, les métabolites produits (acides organiques) nécessitent d'être convertis ultérieurement en substrat énergétique métabolisable par les cellules. Ainsi le lactate (Banta *et al.*, 1979) et le propionate synthétisés peuvent-ils être convertis en D-glucose dans le foie par néoglucogénèse, ces processus de conversion étant eux-mêmes consommateurs d'énergie.

Malgré cela, la colonisation du tube digestif par les micro-organismes peut également être bénéfique d'un point de vue nutritionnel. En effet, la prolifération bactérienne ayant lieu dans l'estomac et l'intestin grêle conduit à la formation de protéines d'origine microbienne qui peuvent probablement contribuer à la nutrition azotée de l'hôte. Celle-ci a d'ailleurs déjà été mise en évidence chez l'homme et le porc où les micro-organismes de l'intestin grêle constituent une source non négligeable d'acides aminés indispensables comme la lysine (Torrallardona *et al.*, 1994; Torrallardona *et al.*, 1996; Metges, 2000). En outre, chez le porc, les micro-organismes intestinaux contribuent à l'hydrolyse des acides aminés pour faciliter leur absorption par la barrière intestinale, et ils sont également producteurs d'ammoniac et d'amines (Radecki et Yokoyama, 1991). A l'heure actuelle, les besoins azotés des chevaux nécessitent d'être précisés et la prise en compte de ces paramètres semble indispensable.

Enfin, le rôle de ces micro-organismes dans la nutrition de l'hôte présente des intérêts qui sont de plus en plus intégrés à l'établissement des besoins alimentaires. Chez le porc et les volailles, les micro-organismes ont plusieurs propriétés qui représentent un enjeu nutritionnel pour l'hôte : ils permettent l'hydrogénation des acides gras insaturés (Radecki et Yokoyama, 1991), la déconjugation et déshydroxylation des acides biliaires (Radecki et Yokoyama, 1991; Hubener *et al.*, 2002), la séquestration des minéraux et sécrétion d'agents chélateurs (Radecki et Yokoyama, 1991; Seynaeve *et al.*, 2000) et constituent un apport de vitamines du groupe B et de vitamine K (Radecki et Yokoyama, 1991).

2) Rôle sanitaire :

A notre connaissance, chez le cheval, l'éventuel rôle de la microflore antécæcale dans la protection de l'animal contre des agents pathogènes n'a encore jamais été évoqué. A l'opposé, chez les autres espèces, les problématiques de recherche actuelles sont tournées vers une meilleure connaissance de cette microflore afin de définir un équilibre optimal qui serait le plus profitable à l'animal, en particulier en essayant de favoriser l'effet barrière des micro-organismes hôtes (Franklin *et al.*, 2002). Ainsi, chez les volailles, l'intégralité du tube digestif

est colonisé majoritairement par des lactobacilles commensaux (Barnes *et al.*, 1972) dont *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. plantarum* et *L. fermentum* (Shome *et al.*, 2001) ; en particulier, des souches comme *L. fermentum* et *L. fermentum animalis*, en adhérant aux cellules épithéliales du jabot et de l'intestin grêle sont capables de réduire l'adhésion de bactéries pathogènes comme *Salmonella pullulorum*, *S. enteritidis* et *S. gallinarum* (Gusils *et al.*, 1999) alors qu'elles n'ont pratiquement pas d'effet sur l'adhésion de différentes souches d'*Escherichia coli* (Jin *et al.*, 1998). De plus, ces bactéries ont la propriété d'inhiber la croissance des salmonelles et d'*E. coli*, au moins en partie, et ce grâce aux acides organiques qu'elles produisent (Jin *et al.*, 1996). Etant donnée la prédominance des populations de lactobacilles dans la partie antécæcale du tube digestif du cheval, il est probable que, de la même façon que chez les volailles, ces bactéries soient impliquées dans la protection de l'hôte contre les agents pathogènes.

Enfin, les micro-organismes antécæcaux contribuent également au maintien des processus physiologiques de la digestion en participant au renouvellement de l'épithélium intestinal : en effet, parmi les AGV synthétisés, il a été démontré chez le rat que le butyrate stimule la croissance des cellules épithéliales dans le jéjunum (Sakata, 1987).

Le temps de transit des aliments dans les différents compartiments digestifs antécæcaux est conditionné à la fois par la vidange gastrique et par la motilité de l'intestin grêle. Au cours de leur séjour, les digesta sont soumis aux sécrétions gastriques, pancréatiques, biliaires et intestinales ainsi qu'à l'action des micro-organismes résidant dans cette partie du tube digestif. La combinaison entre tous ces paramètres conditionne l'étendue de la digestion et de l'absorption des nutriments. Chez le cheval, la contribution des micro-organismes dans la digestion de l'amidon en particulier semble significative mais la littérature est insuffisante pour pouvoir l'identifier et la quantifier avec précision.

Nombre des aspects régulateurs de la digestion antécæcale sont encore mal connus chez le cheval mais il a été clairement mis en évidence que la composition du régime ainsi que les pratiques d'alimentation sont des facteurs susceptibles d'engendrer de fortes variations de la digestibilité antécæcale des aliments. Il est donc nécessaire d'évaluer l'effet de ces facteurs sur la digestibilité antécæcale de l'amidon spécifiquement.

III. Les facteurs de variation de la digestion antécœcale de l'amidon

Malgré l'enjeu nutritionnel et sanitaire de l'utilisation de l'amidon dans l'alimentation du cheval, il existe relativement peu de données concernant sa digestion chez ces animaux. Il est vrai qu'à l'échelle du tractus digestif entier, la digestibilité totale de l'amidon est un paramètre qui varie peu : elle est en moyenne de 97,2 % ($\pm 2,6$) (Hintz *et al.*, 1971b; Wolter *et al.*, 1976; Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Wolter *et al.*, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Brown, 1987; Potter *et al.*, 1992). En fait, c'est la partition de la digestion de l'amidon entre les compartiments antécœcaux et le gros intestin qui est la plus variable et qui nécessite toute notre attention. Si la digestibilité de l'amidon qui arrive dans le gros intestin est quasiment intégrale (91,1 % $\pm 6,8$) (Householder, 1978; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Brown, 1987), l'étendue de la digestibilité antécœcale est, par contre beaucoup plus variable. Elle est en moyenne de 61,2 % et peut en effet s'étendre de 6,5 à 98,1 % en fonction de nombreux paramètres que nous allons étudier dans les paragraphes suivants.

Remarque préalable : Cette partie de l'étude bibliographique a été réalisée à partir de la compilation de toutes les données disponibles à ce jour, sans discrimination des méthodes de mesure. Les données obtenues proviennent soit de chevaux sacrifiés, soit de chevaux porteurs d'une canule au niveau du jéjunum distal ou au niveau de l'iléon distal (cf. Annexe 1). Ces différences méthodologiques peuvent certainement être à l'origine d'une partie de la variabilité des résultats de digestibilité antécœcale. Néanmoins, étant donné le peu de données disponibles, cet aspect n'a pas été pris en compte à ce stade de l'étude.

III.1. Effets liés aux pratiques alimentaires

Comme nous l'avons vu, les céréales sont un constituant essentiel (après les fourrages) de la ration des chevaux, en particulier quand ceux ci sont soumis à une activité physique intense. La façon dont elles sont incorporées dans la ration va directement conditionner l'étendue de la digestibilité antécœcale de l'amidon qu'elles contiennent.

III.1.a Effet du choix et de la proximité de la distribution de fourrages

Les données concernant l'effet de l'incorporation des fourrages dans la ration doivent être interprétées avec précaution car très peu d'études ont été réalisées en l'absence totale de fourrages. Il semblerait que ne pas distribuer de fourrage, ou reporter sa distribution quelques heures après le repas, diminue la digestibilité antécœcale de l'amidon : 55,4 % $\pm 25,3$ (n = 16)

vs $63,6 \% \pm 25,8$ ($n = 40$), respectivement pour des rations sans (Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995; Householder, 1978) et avec fourrage (Hintz *et al.*, 1971b; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995). Cependant, quel que soit le fourrage, lorsque la quantité de fourrage distribuée par repas augmente, la digestibilité antécœcale de l'amidon semble diminuer (Figure 7). La distribution de fourrage aurait un effet positif sur la digestibilité de l'amidon seulement tant que son niveau d'ingestion reste modéré (inférieur à 400 g de MS / 100 kg PV / repas).

Deux autres facteurs liés à l'incorporation de fourrages dans la ration influenceraient la digestibilité de l'amidon : sa nature et sa forme de présentation. Le regroupement des données selon la nature de la céréale choisie et la nature du fourrage éventuellement distribué montre que celui-ci semble interférer avec la digestibilité de l'amidon : s'il a peu d'effet pour l'avoine, à l'opposé, la digestibilité de l'amidon de maïs est plus élevée lorsque le maïs est associé avec du foin plutôt que de la luzerne (Figure 8). On remarque en outre que la digestibilité antécœcale de l'amidon d'avoine est peu influencée par l'absence de fourrage. Par contre, pour le maïs et le sorgho, la digestibilité de l'amidon augmente respectivement de 24 et 43 points avec la distribution de fourrage. Enfin, quand on se penche sur la forme de présentation, on constate que la digestibilité antécœcale de l'amidon d'avoine et de maïs est plus faible quand le foin est distribué en « brins longs » plutôt que haché ou broyé (Tableau 16).

Les effets des pratiques d'utilisation des fourrages peuvent être expliqués en partie par leur interférence sur le transit antécœcal et l'activité enzymatique. Il a déjà été montré que la distribution de fourrages réduit la rétention des digesta dans la partie antécœcale du tube digestif. Par conséquent, le temps d'exposition aux enzymes digestives est lui aussi réduit. Il semblerait que ce phénomène soit associé à une baisse de la digestibilité antécœcale de l'amidon seulement quand la quantité de fourrage excède les 400 g de MS / 100 kg PV / repas. L'absence d'effet négatif du fourrage sur la digestibilité antécœcale de l'amidon pourrait être expliquée par deux autres raisons. Premièrement, il est possible que l'activité motrice de l'intestin soit faiblement stimulée quand le fourrage est broyé ou haché. De plus ces formes de présentation sont probablement plus favorables à un mélange homogène de tous les constituants de la ration avec les sécrétions digestives. Deuxièmement, l'association du fourrage avec des céréales n'altère pas systématiquement la production d' α -amylase

pancréatique (Kienzle *et al.*, 1994) ; l'intensité de la sécrétion enzymatique ne serait donc pas un facteur limitant.

Enfin, il est intéressant de noter que les digestibilités antécœcales les plus basses (sans fourrage et avec luzerne ; Figure 8) ont été enregistrées avec les taux d'incorporation d'amidon les plus élevés (respectivement, 212 et 234 g / 100 kg PV / repas). Par conséquent, il est possible que ce critère interfère avec le fait de distribuer des fourrages en simultané.

III.1.b Effet de la quantité d'amidon ingérée

La compilation des données disponibles dans la littérature met en évidence qu'il existe un seuil à partir duquel la digestibilité antécœcale de l'amidon diminue. On constate en effet que quelles que soient la source d'amidon utilisée, dès que l'amidon ingéré dépasse 200 g / 100 kg de PV / repas, la digestibilité antécœcale de l'amidon est en moyenne de 54,1 % ($\pm 15,2$; n = 20), ce qui a pour conséquence une quantité d'amidon déversée dans le gros intestin majoritairement comprise entre 100 et 150 g / 100 kg PV / repas (Figure 9) (Hintz *et al.*, 1971b; Householder, 1978; Hinckle *et al.*, 1983; Massey *et al.*, 1985; Brown, 1987; Meyer *et al.*, 1993 et 1995). Par contre, quand la quantité d'amidon reste en deçà de cette limite, la digestibilité est en moyenne de 65,2 % ($\pm 29,5$; n = 36) et la quantité d'amidon atteignant le gros intestin est généralement comprise entre 0,5 et 40 g / 100 kg PV / repas (Figure 9) (Hintz *et al.*, 1971b; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Massey *et al.*, 1985; Brown, 1987; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995).

Par ailleurs, dans une étude où deux chevaux ont reçu une quantité croissante de maïs concassé, Potter et ses collaborateurs (1992) ont montré que au delà de 400 g d'amidon / 100 kg PV / repas, la proportion d'amidon digéré dans le gros intestin est supérieure à la proportion digérée dans l'intestin grêle (Figure 10). Néanmoins, cette limite, obtenue dans des conditions particulières, nécessiterait d'être confirmée par des essais complémentaires. En effet, elle semble liée à la source d'amidon utilisée : en augmentant l'ingestion d'amidon de 200 à 390 g / 100 kg PV / repas, la digestibilité antécœcale de l'amidon d'avoine entière ne diminue que de 3,8 % (83,5 vs 79,7 %) (Meyer *et al.*, 1995) ; pour cette céréale, la digestion de l'amidon semble donc se produire essentiellement dans la portion antécœcale du tractus digestif.

Ces résultats indiquent que la quantité d'amidon distribuée peut être un facteur limitant sa digestibilité en antécœcal. Ceci pourrait être expliqué par une production d' α -amylase

insuffisante et / ou par un diminution de son efficacité liée à des conditions physico-chimiques défavorables (pH trop acide en particulier). De plus, les résultats de Potter et de Meyer soulèvent l'interférence de l'origine botanique de l'amidon ingéré. Nous avons vu en effet que les caractéristiques de l'amidon sont inhérentes à son origine ; comme nous le verrons par la suite, ces caractéristiques conditionnent également l'efficacité hydrolytique de l' α -amylase (cf. III.2.a).

III.2. Effets liés à la nature (qualité) de l'amidon

La composition et la structure du grain d'amidon varient en fonction de son origine botanique (espèce et variété). De plus, divers traitements technologiques sont susceptibles de modifier ses caractéristiques. Ces deux critères conditionnent la nature de l'amidon ingéré et vont interférer sur sa digestibilité antécæcale.

III.2.a Effet de l'origine botanique

Malgré la diversité des substrats amylicés produits dans le monde, les données disponibles dans la littérature permettant d'étudier l'influence de l'origine botanique de l'amidon sur sa digestibilité antécæcale concernent un nombre restreint de substrats. L'avoine et le maïs sont de loin les céréales les plus documentées ; on trouve quelques données éparses sur le sorgho et l'orge et seule l'équipe de Meyer en Allemagne s'est penchée sur les racines et les tubercules.

En moyenne, parmi les amidons de céréales, celui de l'avoine semble être le mieux digéré en antécæcal ($83,0\% \pm 13,3$) (Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995). Il est suivi par le sorgho ($68,0\% \pm 26,6$) (Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982), le maïs ($51,9\% \pm 21,3$) (Hintz *et al.*, 1971b; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995) et enfin par l'orge ($46,1\% \pm 42,8$) (Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982) ; cette dernière céréale présentant la plus grande dispersion des données, sa position dans le classement des céréales nécessite d'être précisée. L'amidon des tubercules, est, quant à lui, le moins bien digéré en antécæcal (9,0 et 6,5 %, respectivement pour le manioc et la pomme de terre) (Meyer *et al.*, 1995). En

outre, le mélange « avoine + maïs »⁷ (73,3 % ± 2,7) présente une digestibilité relativement constante et qui est intermédiaire entre les deux céréales qui le constituent (Massey *et al.*, 1985; Brown, 1987).

L'effet de l'origine botanique de l'amidon sur sa digestibilité antécœcale est confirmé à niveau d'ingestion d'amidon égal (Figure 11). Comme soulevé précédemment, l'effet de l'origine botanique de l'amidon ne peut être dissocié de la quantité d'amidon ingérée. Quelle que soit la céréale, la digestibilité antécœcale de l'amidon diminue quand la quantité ingérée augmente. Cette diminution semble inexistante pour le mélange « avoine + maïs », modérée pour l'avoine et, par contre, assez nette pour le sorgho et le maïs (Figure 12).

La digestibilité antécœcale de l'amidon est liée en partie par l'efficacité hydrolytique de l' α -amylase et en particulier par ses possibilités de pénétration à l'intérieur du grain d'amidon ou d'attaque en surface (Duprat *et al.*, 1980). Ces deux critères sont d'ailleurs assez spécifiques de l'origine botanique du grain d'amidon. Observés en microscopie électronique à balayage, les grains d'amidon retrouvés dans le chyle jéjunal présentent une exocorrosion sur toute leur surface pour l'avoine, tandis que pour le maïs et l'orge, les grains sont hydrolysés par endocorrosion, démontrée par la présence de « trous d'aiguille » dans le grain (Kienzle *et al.*, 1997). Le nombre de « trous d'aiguille » dans le grain peut également être variable en fonction de l'origine botanique de l'amidon : leur présence est clairsemée pour les grains d'orge alors qu'elle est plus dense pour le maïs (Kienzle *et al.*, 1997). Enfin, ce mode d'action de l' α -amylase ne semble pas être spécifique au cheval, mais plutôt au type d'amidon : la présence de « trous d'aiguille » avait déjà été observée *in vitro* sur des granules d'amidon de maïs (Fuwa *et al.*, 1978), mais aussi sur des granules de blé, d'orge, de seigle et de triticales (Gallant *et al.*, 1992).

D'une manière générale, les différences de digestibilité de l'amidon peuvent être reliées au rapport amylose sur amylopectine. On peut identifier les amidons faciles à hydrolyser par l' α -amylase (amidons de céréales et de légumineuses à teneur normale en amylose, amidon de manioc,...) et les amidons plus résistants à l' α -amylase (amidons de pomme de terre et de variétés riches en amylose : amylo maïs, pois ridé) (Duprat *et al.*, 1980). Mais ces observations, réalisées à l'échelle du granule d'amidon, ne tiennent pas compte de

⁷ Les études utilisant ce mélange le présentent comme un concentré commercial. Vraisemblablement, il s'agit d'un mélange 45 % avoine, 45 maïs et 10 % mélasse, utilisé sous la dénomination « sweet feed » aux USA.

l'organisation de ces granules entre eux et en particulier de la structure protéique dans laquelle ils sont parfois enchâssés. Outre les protéines, d'autres composants de la graine (ou du tubercule) peuvent interagir avec la digestibilité antécœcale de l'amidon. Ainsi, les constituants pariétaux et la présence de complexes amylose-lipides peuvent-ils respectivement, restreindre l'accessibilité aux granules d'amidon (Würsch *et al.*, 1986) et ralentir l'activité hydrolytique de l' α -amylase (Holm *et al.*, 1983).

L'influence de la structure protéique est très bien illustrée par les différences observées entre les variétés génotypiques de maïs : en plus du rapport amylose / amylopectine, la nature de l'endosperme entourant les granules d'amidon varie (farineux ou cireux). Au niveau structurel, les granules d'amidon dans l'endosperme vitreux sont entourées de corps protéiques et sont enchâssées dans une matrice de cellules très denses tandis que l'endosperme farineux présente une matrice discontinue et peu de structures cellulaires (Kotarski *et al.*, 1992). L'effet de ces différences structurelles sur la dégradabilité de l'amidon par les micro-organismes du rumen a déjà été décrit (Michalet-Doreau et Doreau, 1999) et il est fort probable qu'il influe également sur l'efficacité hydrolytique de l' α -amylase pancréatique. Il a d'ailleurs été démontré que la matrice protéique entourant les granules d'amidon de blé diminue très significativement l'hydrolyse *in vitro* de cet amidon par l' α -amylase pancréatique porcine (Holm *et al.*, 1985).

La détermination des caractéristiques de l'amidon apparaît donc comme un critère nécessaire à la prédiction de sa digestibilité antécœcale. Cependant cela reste difficile à réaliser en dehors d'un laboratoire. Les travaux de Muir et O'Dea (1992 et 1993) ont permis de mettre au point une méthode identifiant trois fractions de l'amidon pour prédire sa digestibilité iléale chez l'homme : la partie rapidement digestible (RDS), la partie lentement digestible (SDS) et la partie résistante à l'hydrolyse enzymatique (RS). La teneur en amidon résistant semble être un paramètre influençant la digestibilité antécœcale de l'amidon. Quand l'amidon est natif, il semble que la faible digestibilité antécœcale mesurée pour la pomme de terre concorde avec sa teneur en amidon résistant (69 %) ; teneur elle-même la plus élevée comparée à d'autres origines botaniques (valeurs comprises entre 21 et 69 %) (Tableau 18).

III.2.b Effet du traitement technologique

Compte tenu des caractéristiques de l'amidon, il semble que l'effet du traitement technologique soit inhérent à l'origine botanique de l'amidon considéré. Comparé au grain entier, l'application d'un traitement mécanique améliore la digestibilité antécœcale de

l'amidon d'avoine (Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995) et de maïs (Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995) (Figure 13). Toutefois, l'étude des résultats obtenus à l'intérieur d'une même étude montre que par rapport au grain entier, l'aplatissage ou le concassage de l'avoine et du maïs n'ont pas eu d'effet significatif sur la digestibilité antécæcale de l'amidon (Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995); seul le broyage l'a augmentée significativement (Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995).

Les traitements mécaniques, et en particulier le broyage, modifient la forme physique de la graine. C'est essentiellement sa macrostructure qui est détruite, la structure des granules d'amidon étant peu altérée (Kienzle *et al.*, 1997). Il en résulte une augmentation de la surface exposée aux agents digestifs, ce qui favorise la digestion des granules d'amidon (Holm *et al.*, 1987). L'augmentation du ratio surface / amidon est plus importante quand les céréales sont broyées plutôt qu'aplaties, ce qui peut contribuer à expliquer l'effet négligeable de l'aplatissage sur la digestibilité antécæcale de l'amidon. Il a ainsi été démontré que l'amidon des farines de céréales étaient hydrolysé plus rapidement que celui des céréales aplaties (Snow et O'Dea, 1981). En outre, il est probable que la réduction de la taille des particules lors de la mastication du grain entier soit équivalente à celle provoquée par l'aplatissage ou le concassage, d'où l'absence de différence sur la digestion antécæcale de l'amidon (Kienzle, 1994). Enfin, l'effet du broyage est probablement lié aux paramètres techniques de ce traitement (diamètre de la grille de broyage, vitesse de rotation des marteaux,...); en particulier, pour des grains présentant une connexion étroite entre les granules d'amidon, le broyage peut aboutir tantôt à la formation de particules de taille variable incluant des granules seules dont la structure est altérée, et tantôt à la formation de particules constituées de plusieurs granules fusionnées et dont les rares granules isolées ne présentent aucune modification structurale (Kienzle *et al.*, 1997). Ainsi, pour le maïs, les modifications engendrées par les différents traitements mécaniques peuvent être mises directement en relation avec la digestibilité antécæcale de l'amidon (Tableau 17).

Concernant l'effet des traitements thermiques, les rares données indiquent que c'est l'expansion qui améliore le plus la digestibilité antécæcale de l'amidon (Meyer *et al.*, 1993 et 1995). En outre, une étude comparant l'effet de la micronisation par rapport à l'aplatissage, montre que ce traitement thermo-mécanique améliore la digestibilité antécæcale de l'amidon d'avoine et de sorgho (Householder, 1978). Cependant, les valeurs obtenues sont inférieures à

celles rapportées ultérieurement dans la littérature et des différences d'ordre méthodologique sont probablement à l'origine d'une partie des écarts observés. Chez le porc en croissance, l'utilisation de ce procédé sur de l'orge décortiquée permet d'augmenter significativement la digestibilité iléale de 18,3 points (79,0 % vs 97,3 %, respectivement pour de l'orge décortiquée et de l'orge décortiquée micronisée) (Huang *et al.*, 1998). L'effet de la micronisation sur la digestibilité de l'amidon des substrats destinés aux chevaux nécessite donc d'être précisé. Enfin, bien que les aliments granulés soient de plus en plus répandus dans l'alimentation des chevaux, les seules données concernant la digestibilité antécæcale de l'amidon inclus dans ce type d'aliment sont anciennes et proviennent de chevaux sacrifiés (Hintz *et al.*, 1971b; Wolter et Chaabouni, 1979). Par conséquent, les données disponibles sont probablement peu représentatives de la digestibilité réelle. Pour du maïs inclus dans un aliment granulé en différentes proportions, Hintz *et al.* (1971b) ont ainsi mesuré une digestibilité apparente dans l'iléon comprise entre 46,1 et 71,4 %. Tandis que pour un amidon d'origine non spécifiée, Wolter et Chaabouni (1979) ont mesuré une digestibilité apparente dans le 3^{ème} tiers du jéjuno-iléon de 89,8 % en moyenne. A l'instar de ce qui a déjà été observé pour l'amidon d'orge chez le porc (Graham *et al.*, 1989; Näsi, 1992 cité par Pettersson et Lindberg, 1997), il est très probable que la granulation des aliments améliore la digestibilité antécæcale de l'amidon. Toutefois, des études complémentaires sont nécessaires pour préciser l'effet de ce traitement hydro-thermo-mécanique chez le cheval.

Lors de l'application de traitements thermo-mécaniques (avec ou sans humidité), la structure même des grains d'amidon est modifiée, ce qui permet d'améliorer la digestibilité antécæcale de l'amidon. Ces procédés provoquent la gélatinisation partielle ou totale de l'amidon. En général, le degré de gélatinisation est fonction des paramètres de température et d'hygrométrie du traitement. *In vitro*, il a ainsi été démontré que l'efficacité de l'hydrolyse enzymatique augmente significativement quand le taux de gélatinisation de l'amidon augmente de 0 à 45 %, puis de 45 à 100 % (Holm *et al.*, 1985). Cependant, la gélatinisation à elle seule ne suffit pas pour améliorer la sensibilité de l'amidon à l'hydrolyse enzymatique (McNeill *et al.*, 1975, cités par Holm *et al.*, 1985). En effet, des procédés hydro-thermiques qui incluent un traitement mécanique (comme le floconnage) détruisent également la matrice protéique entourant les granules d'amidon, ce qui le rend directement accessible aux enzymes (Holm *et al.*, 1985). Comme l'illustre le fractionnement de l'amidon suite à l'extrusion, ces modifications des caractéristiques de l'amidon permettent de réduire la teneur en amidon résistant (Tableau 18) (valeurs comprises entre 1 et 21 % de l'amidon total). Il semble en

outre que les paramètres techniques d'un même procédé puissent influencer sur les caractéristiques de l'amidon. Ainsi, la température d'extrusion modifie-t-elle la proportion des trois fractions de l'amidon : en particulier, plus la température appliquée est élevée, plus la fraction RDS augmente au dépend de la fraction RS (Tableau 18) (Murray *et al.*, 2001). Il est donc probable que ce type de procédé améliore de façon significative la digestibilité antécæcale des céréales distribuées aux chevaux.

Jusqu'à présent, les recherches centrées sur les facteurs de variation influençant la digestibilité antécæcale de l'amidon étaient orientées autour de l'efficacité hydrolytique de l' α -amylase. Chez le cheval, la contribution des micro-organismes dans cette partie du tube digestif n'a jamais été évaluée avec précision, leur contribution au niveau de l'estomac est pourtant loin d'être négligeable. Les granules d'amidon d'orge collectés au niveau du jéjunum semblent en effet être colonisés par des bactéries ressemblant à des coques (Kienzle *et al.*, 1997) ; l'activité amylolytique des micro-organismes se prolongerait donc dans l'intestin grêle. De plus, il est fort probable que l'activité microbienne soit également fortement influencée par les modifications technologiques du grain d'amidon. Il a en effet été démontré que l'intensité des fermentations *in vitro* à partir de chyle iléal prélevé sur des chiens varie en fonction de l'origine botanique de l'amidon et est plus élevée avec de l'amidon extrudé qu'avec de l'amidon natif : non seulement la concentration en acides organiques (AGV et lactate) est plus élevée, mais en plus le profil fermentaire est modifié (Murray *et al.*, 2001).

Malgré le peu données spécifiques au cheval, il apparaît que l'intensité de la digestion antécæcale de l'amidon est conditionnée par deux grands types de facteurs susceptibles d'interagir entre eux : les pratiques d'alimentation (choix et mode de distribution des fourrages, quantité d'amidon ingérée par repas) et la nature même de l'amidon (origine botanique, traitement technologique).

En particulier, la distribution de fourrage ne semble pas nuire à la digestion de l'amidon tant que celui ci n'excède pas 400 g / 100 kg PV / repas et qu'il est distribué sous forme hachée ou broyée. Quand le niveau d'ingestion d'amidon dépasse 200 g / 100 kg PV / repas, la proportion d'amidon échappant à la digestion antécæcale est de 46 %, ce qui représente une menace potentielle pour l'équilibre de l'écosystème du gros intestin. L'origine botanique de l'amidon interfère sur l'effet de ces deux paramètres, l'amidon de

maïs étant celui qui présente la digestibilité antécœcale la plus basse, et l'amidon d'avoine la plus haute. En fonction de l'origine botanique de l'amidon, l'application d'un traitement technologique permet d'améliorer sa digestibilité antécœcale à partir du moment où l'accessibilité aux granules d'amidon est favorisée et / ou la structure de ces granules modifiée (gélatinisation).

CONCLUSION

Très souvent dans les écuries, l'alimentation du cheval est raisonnée de manière relativement empirique. Les pratiques d'alimentation sont adaptées en fonction de nombreux critères : type d'exploitation des chevaux, localisation géographique, disponibilité en fourrages, capacité de stockage, main d'œuvre,... L'incorporation de céréales reste néanmoins une constante des rations distribuées aux chevaux soumis à une activité sportive. En effet, grâce à l'amidon qu'elles contiennent, les céréales permettent d'augmenter la densité énergétique de la ration afin de couvrir les besoins des chevaux athlètes.

Le rendement énergétique de l'amidon dépend du site où il est hydrolysé dans le tractus digestif. La digestion ayant lieu dans la partie antécœcale, en particulier celle se produisant dans l'intestin grêle, est celle qui permet une valorisation maximale de l'énergie apportée par les substrats amylacés. Les données actuelles sur le transit digestif des aliments ingérés, couplées à celles sur les sécrétions digestives et l'écosystème gastro-intestinal, mettent en évidence les particularités anatomo-physiologiques de la partie antécœcale du tractus digestif du cheval. Si la digestion de l'amidon semble être négligeable au niveau buccal, il semblerait qu'elle soit initiée dans l'estomac grâce aux micro-organismes qui y résident ; les substrats énergétiques disponibles pour l'animal seraient alors essentiellement du lactate et du propionate. Elle se poursuit ensuite dans l'intestin grêle où la digestion serait majoritairement chimique grâce à l' α -amylase pancréatique ; il en résulterait une production majoritaire de glucose directement utilisable par les cellules de l'organisme (Figure 14).

La façon dont les fourrages sont incorporés dans la ration quotidienne (quantité, nature, forme de présentation), la quantité d'amidon distribuée par repas ainsi que la qualité de l'amidon choisi (origine botanique, traitement technologique) interfèrent sur les mécanismes impliqués dans la digestion antécœcale de l'amidon (Figure 14). La plage de données de digestibilité

antécæcale de l'amidon est comprise entre 6 % et 98 %. En particulier, les facteurs inhérents aux caractéristiques physiques de la ration, influenceraient principalement la durée de l'exposition des *digesta* aux agents impliqués dans la digestion des nutriments. Les facteurs relatifs à l'amidon, quant à eux, semblent agir directement au niveau de l'efficacité des fermentations microbiennes et de l'hydrolyse enzymatique.

Afin de préciser la valorisation énergétique de l'amidon, des données complémentaires sont nécessaires, d'une part, pour identifier précisément les mécanismes digestifs mis en œuvre au niveau gastrique et au niveau de l'intestin grêle. D'autre part, il paraît essentiel de hiérarchiser les facteurs de variations influençant la digestibilité antécæcale de l'amidon.

PROBLEMATIQUE

L'amidon des céréales est le substrat le plus couramment utilisé pour augmenter la densité énergétique de la ration des chevaux. Ainsi, les quantités quotidiennes d'amidon ingérées excèdent-elles couramment les 200 g / 100 kg de PV / repas. Au delà de cette limite, une portion non négligeable de l'amidon ingéré peut être déversée dans le gros intestin. Par conséquent, le mode d'incorporation des céréales dans la ration quotidienne des chevaux nécessite d'être raisonné avec attention afin, d'une part, de valoriser au mieux l'énergie qu'elles contiennent et, d'autre part, de préserver la santé de l'animal. Pour cela, la connaissance et la maîtrise des phénomènes digestifs se déroulant dans la partie antécæcale du tractus digestif des chevaux est indispensable.

La contribution des micro-organismes antécæcaux n'a jamais été prise en considération alors qu'elle a été plusieurs fois mentionnée. L'évaluation de leur implication dans la digestion antécæcale de l'amidon est pourtant essentielle pour apprécier le rendement énergétique de ce substrat. C'est pourquoi, notre travail de thèse a pour objectif, dans un premier temps, d'identifier la contribution des micro-organismes antécæcaux dans la digestion de l'amidon. En particulier, l'écosystème microbien antécæcal n'avait jamais été étudié en mesurant simultanément le niveau des populations, le profil des fermentations et la digestibilité apparente de l'amidon. L'essai mis en place a été réalisé sur sept chevaux qui ont été sacrifiés afin de pouvoir prélever l'intégralité des digesta présents dans le tractus digestif (de l'estomac au rectum, soit 11 compartiments). Ceci nous a permis de mesurer les concentrations en micro-organismes (flore anaérobie totale, flore cellulolytique, flore lactico-lytique, *Lactobacilli spp.* et *Streptococci spp.*), le pH, de doser la teneur en lactate et en AGV, de mesurer la digestibilité apparente des glucides de la ration (amidon et fractions NDF, ADF) et la digestibilité *in sacco* de trois sources d'amidon par la technique des sachets mobiles. Ce travail a été divisé en trois parties : la première partie a présenté la caractérisation de l'écosystème intestinal dans les différents compartiments du tractus digestif (publication n°1), la seconde, a exposé les mesures de digestibilité apparente des différents constituants glucidiques de la ration dans ces mêmes compartiments (publication n°2) et la troisième a complété les résultats de la publication n°2 en antécæcal uniquement (communication orale n°1).

Parmi les facteurs influant sur la digestion de l'amidon en antécæcal, outre le niveau d'ingestion, l'origine botanique de l'amidon et l'éventuel traitement technologique qui lui est appliqué sont deux facteurs primordiaux. Or, du fait des différences entre les méthodes employées, ainsi que de la difficulté pour faire varier un seul de ces facteurs au sein des

protocoles expérimentaux, il est difficile de comparer les données actuelles entre elles : il n'est possible ni de classer les facteurs influençant la digestibilité de l'amidon suivant leur importance, ni d'identifier de valeurs de référence qui permettraient de raisonner précisément l'incorporation des différentes céréales disponibles par rapport à leur digestibilité antécæcale.

Notre travail de thèse a donc visé, dans un second temps, à isoler l'effet de l'origine botanique de l'amidon parmi les nombreux autres facteurs de variation de la digestibilité antécæcale de ce glucide afin que l'entreprise EVIALIS dispose de valeurs de référence permettant d'ajuster l'incorporation des céréales dans les aliments qu'elle fabrique. Pour cela, nous avons tout d'abord adapté la méthode des sachets de nylon mobiles à partir des travaux réalisés en Ecosse et à l'INRA de Theix. Cette technique permet de mesurer la digestibilité des aliments dans la partie antécæcale du tractus digestif sur des chevaux porteurs d'une canule cæcale. Nous l'avons spécifiquement mise au point pour mesurer l'influence de l'origine botanique de l'amidon sur sa digestibilité antécæcale (Etude technique). Nous l'avons ensuite appliquée pour mesurer la digestibilité antécæcale d'amidons d'origine botanique diverse. Le protocole mis en place incluait quatre régimes différents afin d'intégrer plusieurs facteurs de variation susceptibles de modifier la digestibilité antécæcale de l'amidon. Ce travail a permis de valider la technique, de hiérarchiser les facteurs influençant la digestibilité de l'amidon et surtout d'établir des valeurs de référence pour les sources d'amidon testées (publication n°3).

PARTIE EXPERIMENTALE

PUBLICATION N°1 :

**CHARACTERISATION OF THE MICROBIAL AND
BIOCHEMICAL PROFILE OF THE DIFFERENT SEGMENTS OF
THE DIGESTIVE TRACT IN HORSES FED TWO DISTINCT DIETS**

Animal Science (2003) Vol. 77(2):293-304

Characterisation of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses fed two distinct diets

A. de Fombelle[†], M. Varloud[†], A.-G. Goachet[‡], E. Jacotot[‡], C. Philippeau[‡], C. Drogoul[‡] and V. Julliand[‡]

[†]EVIALIS, 56 250 Saint Nolff, France [‡]ENESAD, 26 bvd Dr. Petitjean, BP87999, 21079 Dijon cedex

Abstract

A first group of three horses was fed diet 1 (D1) allowing 1180 g / 100kg BW of a pelleted feed rich in fibre (P1) and 556 g / 100kg BW of straw during a 20 day period allowing for adaptation. A second group of four horses were fed diet 2 (D2) allowing 1180 g / 100kg BW of a pelleted feed rich in cereals (P2) and 1000 g / 100kg BW of meadow hay during the same period. Digesta was collected from the stomach, duodenum, jejunum, ileum, caecum, right ventral colon, left ventral colon, left dorsal colon, right dorsal colon, and small colon, and faeces were collected under general anaesthesia 2:30 hours after the ingestion of the morning pelleted meal. The concentration of total anaerobic, cellulolytic and lactic-acid utilising bacteria, lactobacilli and streptococci were determined in all these segments except for the duodenum, left ventral colon, right dorsal colon and small colon. D- / L-lactic acid, volatile fatty acids and pH were measured in all anatomic segments of the digestive tract (from stomach to small colon). The caecal concentration of total anaerobic bacteria was the lowest (7.9×10^7 CFU / ml), whereas that of the stomach was the highest (1.4×10^9 CFU / ml) ($P < 0.001$). Cellulolytic bacteria did not exceed 3.0×10^2 CFU / ml in the ante-caecal segments whereas in the hindgut the average concentration was 5.3×10^5 CFU / ml ($P < 0.001$). Likewise, VFA concentrations were also greater in the large intestine (on average, 96.3 mmol / l vs. 8.8 mmol / l in the ante-caecal segments) ($P < 0.001$), confirming the limited extent of fibre degradation in these ante-caecal segments. Lactobacilli, streptococci and lactate-utilising bacteria colonised all the digestive tract; the stomach and the small intestine tended to host the greatest numbers of these bacteria, which suggests a high interference of microorganisms with the digestion of readily fermentable carbohydrates. Compared with the other ante-caecal segments, the stomach ecosystem seemed the most affected by the

composition of the last pelleted meal ingested: the concentrations of lactobacilli and lactate-utilising bacteria were higher ($P < 0.05$) with P2. The lower concentration of D-/L-lactate with P2 ($P < 0.05$) was concomitant with a greater proportion of propionate ($P < 0.05$), probably related to a greater fermentation of lactate. In the large intestine of horses fed D2, cellulolytic bacteria tended to be lower, whereas VFA concentrations were higher ($P < 0.05$). The lower [NDF / Starch] ratio of D2 was probably less propitious for the proliferation of cellulolytic bacteria but was compensated by the higher cellulose intake brought by the hay.

Key words: horse; intestinal microorganisms; digestive tract; fermentation; nutrition physiology

Introduction

Most studies on the equine digestive ecosystem are focused on the hindgut with the aim of describing and understanding the mechanisms involved in forage degradation. The cæcum, considered as the main site of microbial activity, is generally compared with the rumen of ruminants. On the other hand, the colon is often neglected but when it is studied, it is considered as a single entity despite its different anatomo-physiological segments (Hintz *et al.*, 1971; Kern *et al.*, 1974). Later studies have highlighted the implication of the right ventral colon ecosystem in forage degradation (Bertone *et al.*, 1989; Drogoul *et al.*, 1995) and its sensitiveness to high starch diets (de Fombelle *et al.*, 2001). Diet characteristics were shown to influence both the cæcal and right ventral colonic ecosystems (Hintz *et al.*, 1971; Kern *et al.*, 1973; Julliand *et al.*, 2001; Medina *et al.*, 2002). However, the ecosystems of the colon lower parts remain unexplored. Concerning the ante-cæcal ecosystem, few studies have been conducted and are essentially descriptive; the horse's stomach and small intestine have been shown to host an abundant microflora (Alexander and Davies, 1963; Kern *et al.*, 1974; Mackie and Wilkins, 1988). To our knowledge, the nutritional implication of these microorganisms has not yet been explored in horses, but could be substantial in view of the involvement of the ileal microflora in the degradation of starch in dogs (Murray *et al.*, 2001).

This study was set to describe the microbial population and its end-products in the different anatomic segments of the digestive tract in the horse, from the stomach to the ascending colon. We also assessed the effect of two distinct diets on the ecosystems along the digestive tract. Our results should enable establishment of some data on the function of digestive microorganisms in horses and their nutritional consequences on feeding habits.

Material and methods

Animals, Management and Diets

Seven adult geldings (average weight 364 ± 38 kg), were maintained in indoor individual free-stalls, bedded with shavings (DouliTM), thus enabling an entire control of food consumption. They were watered ad libitum from automatic waterers. In order to destroy a wide range of gastro-intestinal parasites, the horses were wormed with a double dose of

pyrantel (Strongid™, laboratoire Pfizer, Orsay, France) followed a week later with a dose of ivermectin (Eqvalan™, laboratoire Merial, Lyon, France) 15 days prior to the beginning of the experiment (Herd, 1992; Hutchens *et al.*, 1999).

The horses were allotted into two groups (G1: n = 3 horses and G2: n = 4 horses); each group was assigned a specific diet: G1 was fed diet 1 (D1), chosen to mimic common French stable feeding habits; D1 was made of a pelleted feed rich in fibre (P1) and straw (Table 19). The amount of feed was set to meet maintenance energy requirements according to French recommendations ($0.038 \text{ UFC} / \text{kg BW}^{0.75}$) (Martin-Rosset *et al.*, 1994). Straw was chosen for its bulk effect and to mimic voluntary intake of straw by horses kept on this type of bedding. G2 was fed diet 2 (D2) which copies a typical diet fed to performance horses; D2 was made of a pelleted feed rich in cereals (P2) and meadow hay (Table 19). The amount of feed was set to provide 286 g of starch / 100kg BW in the morning meal which is above the level of intake shown to be only partially digested in the precæcal part of the digestive tract (Kienzle, 1994). Meadow hay was chosen to balance the fibre deficiency of the pelleted feed and its level of intake was close to common feeding habits in stables. For both diets, pelleted feeds were given at the same daily level of intake (i.e. 1180 g as-fed / 100 kg of bodyweight (BW)). The feeding patterns were different for each diet (Table 20) and forage distribution was set to prevent any possible interaction with the pelleted meal.

All horses were given 20 days to adapt to their diet.

Preparation of horses and digesta sampling

This project was conducted under license from the department of Health and Animal Care of the French Veterinary Authority (n° A21002). The day before digesta was collected, all horses were entirely washed and their abdomen and flanks were clipped. On the day digesta was collected, the horses' abdomen was washed carefully and shaved along the white line after the morning pelleted meal, and, two hours later, they were tranquillised with acepromazine (Vétranquil®, SANOFI Santé Nutrition Animale, Libourne, France), and laid down with guaiphenesin (Myolaxin™, Laboratoire CoopHAVet, Ancenis, France) on dorsal decubitus, with their legs securely tied. General anaesthesia was induced by pentobarbital (Pentobarbital sodique™, SANOFI Santé Nutrition Animale, Libourne, France). The white line was incised to exteriorise the digestive tract. The different anatomic segments of the digestive tract were identified, isolated with a ligature at both ends, and removed to allow for

digesta sampling. Horses were then euthanized with an overdose of pentobarbital (Doléthal®, Laboratoire Vétérinaire S.A., Lure, France).

For microbial analyses, a sample of faeces (FAE) was collected in the rectum before anaesthesia, and about 200 ml of digesta were collected, after anaesthesia, from the stomach (STO), jejunum (JEJ), ileum (ILE), caecum (CEC), right ventral colon (RVC) and left dorsal colon (LDC) in a pre-identified sterile CO₂-saturated flask. Each sample was resaturated with CO₂ after collection and all samples were held at 38°C in a water bath between collection and inoculation. Ten-fold dilution series were prepared under O₂-free CO₂ in an anaerobic mineral solution (Bryant and Burkey, 1953) for inoculation on specific media presented below.

For biochemical analyses, about 10 ml of digesta from each anatomic segment (STO, duodenum (DUO), JEJ, ILE, CEC, RVC, left ventral colon (LVC), LDC, right dorsal colon (RDC) and small colon (SMC)) were filtered (Blutax 100µm). Then two sub-samples of the filtered intestinal contents were immediately frozen (-20°C) for determination of D- and L-lactate (1 ml) and volatile fatty acids (VFA) [1 ml together with a preservative (0.1 ml mixture of 5% H₃PO₄ + 1% HgCl₂)].

Microbial Analyses

Total viable anaerobic bacteria counts were determined with a modified non-selective medium with an O₂-free CO₂ gas phase in anaerobic roll tubes (Leedle and Hespell, 1980; Julliand *et al.*, 1999). Concentrations were determined after 96 hours incubation at 38°C, from four replicate roll tubes prepared at dilutions representing, for each anatomic segment sampled, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ ml of digestive content.

Lactic acid-utilising bacteria counts were determined on a selective medium (Mackie and Heath, 1979) in anaerobic roll tubes with an O₂-free CO₂ gas phase. The number of viable bacteria was determined after a 96 hours incubation at 38°C, as the average of colony counts from four replicate roll tubes prepared from dilutions representing either 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷ ml of digestive content from STO, JEJ and ILE, or 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ ml of intestinal content from CEC, RVC, LDC and FAE.

Cellulolytic bacteria were counted on a modified broth medium containing a strip (10×80 mm) of filter paper (Whatman n°1) as the sole cellulolytic substrate (Halliwell and Bryant, 1963; Baruc *et al.*, 1983; Julliand *et al.*, 1999). The concentration of cellulolytic

bacteria was taken as the most probable number of Mac Grady on four tubes inoculated from the dilution representing either 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ml of content from STO, JEJ and ILE, or 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} ml of content from CEC, RVC, LDC and FAE and then incubated 15 days at 38°C.

Streptococci spp were enumerated on a bile-esculin-azide agar medium (BK158HA, Biokar diagnostics, Beauvais, France). The number of viable bacteria was determined after a 48 hours incubation at 38°C, as the average of colony counts from three replicate Petri plates prepared from dilutions representing either 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ml of caecal content, or 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} ml of content from all other compartments.

Lactobacilli spp were enumerated on a Rogosa agar medium (BK033, Biokar diagnostics, Beauvais, France). The number of viable bacteria was determined after 48 hours incubation at 38°C, as the average of colony counts from three replicate Petri plates prepared from dilutions representing either 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ml of caecal content, or 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} ml of content from all other compartments.

Biochemical Analyses

Digesta pH was measured with an electronic pH-meter (MP 120, Mettler, Toledo, Spain) immediately after the sample was collected. L- and D-lactic acid were assayed with an enzymatic reaction procedure (D-Lactic acid / L-Lactic acid Enzymatic BioAnalysis / Food analysis kit, Cat. No. 1112821, Boehringer Mannheim / R-Biopharm, Darmstadt, Germany) quantified spectrophotometrically at 340 nm (MRX revelation, Dynatech Laboratories, Guyancourt, France). VFA concentrations were assayed by gas-liquid chromatography (Gas chromatograph model 437 A, United technologies Packard, Zurich, Switzerland) (Jouany, 1982). A ratio of acetate plus butyrate to propionate $[(C2+C4)/C3]$ was calculated according to Sauvant *et al.* (1994).

Statistical Analysis

An analysis of variance with the GLM procedure of SAS v8.2 was done to evaluate the variables' response (microbial counts, pH, VFA, D- and L-lactic acid) to the diet, to the anatomic segment of the digestive tract and to the diet \times anatomic-segment-of-the-digestive-tract interaction. The model included horse, nested in diet, as a randomised effect. Logarithmic transformations were performed on microbial counts before statistical analysis.

Least square means were calculated for all variables and separated using pairwise *t*-tests (Pdiff option of SAS) and the significance threshold for all tests was set at $P < 0.05$.

Results

Anaesthesia was induced an average of 2:30 hours after the morning pelleted meal. The chronological removal of the anatomic segments of the digestive tract and the sampling were identical for each horse, starting with the left ventral and dorsal colon and finishing with the stomach. Digesta was collected from the isolated anatomic segments between 3:12 and 4:52 hours after the morning meal (Table 21). Thus, the retention of digesta lasted 47 minutes at the least and 2:20 hours at the most after the induction of the anaesthesia (Table 21).

Concentrations of microorganisms (Table 22)

Concentrations of total anaerobic bacteria in every anatomic segment explored ranged from 7.4×10^7 to 3.7×10^9 CFU / ml whatever the diet. Concentrations were different following their anatomical localisation ($P < 0.001$) and a significant interaction between diet and anatomical segment ($P < 0.001$) was found. With both diets, total anaerobic bacteria concentrations were significantly lower in the caecum than in the other parts of the digestive tract ($P < 0.001$). In those horses fed the high cereal diet (D2) the ante-caecal concentrations tended to be slightly higher than in the hindgut, whereas, in those fed the high forage diet (D1), they were more homogenous all along the digestive tract.

Concentrations of cellulolytic bacteria differed according to their anatomical localisation ($P < 0.001$). With both diets, pre-caecal concentrations did not exceed 3.0×10^2 CFU / ml, whilst they ranged from 5.9×10^4 to 1.6×10^6 CFU / ml in the large intestine. Regardless of the anatomic segment, concentrations in cellulolytics were higher in horses fed D1 than in those fed D2 ($P < 0.01$).

Concentrations of lactobacilli and streptococci differed according to their anatomical localisation ($P < 0.001$) and a significant interaction between diet and anatomical segment was noticed ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, for lactobacilli and streptococci respectively). For both microbial populations and diets, caecal concentrations were lower than in the other anatomic segments ($P < 0.01$). With both diets, concentrations of lactobacilli were highest in the

stomach ($P < 0.001$) whereas streptococci were more evenly distributed along the digestive tract. A diet effect could only be detected in the ante-caecal tract: the concentration of lactobacilli was highest in the stomach and the ileum of horses fed D2 ($P < 0.05$ and $P < 0.001$, respectively); the concentration of streptococci was highest in the ileum with D2 ($P < 0.05$).

Concentrations of lactate-utilising bacteria were different depending on their anatomical localisation ($P < 0.001$) and a significant interaction between diet and anatomical segment was noticed ($P < 0.001$). Regardless of the diet, the highest concentration of lactate-utilising bacteria was detected in the stomach ($P < 0.05$). In horses fed D2, concentrations in lactate-utilisers were higher in the stomach and the ileum ($P < 0.001$ and $P < 0.01$, respectively) and lower in the caecum and the left dorsal colon ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively) than in those fed D1.

Biochemical parameters

The pH differed according to the anatomical localisation ($P < 0.001$) and a significant interaction between diet and anatomical segment was noticed ($P < 0.001$) (Table 23). With both diets, the lowest values were measured in the stomach ($P < 0.001$) and the highest were measured in the jejunum-ileum ($P < 0.001$). pH values ranged from an average 6.1 to 6.6 in the different parts of the hindgut except in the small colon of horses fed D2, which was more acid.

Concentrations of D- and L-lactate varied according to their anatomical localisation ($P < 0.001$) and a significant interaction between diet and anatomical segment was noticed ($P < 0.001$) (Table 23). With both diets, the lowest total lactate concentrations (data not shown) were measured in the jejunum-ileum, caecum and ventral colon; values ranged from 0.2 to 0.9 mmol / l with no significant differences. Variations of D- and L-lactate concentrations were related both to the diet and to the anatomic segment. However, the respective changes in the L-lactate / D-lactate ratio were similar and only the anatomic segment affected this ratio ($P < 0.001$): regardless of the concentrations, the relative proportion of L-lactate was greater in the foregut and that of D-lactate was greater in the hindgut. In horses fed D1, D- and L-lactate concentrations were higher in the stomach ($P < 0.05$) and lower in the small colon ($P < 0.001$) than in horses fed D2.

Total VFA concentrations (Table 24) were related to the anatomic segment of the digestive tract ($P < 0.001$) and to the diet ($P < 0.001$). In addition, the interaction between the diet and the anatomic segment had a significant effect on results ($P < 0.001$). With both diets, the lowest concentrations were measured in the small intestine, with no difference between the stomach and the different parts of the small intestine ($P > 0.05$), and the highest concentrations were found in the hindgut ($P < 0.05$). Variations in total VFA concentrations in the different parts of the hindgut were different from one diet to the other: in horses fed D1, VFA concentrations decreased significantly from the right ventral colon to the small colon ($P < 0.001$) whereas concentrations remained fairly constant throughout the large intestine in horses fed D2. All along the digestive tract, total VFA concentrations were numerically greater in horses fed D2, with significant differences with horses fed D1 in all parts of the large intestine ($P < 0.05$).

For every single VFA both the anatomic segment of the digestive tract ($P < 0.001$) and the diet ($P < 0.05$) affected its concentration. With both diets, ante-cæcal concentrations were always significantly lower than in the hindgut. Furthermore, the concentration of each VFA was always higher, sometimes significantly, in horses fed D2.

Changes in acetate and valerate concentrations in the large intestine were similar to those described for total VFA. Propionate and butyrate concentrations varied identically in the hindgut of the two groups: concentrations of propionate and butyrate were respectively higher in the cæcum and ventral colon than in the dorsal colon and small colon ($P < 0.05$). Iso-butyrate and iso-valerate also varied in a similar way: concentrations were greater in the right dorsal colon and small colon than in the upper parts of the large intestine ($P < 0.05$).

The ratio $[(C2+C4)/C3]$ differed according to the anatomical localisation ($P < 0.001$) and a significant interaction between diet and anatomical segment was noticed ($P < 0.001$). With both diets, the ratio ranged from 11.9 to 85.1 in the stomach and small intestine and from 3.2 to 6.1 in the large intestine. The ratio calculated in the dorsal and small colon was higher, though not significantly, than in the cæcum and ventral colon. A significant diet effect could only be detected in the stomach and the jejunum where the ratio was lower in horses fed D2.

Discussion

Describing microbial and fermentative profiles simultaneously for each anatomic segment of the digestive tract and for two distinct diets brought new knowledge of the horse's digestive ecosystem physiology. Furthermore, the functional characterisation of the microorganisms allowed us to formulate several hypotheses regarding the nutritional implication of this ecosystem. We considered that what occurred in the ante-cæcal segments was directly related to the morning pelleted meal, whereas the microbial profile of the hindgut was probably more a reflection of the whole daily diet. When 2:30 hours after the meal, the digestive transit is stopped, only a limited proportion of that meal has probably reached the hindgut. We therefore assumed that it could not have affected the microbial population yet, but could have affected the biochemical profile (Medina *et al.*, 2002).

Of all the precæcal segments of the digestive tract, the stomach is the one most studied and its pH is particularly well documented. Our values ranged from 4.0 to 5.9 pH units. They were consistent with results collected on sacrificed horses (Kern *et al.*, 1974; Wolter and Chaabouni, 1979; Morris *et al.*, 2002) but slightly below those recorded in gastric-cannulated horses 4 and 5 hours after the ingestion of a pelleted meal (pH 6.5 to 6.0) (Healy *et al.*, 1995). Gastric pH results were hard to interpret as they may vary greatly from one section of the stomach to another - the pylorus being the most acid (Kern *et al.*, 1974; Morris *et al.*, 2002) - but even in the same section (range from 1.8 to 6.2 pH units; Murray and Schusser, 1993). Such variations could suggest that microbial and fermentative profiles vary within the stomach, as put forward by Morris *et al.* (2002). We, therefore, had to consider that our results only gave an idea of the average composition of the gastric content. Regarding the effect of the last pelleted meal ingested, gastric pH was significantly more acid with the high fibre pellet (P1). Saliva production being related to meal size (Meyer *et al.*, 1986), the smaller volume of P1 induced a lower production of saliva and its buffering effect was therefore certainly lower than with the ingestion of P2. Furthermore, the smaller size of the meal together with the greater fibre content of P1 might have led to a greater extent of gastric emptying. In consequence, the amount of the remaining pelleted meal was reduced which allowed an easier mix of the ingesta with the gastric secretion of HCl, hence a more acid pH. Nevertheless, these results show the stomach's ability to be colonized by various microorganisms.

In our study, gastric concentrations of total anaerobic bacteria were slightly above the concentrations presented by Kern *et al.* (1974): 1.4×10^9 vs. 1.0×10^8 CFU / ml. Microbial populations related to starch and highly fermentable carbohydrates were predominant in the gastric microflora: we measured concentrations of lactobacilli and streptococci in a similar range to those presented by Alexander and Davies (1963). Our concentrations of lactate-utilising bacteria were similar to Alexander and Davies' concentrations of *Veillonella gazogenes* (6×10^8 CFU / ml) (1963), a lactate fermenting bacterium (Alexander *et al.*, 1952). Gastric emptying, together with the concomitant activity of lactate-producing and lactate-utilising bacteria, led to a total lactate concentration ranging from 0.7 to 5.4 mmol / l which, though below the minimum 12.7 mmol / l reported by Alexander and Davies (1963) and Morris *et al.* (2002), was consistent with other results (Kern *et al.*, 1974; Wolter and Chaabouni, 1979; Healy *et al.*, 1995). The lower concentration of D-lactate than of L-lactate might be related to a selective activity of the lactate-utilising bacteria. In the rumen of cows fed high concentrate diets, for instance, most of the lactate that is fermented into VFA is by *Megasphaera Elsdenii*, but only 16% of L-lactate against 75% of D-lactate was converted into propionic acid (Counotte *et al.*, 1983). Whether *M. Elsdenii* is present in the stomach of horses remains to be proven. Although with both diets, the concentrations of total anaerobic bacteria were identical in the stomach, the proportion of lactobacilli and lactate-utilising bacteria was greater in horses fed the high cereal pellet (P2). As previously reported in the caecum by Garner *et al.* (1978) and Goodson *et al.* (1988), the higher intake of starch supplied by P2 might have promoted a proliferation of lactobacilli. By contrast, there was no significant effect of the diet on the concentration of streptococci. This might be due to the low gastric pH. In the rumen, *Streptococcus bovis* was shown to decline below pH 5 (Espinasse *et al.*, 1995). The concentration of total lactate was greater in the stomach of horses fed P1, and this, together with mechanisms discussed earlier, might contribute to lowering the gastric pH. In animals fed the high starch pellet (P2), the lower concentration of lactate, and the proportion of lactate-utilising bacteria in the stomach (8.3 times greater), suggested that more lactate was fermented into VFA. This higher fermentation of lactate was confirmed by the significantly lower [(C2+C4)/C3] ratio in horses fed P2. That ratio was indeed affected by the higher proportion of propionate in the stomach of horses fed the high starch pellet ($P < 0.05$) (data not shown). This is consistent with results in the rumen where lactate is mainly converted to propionate when cows are fed high concentrate diets.

Our concentrations of cellulolytic bacteria in the stomach were slightly below those reported by Kern *et al.* (1974) (2×10^1 versus 2×10^2 CFU / ml) and they did not exceed 3.0×10^2 CFU / ml in the jejunum-ileum, which was consistent with the range of concentrations measured by Kern *et al.* (1974). Both studies agree that forage degradation in the precæcal section of the digestive tract is probably extremely low. This hypothesis is confirmed by the low VFA concentrations reported in our results and in previous literature (Alexander and Davies, 1963; Kern *et al.*, 1974; Morris *et al.*, 2002). The decreasing production of VFA from the stomach to the small intestine and its ultimate absorption through the intestinal wall should be investigated further.

Concentrations of total anaerobic bacteria were lower in the small intestine than in the stomach. As in ruminants, the dilution of the chyme with intestinal secretions and the occurrence of some proteolysis might explain this observation. Nevertheless, our concentrations remained relatively high and ranged from 8.5×10^7 to 1.4×10^9 CFU / ml in the jejunum, which is consistent with previous data (Mackie and Wilkins, 1988; Kollarczik *et al.*, 1992). In the ileum, concentrations of total anaerobic bacteria ranged from 7.0×10^6 to 3.6×10^9 and were also consistent with literature (Kern *et al.*, 1974; Mackie and Wilkins, 1988). Lactate-utilising bacteria and lactobacilli concentrations were similar (in average 6.0×10^7 and 2.9×10^7 , respectively), but lower than previous data showing respective concentrations of 6.0×10^8 (Alexander and Davies, 1963) and 3.3×10^8 (Kollarczik *et al.*, 1992).

The concentrations of lactate-utilising bacteria and lactobacilli decreased from the stomach to the small intestine whereas streptococci counts increased. In addition, streptococci became more numerous in the small intestine than lactobacilli, resulting in an increase in the streptococci / lactobacilli ratio (from 0.5 in the stomach, to 4.7 in the jejunum-ileum). Unlike in the stomach, the higher pH in the small intestine was probably more propitious for streptococci growth. Concentrations of lactate decreased constantly from the duodenum to the ileum, and the average small intestine concentration was lower than in the stomach. This was consistent with previous data (Wolter and Chaabouni, 1979). The L-/D-lactate ratio increased from the stomach to the small intestine. Assuming that lactate absorption through the intestinal wall is equivalent for both isomers, it is likely that this L-lactate predominance is related to modifications of the microflora fermentative activities. In contrast, ileal microbial communities were affected by the last pelleted meal ingested: concentrations in total anaerobic bacteria were greater in the ileum of horses fed P2, and this was positively related

to lactobacilli, streptococci and lactate-utilising bacteria. It was likely that the amount of starch that reached the ileum in horses fed the high forage pellet (P1) was not sufficient to promote the growth of bacteria involved in starch degradation. Beyond the lower starch intake, the type of starch composing the pellets was probably different in P1 compared to P2. It is known that the amylose / amylopectin ratio strongly influences the speed and extent of starch digestion (Duprat *et al.*, 1980). If the starch from P1 was better hydrolysed by horse's enzymes, the substrate available for microbial growth and metabolism was then limited in the ileum and lower compartments of the gut.

On average, total anaerobic bacteria concentrations were lowest in the caecum compared to the other digestive sections. This reinforces the idea that the ecosystems of each section should be investigated further to understand its respective function and ultimate consequences for the host. We enumerated an average of 7.9×10^7 CFU of total anaerobic bacteria per ml of caecal content, which was consistent with the range of concentrations reported in literature (from 1.8×10^7 up to 2.6×10^9 CFU / ml) (Kern *et al.*, 1973; Kern *et al.*, 1974; Mackie and Wilkins, 1988; Julliand *et al.*, 2001; Medina *et al.*, 2002). The average of total anaerobic bacteria counts for both diets was not significantly different between the different parts of the colon, but it is clear that variations within the colon had to be considered for each diet tested. It is well established that the microbial profiles of the caecum and right ventral colon are directly related to the diet composition (Kern *et al.*, 1973; Julliand *et al.*, 2001; Medina *et al.*, 2002). Our results suggest that diet characteristics have a direct influence on the microbial development in each part of the large intestine.

Unlike the precæcal segments, the hindgut is entirely colonised by high concentrations of intensely active cellulolytic bacteria, as shown by the high concentrations of VFA. The proportion of cellulolytics among total anaerobes appeared to be greater in the caecum than in the lower parts of the hindgut, and confirmed this blind pouch as probably the most propitious for cellulolysis. But the decrease in proportion of cellulolytics in the lower parts of the colon might be due to the reduction of cellulose in the digesta. We hypothesize that the particles entering the dorsal colon have a lower parietal polysaccharide content. The retention time of particles above one cm long might be indeed prolonged in the ventral colon due to the pelvic flexure (Dellow, 1982 from (Hume and Sakagushi, 1991). However, concentrations of cellulolytics were not truly modified within the large intestine and changes in VFA concentrations along the colon could hardly be related to cellulolytic bacteria counts. Again,

the diet has a strong influence both on cellulolytics and VFA concentrations. Although only significant for the cæcum and the left dorsal colon, concentrations in cellulolytics were highest in the hindgut of horses fed D1. Our diets differed in many points but two main characteristics might have acted together: the proportion of cellulose (found in the difference [ADF-ADL]), which was 8.2 points higher in D1 than in D2, promoted cellulolytics' growth, when the higher proportion of starch in D2 had a depressive effect on their development. In contrast, horses fed D2 showed total VFA concentrations significantly greater for all segments of the large intestine. Though both diets brought the same amount of NDF (822 g and 827 g / 100 kg BW, respectively for D1 and D2), the quality of the fibre in D2 was probably better and promoted the enzymatic activity of cellulolytic bacteria more, thus leading to a larger production of VFA. Besides, the limited amount of forage offered with D1 might also explain the regular decrease of VFA production along the hindgut to reach its minimum in the small colon. But one should not ignore that, with both diets, and in spite of the differences highlighted above, the VFA profile in the large intestine was identical. It is likely that the large amount of hay provided in D2 inhibited the negative effects of the starch on the hindgut ecosystem. Although cellulolytic bacteria were less numerous, their activity was stimulated by the amount of substrate, maintaining the ecosystem balance. Compared to D1, the energetic concentration of D2 was greater, not only due to the higher starch concentration but also to the greater yield of VFA from the fibre constituents.

On average, concentrations of lactobacilli, streptococci (= starch-utilising bacteria) and lactate-utilising bacteria tended to be lower in the cæcum than in any other part of the digestive tract, which suggests that the cæcal ecosystem is less exposed to rapidly fermentable carbohydrates than the lower parts of the hindgut. This is consistent with previous data reporting that soluble carbohydrates and undigested starch flowed very quickly through the cæcum and had a greater impact on the colonic flora than on cæcal flora (de Fombelle *et al.*, 2001). This is confirmed by the direct relation of the concentrations in the right ventral colon microorganisms to the starch content of the diet: lactobacilli and lactate-utilising bacteria increased significantly from the cæcum to the right ventral colon in horses fed the high starch diet (D2), whereas they remained unchanged in horses fed D1. The amplitude of the streptococci increase from the cæcum to the RVC was greater in horses fed D2. It is likely that D2 promoted both starch- and lactate-utilising bacteria, though no significant effect of the diet was detected within the different anatomic sections.

Although the total lactate concentration remained unchanged in the small intestine, cæcum and ventral colon, the respective production of D- and L-lactate varied significantly: L-lactate predominated in the small intestine, but both isomers were in similar proportion in the cæcum and the colon, which suggests a production-utilisation balance. The average D- and L-lactate concentrations within the large intestine were increased at least 4-7-fold from the left ventral colon to the left dorsal colon. This greater lactate concentration was concomitant with a decrease in propionate leading to a two point increase in the $[(C2+C4)/C3]$ -ratio. This suggests a decrease in the enzymatic activity of lactate fermenting bacteria. Although the total amount of starch provided in D2 was 2-fold that in D1, no difference was noticed in D- and L-lactate concentrations. When the digestive transit stopped, a limited amount of soluble carbohydrates had reached the hindgut. Consequently, if, when the digesta was collected in the hindgut, starch had been fermented into lactate, lactate-utilising bacteria might have had time to convert that lactate into VFA.

This trial suggested that the microbial degradation of feed in the stomach of horses, and in particular readily fermentable carbohydrates, should be investigated further, in order to assess its consequences on the energetic promotion of the diet. The impact of feeds and feeding practices on the gastric microbial fermentation should be all the more studied because they may lead to the production of organic acids, which can be a cause of gastric ulcers. Regarding the hindgut, fibre degradation occurred mainly in the cæcum, but the implication of each anatomic segment of the colon has been proven, particularly when a large amount of fibre is supplied. The stability of pH and VFA profiles, together with the large VFA production, showed that the decrease in the $[NDF / Starch]$ -ratio had no negative impact on the hindgut ecosystem. This suggests that when large amounts of starch are used to increase the energetic density of a diet, a significant amount of good quality fibre should be maintained. In feeding one kg of hay per 100 kg BW, no sign of microbial disturbance was noticed, but further studies should indicate the most appropriate level of intake, to prevent digestive disorders caused by microbial dysfunction in the hindgut.

Acknowledgements

Authors acknowledge EVIALIS for the financial support of this study. We would like to thank P. Boisot and A. Guyonvarch for their scientific support and also J.M. Ricard for his help with the manuscript. We are also very grateful towards G. Brigand, C. Chezeau, A.-L.

Guyon, B. Medina, D. Poillion, C. Reibel and S. Gonçalves for their technical assistance and without whom we wouldn't have been able to handle such a wide investigation.

References

- Alexander, F. and Davies, E. 1963. Production and fermentation of lactate by bacteria in the alimentary canal of the horse and pig. *Journal of Comparative Pathology* 73: 1-8.
- Alexander, F., Mac Pherson, M. and Oxford, A. E. 1952. Fermentative activities of some members of the normal coccal flora of the horses large intestine. *Journal of Comparative Pathology* 62: 252-259.
- Baruc, J. C., Dawson, K. A. and Baker, J. P. 1983. The characterization and nitrogen metabolism of equine caecal bacteria. *8th Equine Nutrition and Physiology Symposium*, (Ed. ENPS), pp. 151-156. University of Kentucky, USA.
- Bertone, A. L., Ralston, S. L. and Stashak, T. S. 1989. Fiber digestion and voluntary intake in horses after adaptation to extensive large-colon resection. *American Journal of Veterinary Research* 50: 1628-1632.
- Bryant, M. P. and Burkey, L. A. 1953. Cultural methods and some characteristics of the more numerous groups of bacteria in the bovine rumen. *Journal of Dairy Science* 36: 205-217.
- Counotte, G. H. M., Lankhorst, A. and Prins, R. A. 1983. Role of DL-lactic acid as an intermediate in rumen metabolism of dairy cows. *Journal of Animal Science* 56: 1222-1235.
- de Fombelle, A., Julliard, V., Drogoul, C. and Jacotot, E. 2001. Feeding and microbial disorder: 1-Effects of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profiles and activities. *Journal of Equine Veterinary Science* 21: 439-444.
- Drogoul, C., Faurie, F. and Tisserand, J. L. 1995. Estimation of the contribution of the pony's colon in fibre digestion : a methodological approach. *Annales de Zootechnie* 44: 182.
- Duprat, F., Gallant, D., Guilbot, A., Mercier, C. and Robin, J. P. 1980. L'amidon. In *Les polymères végétaux, polymères pariétaux et alimentaires non azotés* (Ed. B. Montiès), pp. 176-231. Gauthier-Villards.
- Espinasse, J., Kuiper, R. and Schelcher, F. 1995. Physiopathologie du complexe gastrique. In *Nutrition des ruminants domestiques - Ingestion et digestion* (Eds. R. Jarrige, Y. Ruckebusch, C. Demarquilly, M.-H. Farce and M. Journet), pp. 805-852. INRA, Paris.
- Garner, H. E., Moore, J. N., Johnson, J. H., Clark, L., Amend, J. F., Tritschler, L. G. and Coffman, J. R. 1978. Changes in the caecal flora associated with the onset of laminitis. *Equine Veterinary Journal* 10: 249-252.
- Goodson, J., Tyznik, W. J., Cline, J. H. and Dehority, B. A. 1988. Effects of an abrupt diet change from hay to concentrate on microbial numbers and physical environment in the cecum of the pony. *Applied and Environmental Microbiology* 54: 1946-1950.
- Halliwell, G. and Bryant, M. P. 1963. The cellulolytic activity of pure culture strains of bacteria from the rumen of cattle. *Journal of Generic Microbiology* 32: 441-448.
- Healy, H. P., Siciliano, P. D. and Lawrence, L. M. 1995. Effect of concentrate form on blood and gastric fluid variables in ponies. *Journal of Equine Veterinary Science* 15: 423-428.
- Herd, R. 1992. Choosing the optimal equine anthelmintic. *Veterinary and Medicine* 87: 232-239.
- Hintz, H. F., Argenzio, R. A. and Schryver, H. F. 1971. Digestion coefficients, blood glucose levels and molar percentage of volatile acids in intestinal fluid of ponies fed varying forage-grain ratios. *Journal of Animal Science* 33: 992-995.
- Hume, I. D. and Sakagushi, E. 1991. Patterns of digesta flow and digestion in foregut and hindgut fermenters. *Seventh International Symposium on ruminant physiology*, pp. 427-451.

- Hutchens, D. E., Paul, A. J. and di Pietro, J. A. 1999. Treatment and control of gastrointestinal parasites. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 15: 561-573.
- Jouany, J. P. 1982. Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Sciences des Aliments* 2: 131-144.
- Julliand, V., de Fombelle, A., Drogoul, C. and Jacotot, E. 2001. Feeding and microbial disorders in horses: 3- Effects of three hay:grain ratios on microbial profile and activities. *Journal of Equine Veterinary Science* 21: 543-546.
- Julliand, V., de Vaux, A., Millet, L. and Fonty, G. 1999. Identification of *Ruminococcus flavefaciens* as the predominant cellulolytic bacterial species of the equine cecum. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 3788-3741.
- Kern, D. L., Slyter, L. L., Leffel, E. C., Weaver, J. M. and Oltjen, R. R. 1974. Ponies Vs. steers: microbial and chemical characteristics of intestinal ingesta. *Journal of Animal Science* 38: 559-564.
- Kern, D. L., Slyter, L. L., Weaver, J. M., Leffel, E. C. and Samuelson, G. 1973. Pony cecum Vs. Steer rumen: the effect of oats and hay on the microbial ecosystem. *Journal of Animal Science* 37: 463-469.
- Kienzle, E. 1994. Small intestinal digestion of starch in the horse. *Revue de Médecine Vétérinaire* 145: 199-204.
- Kollarczik, B., Enders, C., Friedrich, M. and Gedek, B. 1992. "Effect of diet composition on microbial spectrum in the jejunum of horses". *I. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes - Physiologie und Pathologie des Verdauungskanal - Konsequenzen für die Ernährung*, pp. 49-54. Pferdeheilkunde, Hannover.
- Leedle, J. A. Z. and Hespell, R. E. 1980. Differential carbohydrate media and anaerobic replica plating techniques in delineating carbohydrate-utilizing subgroups in rumen bacteria populations. *Applied and Environmental Microbiology* 34: 709-719.
- Mackie, R. I. and Heath, A. B. 1979. Enumeration and isolation of lactate-utilizing bacteria from the rumen of sheep. *Applied and Environmental Microbiology* 38: 416-421.
- Mackie, R. I. and Wilkins, C. A. 1988. Enumeration of anaerobic bacterial microflora of the equine gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology* 54: 2155-2160.
- Martin-Rosset, W., Vermorel, M., Doreau, M., Tisserand, J. L. and Andrieu, J. 1994. The French horse feed evaluation systems and recommended allowances for energy and protein. *Livestock Production Science* 40: 36-56.
- Medina, B., Girard, I. D., Jacotot, E. and Julliand, V. 2002. Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profile and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. *Journal of Animal Science* 80: 2600-2609.
- Meyer, H., Coenen, M. and Probst, D. 1986. Beiträge zur verdauungsphysiologie des pferdes 14. Futtereinspeichelung und -passage im kopfdarm des pferdes. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 56: 171-183.
- Morris, V. K., Kaihilahti, L., Girvan, M., Ball, A. S. and Hill, J. 2002. Chemical composition of digesta and microbial diversity in the fore stomach of the horse. *53rd EAAP meeting*, Cairo, Egypt.
- Murray, M. J. and Schusser, G. F. 1993. Measurement of 24-H gastric pH using an indwelling pH electrode in horses unfed, fed and treated with ranitidine. *Equine Veterinary Journal* 25: 417-421.
- Murray, S. M., Flickinger, E. A., Patil, A. R., Merchen, N. R., Brent Jr., J. L. and Fahey Jr., G. C. 2001. In vitro fermentation characteristics of native and processed cereal grains and potato starch using ileal chyme from dogs. *Journal of Animal Science* 79: 435-444.
- Sauvant, D., Chapoutot, P. and Archimède, H. 1994. La digestion des amidons par les ruminants et ses conséquences. *INRA Production Animales* 7: 115-124.
- Wolter, R. and Chaabouni, A. 1979. Etude de la digestion de l'amidon chez le cheval par analyse du contenu digestif après abattage. *Revue de Médecine Vétérinaire* 130: 1345-1357.

PUBLICATION N°2 :

**PARTIAL AND TOTAL APPARENT DIGESTIBILITY OF
DIETARY CARBOHYDRATES IN HORSES AS AFFECTED BY THE
MORNING MEAL AND THE DIET**

Animal Science (Accepté)

Partial and total apparent digestibility of dietary carbohydrates in horses as affected by the diet

Varloud M.†, de Fombelle A.†, Goachet A.G.‡, Drogoul C.‡, Julliand V.‡⁸

†EVIALLIS, 56 250 Saint Nolff, France ‡ENESAD, 26 bvd Dr. Petitjean, BP87999, 21079 Dijon cedex, France

Abstract

The study reported in this paper was conducted to evaluate the digestibility of dietary carbohydrates (“starch and sugars” (S), neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF)) and organic matter (OM) in the different parts of the equine digestive tract (stomach, jejunum-ileum, caecum, right ventral colon, left ventral colon, left dorsal colon, right dorsal colon, small colon and faeces). Three horses were given a standard diet (D1) based on fibrous pellets and straw and four were fed a high energy diet (D2) based on starch pellets and meadow hay. The digesta collection procedure, by total tract removal permitted measurement of organ length, dry matter and volume of digesta. Acid detergent lignin (ADL) and acid insoluble ash (AIA) were used as natural digestibility markers. It was shown that AIA was a more relevant marker in ante-caecal compartments where the pelleted morning meal digestibility was evaluated, while ADL was more appropriated in the postileal compartments where the whole diet digestibility was estimated. In horses given D1, precaecal OM digestibility coefficient varied from -0.04 to 0.20 whereas it varied from 0.46 to 0.62 in horses receiving D2. For both pellets, the results showed a considerable S digestibility occurring in the stomach (0.69 and 0.60 for D1 and D2 respectively) and continued in the small intestine (0.88 and 0.88 for D1 and D2 respectively). With the exception of D2, structural carbohydrate fractions of the feeds were poorly digested in the precaecal digestive parts. In the hindgut, OM digestibility coefficient varied from 0.47 to 0.60 for D1 and from 0.33 to 0.51 for D2. In horses given D1, highest digestibility was observed for each dietary carbohydrate in the left dorsal colon where it reached 0.99 for Sd; 0.45 for NDFd and 0.40 for ADFd. In horses receiving D2, the dietary components digestibilities increased regularly along the hindgut up to the faeces. The D2 structural fractions (NDF and ADF) digestibilities in the hindgut and

⁸ Corresponding author. Tel +33-380772559; Fax +33-380772584 - Email address: v.julliand@enesad.fr

faeces were lower than in horses given D1. These results not only confirmed that high energy diets like D2 can affect structural carbohydrate digestion in the horse hindgut but also indicated that a large amount of the energy part of the pelleted morning meal is broken down in the stomach.

Key words: Digestibility, Fibre, Horse, Marker, Starch.

Introduction

Plant cell walls constitute the major dietary energy source for horses. Their digestion, occurring in the hindgut, has been widely studied and their apparent digestibility coefficients varies from 0.30 to 0.70 (Moore-Colyer *et al.*, 1999; Morrow *et al.*, 1999; Hyslop, 2002) depending on fibre source and level of processing. Horses can utilise these compounds *via* their microbial degradation which provides energy through the production of volatile fatty acids (VFA). To increase the energetic density of diets fed to performance horses, cereals are substituted or added to forage. Cereal starch represents the most widespread added storage polysaccharide offered to equine athletes. The apparent digestibility coefficient of starch ranges from 0.90 to 1.00. However, the precaecal digestibility of starch varies substantially in accordance with a number of factors such as its botanical origin or manufacturing processes (Kienzle, 1994). It is well known that the precaecal starch digestion capacity is overloaded when large amounts of native cereals are given to horses (Potter *et al.*, 1992; Kienzle, 1994), little information is however available on precaecal starch digestion when ingredients are pelleted (Hintz *et al.*, 1971; Wolter and Chaabouni, 1979; Wolter *et al.*, 1980).

The use of gut compartments to measure the partial apparent digestibility of dietary components has been previously performed in horses (Hintz *et al.*, 1971; Wolter and Chaabouni, 1979) and other species (Gutiérrez *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2002). Natural markers are often chosen in digestibility trials to estimate digesta pool size and passage rate as they do not influence gastrointestinal secretion, digestion and absorption of nutrient or motility. In horses, acid detergent lignin (ADL) and acid insoluble ash (AIA) have been commonly used to estimate total tract apparent digestibility (Cuddeford and Hughes, 1990; Miraglia *et al.*, 1999; Almeida *et al.*, 2001) or dry matter flow rate (Almeida *et al.*, 1999), but rarely for evaluating apparent digestibility of feeds in different segments of the gut (Almeida *et al.*, 1999). AIA has been already and successfully used in study of apparent digestibility in different compartments of the gut in other species (Fan *et al.*, 1994; Huhtanen *et al.*, 1994; Scott and Hall, 1998). The two natural markers, AIA and ADL, were used in the study reported in this paper to evaluate the partitioning of digestibility of organic matter (OMd), “starch and sugars” (Sd), neutral detergent fibre (NDFd) and acid detergent fibre (ADFd) of two pelleted diets between different segments of the gut.

Material and methods

The experiment was conducted under license from the Department of Health and Animal Care of the French Veterinary Authority (n°A21002).

Animals, management and diets

Seven adult mature geldings (364 ± 38 kg BW) were used in the experiment and were maintained in individual free stall on artificial bedding (DouliTM) with free access to an automatic waterer. Horses were wormed with a double dose of pyrantel (StrongidTM, laboratoire Pfizer, Orsay, France) followed a week later with a single dose of ivermectin (EqvalanTM, laboratoire Merial, Lyon, France) 15 days before the experiment. Three horses were given diet 1 (D1) which was composed of straw and a 21.1 % “starch + sugars” pelleted feed and four horses were offered diet 2 (D2) which was composed of meadow hay and a 41.6 % “starch + sugars” pelleted feed; feeds and feeding programs were chosen according to de Fombelle *et al.* (2003) (Table 25 and Table 26).

In vivo total tract digestibility trial procedure and sampling

Prior to this study, the three horses given D1 were used in a digestibility trial. The feeds and the feeding program were identical to those presented above for D1. After a 21 days adaptation period to the diet, horses were tethered in stalls and fitted with harnesses allowing faecal collection. The amount of feed offered and refused, and the total amount of faeces excreted was measured for every 24 h (at 8:00 a.m. prior to feeding) during 6 successive days. Aliquot of faeces (10 % of fresh matter), the diet offered and refusals, if any, were taken daily and dried at 60°C in a air-forced oven to constant weight. The daily samples of feed, refusals and faeces were composited for the total collection period.

Postmortem partial digestibility trial procedure and sampling

Horses were prepared as expounded by de Fombelle *et al.* (2003). Faeces were collected after the morning meal ingestion and before the induction of anaesthesia. After exteriorisation of the digestive tract and identification of each part of the tract the stomach, the duodenum, the jejunum-ileum, the caecum, the right ventral colon, the left ventral colon, the left dorsal colon, the right dorsal colon, and the small colon were isolated with ligatures at both ends and removed. Each segment was then emptied in a pre-identified bucket, incremented every

500 ml; the total volume of digesta collected was recorded. Once cleared, each anatomic part was flattened on the ground and a tape was used to measure the total organ length.

Whenever possible, one sample of digesta (between 200 g and 400 g of fresh matter) was split in two pre-identified plastic boxes that were hermetically sealed. Boxes were immediately weighed and frozen at -25°C for subsequent determination of dry matter content (DM) as described in the total digestibility trial. Composite samples from total digestibility trial and frozen samples were ground through a 1· mm screen in a hammer mill to determine neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF), acid detergent lignin (ADL), organic matter (OM) and acid insoluble ash (AIA). For each segment, a second sample was also immediately frozen at -25°C in hermetically sealed plastic boxes, freeze-dried (168 hours) and ground with a ball mill (MM200 Retsch, 30 oscillations / s for 2 min) for determination of “starch and sugars” (S).

A daily sample of the forage (straw or hay) offered was taken during the week prior to the collection of digesta samples and a composite sample was made to allow determination of DM content. The day of digesta collection, a sample (2 X 200 g) of the pelleted feed was taken and DM content was measured. All feed samples were ground in a hammer mill and analyses were performed as described above.

Biochemical analysis

Digesta and feed samples were analysed in duplicates. NDF, ADF and ADL fractions were determined (Van Soest *et al.*, 1991). “Starch and sugars” (= glucose polymers) proportions were measured through an enzymatic procedure according to Edwards modified by Kozlowski (Kozlowski, 1994). AIA contents of feed and digesta were measured as described by MAFF (1986). Crude Protein (CP) proportions of the feeds were determined using the Kjeldahl method (BIPEA, 1997).

Data calculations

Total tract apparent digestibility of each dietary component of D1 was evaluated as described by Demarquilly *et al.* (1995).

According to de Fombelle *et al.* (2003) precaecal digestive contents were considered to be only related to the morning meal given the collection day. As total tract mean retention time was assumed to be 35·8 hours on average (Medina *et al.*, 2002), the postileal digesta represented the last 36 hours diet offered. As a consequence, the ratio of AIA or ADL as internal markers in the morning meal (precaecal compartments) or in the diet (postileal

compartments) to the amount of marker in excreta or digesta indicated the digestibility of the dietary components. The dietary components digestibility was evaluated using AIA or ADL as internal markers and was calculated as $d(\text{component}) = 100 \times [(\% \text{ component ingested} / \% \text{ marker ingested}) - (\% \text{ component digesta} / \% \text{ marker digesta})] / (\% \text{ component ingested} / \% \text{ marker ingested})$.

Statistical analysis

Analysis of variance (ANOVA) using the GLM procedure of SAS v8.2 (SAS Inst. Inc., Cary, NC) was conducted, within each marker (AIA or ADL), to evaluate the response (OMd, Sd, NDFd and ADFd) to the diet (degree of freedom (d.f.) = 1), digestive segment (d.f. = 8) and to the diet \times digestive-segment interaction. ANOVA was also performed for each diet to identify the following effects: marker (d.f. = 1), digestive segment (d.f. = 8), and their interaction (marker \times digestive-segment) on the various digestibility coefficients. Both models included horse (n = 3 for D1 and n = 4 for D2), nested in diet, as a randomised effect. Digestibility data (n = 126) were transformed using the arcsine transformation before statistical processing. Least square means were calculated for all variables and separated using pairwise t-tests (Pdiff option of SAS) and the significance threshold for all tests was set at $P < 0.05$.

Results

The injection of the anaesthetic occurred on average 2:29 hours after the offer of the morning pelleted meal. The removal of the various segments of the gastrointestinal (GIT) tract and the collection of digesta were identical for each horse, starting with the left ventral and dorsal colon and finishing with the stomach. Digesta were collected from the anatomic segments between 2:55 and 4:52 hours after the morning meal, increasing the retention time from 45 minutes up to 2:20 hours after the induction of the anaesthesia (Table 27).

Organ length, volume and dry matter content of digesta

The average length of each part of the digestive tract measured was similar between the two groups of horses. With a mean length of 1456 cm, the small intestine represented around 70 % of the total length of the intestinal tract whereas the caecum and the large colon constituted 5 % and 14 %, respectively (Table 28).

The total volume of digesta collected from the different parts of the digestive tract was approximately 30 litres. The distribution of digesta between the foregut and the hindgut was variable depending on the diet offered to the animals. The volume of the precaecal digesta represented 20.2 % of the total volume for horses offered D1 whereas it represented 36.9 % for horses receiving D2. From horses fed D1, 2.6 litres of gastric contents were collected and 5.5 litres were collected from those given D2. These amounts represented 43.4 % and 54.0 % of precaecal digesta, for D1 and D2, respectively. Five to six litres were collected from the caecum. This represented approximately 17 % of the total volume of digesta. Only 1.8 and 0.6 litres were collected in the left dorsal colon of horse offered D1 and D2 respectively. The colon (total) contained 62.9 % of the total volume of digesta collected in horses given D1, whereas it contained only 43.6 % for horses given D2.

Dietary components digestibility

Using the total collection method, the digestibilities coefficients calculated for D1 were 0.58; 1.00; 0.42; 0.41 for OMd, Sd, NDFd and ADFd respectively.

When the partial collection method in different segment of the digestive tract was performed, digesta samples were used both for microbial and biochemical analysis and digestibility measurements. After a sample of approximately 200 ml was taken to run microbial and biochemical measurements (de Fombelle *et al.*, 2003), there was no digesta left in the duodenum for other analysis. As a consequence, the dietary components digestibilities could not be measured in this digestive segment.

There was no effect of the horse ($P > 0.05$) on the dietary components digestibilities.

The effect of the marker on digestibility measurements differed depending on the diet given (Figure 15 and Figure 16). Horses offered D1 had lower apparent digestibilities of NDF, ADF and OM measured with AIA as a marker ($P < 0.001$) than those measured with ADL. The exception to this observation was for starch. The converse occurred for diet D2. Whatever the diet, for each dietary component, there was no marker digestive segment interaction.

The apparent digestibilities of all dietary component differed depending on the digestive compartments when calculated with AIA (from $P < 0.001$ to $P < 0.05$) or ADL ($P < 0.001$).

Due to the differences obtained between the two markers, digestibility of each component need to be studied within each method chosen (Table 29 and Table 30).

Digestibilities calculated with AIA as an internal marker

Organic matter digestibility

The apparent digestibility of organic matter measured with AIA was different in each segment of the digestive tract ($P < 0.05$) and higher for D2 than for D1 ($P < 0.001$). The interaction between the diet and the digestive segment was not significant (Table 29). Considering the precaecal digestibility, OMD of both pellets was similar in the stomach and the jejunum-ileum (Table 29). Regarding postileal digestibilities, OMD was similar between the different segments of the large intestine for D1. However, when horses were offered D2, OMD was higher ($P < 0.05$) in the left dorsal colon than in the caecum (Table 29).

“Starch and sugars” digestibility

The apparent digestibility of starch and sugars was dependent on the location of sampling in the digestive tract ($P < 0.001$). The effect of the diet and the digestive-segment \times diet interaction were not significant (Table 29). Precaecally, for both diet, Sd was higher in the jejunum-ileum than in the stomach ($P < 0.01$). In the hindgut segments, for both diets, the apparent Sd was lower ($P < 0.05$) in the caecum than in the lower parts of the colon or the faeces. Whatever the diet given, the Sd in faeces was almost complete (Table 29).

Fibre digestibility

The apparent digestibility of NDF was different ($P < 0.01$) depending on the digestive segment, whereas ADFd was not altered by anatomic location. Both NDFd and ADFd were affected ($P < 0.05$) by the diet, regardless of the location in the digestive tract. The lowest NDFd and ADFd were observed in horses given D1. For both NDFd and ADFd, the interaction between the digestive segment and the diet was not significant (Table 29). NDFd and ADFd in the precaecal compartments were similar between the stomach and the jejunum-ileum for both diets. In postileal compartments, NDFd and ADFd, were not affected by the location in the digestive tract for D1. Whereas, for D2, NDFd was lower ($P < 0.05$) in the caecum and the right ventral colon than in the dorsal colon, small colon and faeces. ADFd was higher ($P < 0.05$) in the left dorsal colon than in the other parts of the large intestine (Table 29).

Digestibilities calculated with ADL as an internal marker

Organic matter digestibility

OMd was different ($P < 0.001$) according to the segment of the digestive tract and lower ($P < 0.01$) for D2 than for D1. The interaction was also significant ($P < 0.05$) between the diet and the digestive tract segment (Table 30). The OMD for D2 was higher ($P < 0.001$) in the jejunum-ileum than in the stomach (Table 30). In the jejunum-ileum, OMD was higher ($P < 0.01$) in horses given D2 than those given D1 (Table 30). No significant difference was noted

between the different parts of the large intestine of horses given D1, whereas for those given D2, the apparent OMD in the caecum and the left dorsal colon were lower ($P < 0.05$) than in the right dorsal colon, small colon and the faeces. OMD was also lower ($P < 0.05$) with D2 than D1 in the caecum and the left dorsal colon (Table 30).

“Starch and sugars” digestibility

The S digestibility was affected ($P < 0.01$) by the digestive tract segment, the diet and their interaction. As observed when AIA was used as a marker, regardless of the diet, Sd was precaecally higher in the jejuno-ileum than in the stomach ($P < 0.01$). In the stomach, Sd was lower ($P < 0.001$) in horses given D2 than D1 (Table 30). In the hindgut, for both diets, the apparent Sd was lower ($P < 0.05$) in the caecum than in the lower parts of the colon or the faeces. Whatever the diet given, the Sd in faeces was almost complete (Table 30).

Fibre digestibility

NDFd and ADFd were affected ($P < 0.001$) both by the digestive tract segment and the diet composition. For both NDFd and ADFd, the interaction between the digestive tract segment and the diet was not significant. The lowest apparent digestibilities were measured in horses given D2 (Table 30). NDFd was similar in the foregut of horses given D1, whereas, for D2, it was significantly higher in the jejuno-ileum compared to the stomach. For both diets ADFd was similar between the stomach and the jejuno-ileum. In horses offered D1, NDFd was similar in all the postileal segments. Whereas, horses offered D2 had higher NDFd ($P < 0.05$) in the small colon and the faeces than in the upper parts of the large intestine. ADFd was similar in all segments of the large intestine for both diets. NDFd and ADFd were higher ($P < 0.001$) in horses given D1 than in those given D2 regardless of location in the digestive tract (Table 30).

Discussion

The collection of partitioned digestive contents brings complementary information on digesta volumes collected from the GIT. These volumes were lower than those previously reported (Argenzio, 1975) and organ length were similar to the data of Barone (1984). In the hindgut, the lowest amount of digesta (96 g of DM) was collected in the left dorsal colon. As horses were laid down and no sphincter separates the different anatomical part of the colon, some digestive segments like the left dorsal colon may have been partially emptied before the sampling procedure. Digesta volume seemed to be affected by the diet. The volume of the

precaecal digesta appeared to be more important in horses given the high starch pellet (D2) than in those receiving the high fibre pellet (D1), which was consistent with the larger quantity of high starch pellet given for morning meal. Interestingly, the gastric volume showed the greatest difference, being twice in horses given D2 than in those given D1. Our data confirmed that gastric emptying of a larger meal is slowed in terms of percent of total original volume (Metayer *et al.*, 2004). The difference of chyme consistency between the horses receiving D1 and those fed D2 might have partly slowed the gastric emptying. A larger meal would require more time for mixing with gastric secretions than a smaller one.

Our data gave a description of what should happen in the live animal precaecal digestive tract about 2:30 hours after meal ingestion. In the stomach, the retention time induced before collecting gastric contents was close to physiological value (in average 4:42 hours) for D2. However, for D1, the retention time was artificially prolonged (Metayer *et al.*, 2004). The mean retention time in the small intestine is not well documented but could be calculated by subtracting the gastric retention time from the transit time between the mouth and the terminal ileum (Medina *et al.*, 2002). It is likely that digesta need from 3.9 to 4.7 hours to flow across the small intestine. In the hindgut, the two hours prolongation had probably a very low impact on the digestion as the mean retention time of digesta is ranging from 20.9 to 37.5 hours (Medina *et al.*, 2002).

Initial incorporation of the markers in the meal and diet and their modality of transit should undoubtedly contribute to define the accuracy of digestibility data. Even if a regular increase of each marker proportion along the digestive segment was observed, differences were noticed between the two natural markers in term of estimating digestibility (Figure 15 and Figure 16).

Interestingly, whatever the diet, both AIA and ADL gave very similar Sd results. We considered that both AIA and ADL are reliable internal markers to evaluate “starch and sugars” digestibility in equines.

Regarding other dietary components we measured a difference between the two markers depending on the diet. In horses offered the high fibre diet (D1), OMD, NDFd and ADFd were lower with AIA compared to ADL. When using ADL as a natural marker, the digestibilities of all dietary components were very similar to those obtained using the total collection method (Table 30). Previous studies concluded that the low recovery rate of ADL was a limiting factor in digestibility studies (58.30 % (Machado, (1992) cited by Almeida *et al.*, (2001)); 59.0 % (Miraglia *et al.*, 1999)) and that AIA represented a more relevant choice to evaluate

digestibility in equines. However, the apparent digestibility of ADL evaluated *in vivo* by total collection indicated that only 10.9 % of the ADL fraction of the diet disappeared in the GIT of horses given D1. This could be explained by the botanical origin of ADL in D1 (straw) and indicates a better recovery rate of ADL (89 %). As a consequence, ADL might lead to more reliable digestibility results. Recovery rates of AIA in the faeces have been reported to vary from 97.68 (Araujo *et al.*, 2000) to 168.65 % (Almeida *et al.*, 2001), which may explain why AIA usually overestimate apparent digestibility (Schurg *et al.*, 1977; Cuddeford and Hughes, 1990; Miraglia *et al.*, 1999; Almeida *et al.*, 2001). Surprisingly, in our study, apparent total tract digestibilities of all the D1 components were underestimated when using AIA as a marker. These last observations, associated with the high similarity of digestibilities obtained with total collection method and ADL, lead to consider ADL as the most appropriate marker to evaluate the digestibilities of D1 dietary components.

In horses offered D2, OMD, NDFd and ADFd were higher with AIA than with ADL in every digestive compartment (Figure 16). The difference between the two markers was more important in the precaecal part of the digestive tract and in the left dorsal colon. Then, in the left dorsal colon, we collected a small quantity of digesta (96 g of DM) which might not be representative. There was no data available on D2 components digestibility calculated by the total collection method. As a consequence, it was more difficult to consider the reliability of the marker used to calculate the digestibility. However, postileal digestibilities of fibre calculated on ADL basis in horses offered D2 were lower (less than 0.22 and 0.18 in the faeces for NDFd and ADFd respectively) than in those fed D1 which included straw. These data appeared very low compared to Hintz *et al.* ones, who recorded NDFd ranging from 0.34 to 0.36 in the caecum and from 0.41 to 0.55 in the small colon and rectum of horses fed hay-grain diets (Hintz *et al.*, 1971). In the present study, the forage quality (hay vs. straw) may influence the resistance of ADL, but not AIA, to digestive processes. In previous digestibility trials, AIA have already been considered as the most accurate natural marker for measuring partial (Almeida *et al.*, 2001) or total digestibility (Miraglia *et al.*, 1999) of diet components. As a result, these concomitant observations justified why we should consider AIA as the most accurate marker to allow D2 fibre and OM components digestibilities estimation. In forthcoming equine studies, more attention should be given to improve AIA use. As example, like in poultry digestibility trials, diets should be previously enriched with AIA (Scott and Hall, 1998).

Considering our conclusions on marker choice we can analyze the digestibility results obtained for each diet tested. The high starch pellet (D2) given for morning meal, provided about 4 times more starch than high fibre pellet (D1) (286.1 vs. 73.5 g of “starch + sugars” /100 kg BW respectively) and 3 times more starch disappeared in the stomach of horses receiving D2 than in horses fed D1 (172.8 vs. 50.4 g of “starch + sugars” / 100 kg BW respectively). Whatever the diet, more than 40 % of the dietary “starch and sugars” were broken down from the stomach. This observation confirmed previous data obtained with pelleted diets on sacrificed ponies (Wolter and Chaabouni, 1979) and ponies fitted with a proximal duodenum cannula (Wolter *et al.*, 1980). It was established that salivary α -amylase activity is considered to have a negligible contribution in starch digestion (Roberts, 1974). Duodenal reflux is the only route to allow pancreatic α -amylase to enter the stomach but this phenomenon was only observed in fasted horses (Murray and Schusser, 1993). High Sd observed in the stomach was presumed to be due to microbial activity (Wolter and Chaabouni, 1979). The concomitant increase of glucose and lactate in the gastric fluid of ponies given a textured or pelleted feed (Healy *et al.*, 1995), and the simultaneous determination of large amyolytic microbial communities and its fermentation end-products (lactic acid and VFA) in the stomach of horses (de Fombelle *et al.*, 2003), confirmed that microbial activity occurs in the stomach. The nutritional role of these micro-organisms remains to be explored.

Regardless of the diet, the Sd coefficient in the jejunum-ileum was higher than previous values reported for CHO (carbohydrates) in pelleted diets, either in sacrificed ponies (0.72) (Hintz *et al.*, 1971) or in ponies fistulated with an ileal cannula (0.74) (Brown (1987) cited by Potter *et al.*, 1992). Whatever the percentage of “starch + sugars” in the morning pellet, there was no significant modification of the ante-caecal Sd. This confirmed the data reported by Brown (1987) (cited by Potter *et al.*, 1992) who showed no variation of precaecal starch digestibility with the morning meal size, but contrasted with the findings by Hintz *et al.* (1971).

Total tract Sd was nearly complete (Wolter *et al.*, 1982) in both diets but, when the larger and higher starch meal was given, 4.6 times more starch (8 vs. 37 g / 100 kg BW) reached into the hindgut. Enzymatic degradation of starch in the equine small intestine relates to pancreatic α -amylase and the brush border disaccharidases activity. Compared to other species (rabbit, pig and dog), the pancreatic α -amylase activity of horse is relatively low (Roberts, 1974) and related to the starch proportion of the feed (Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1994). This can explain why “starch and sugars” degrading capacity of the small intestine can easily be overloaded in equines. The amount of “starch and sugars” that reached the large intestine is

directly related to the extent of precaecal utilization. The amount of “starch and sugars” reaching the hindgut represented 0.47 and 2.48 g of starch / 100 ml of caecal content for D1 and D2 respectively. In horses given D2, the amount of starch reaching the large intestine was greater than the limit reported by Bailey *et al.* who indicated that, *in vitro*, 1 g of corn starch / 100 ml of caecal content was enough to induce a significant pH drop and an increase of production of amines (Bailey *et al.*, 2002). Nevertheless, these results may not represent the effect of precaecally digested corn. Besides, microbial activity in the hindgut can be affected by starch botanical origin (Kienzle, 1994). Further investigations should be designed to assess the effect of starch characteristics (botanical origin and technological treatment).

The digestibility of plant cell-walls, estimated through NDF and ADF digestibilities, remained low in the precaecal part of the GIT, if we except the digestibility coefficient that were calculated using AIA as an internal marker for horses given D2. This is similar to previous data obtained using the mobile bag technique, where 8 % of the NDF fraction of hay cubes disappeared in the precaecal part of the equine GIT (Moore-Colyer *et al.*, 2002). When calculated with AIA, the plant cell-walls digestibility of the D2 pellets was higher than when horses were offered the D1 pellets. This observation may be due to a higher proportion of high soluble fibre in the D2 pellets, principally based on luzerne, reported to be more easily digestible even in the precaecal part of the GIT (Moore-Colyer *et al.*, 2002). In the hindgut, when estimating the digestibility of the cell wall using ADL as a marker, we observed a lower digestibility of structural carbohydrate with the high starch diet. This may be related to the larger amount of starch reaching the hindgut. However, this observation was not verified when AIA were used as the internal marker.

Whatever the diet, the fibre digestibility increased gradually along the hindgut with the highest digestibility for both NDF and ADF being observed in the left dorsal colon (Table 29). The digestibility of NDF in the hindgut was lower than those reported by Hintz *et al.* in 1971. This difference could be partly related to differences in the forages:concentrates ratios and the difference in forage presentation. Our horses were given pellets and native forages, whereas Hintz *et al.* provided a whole pelleted diet to the horses. It has been previously demonstrated that pelleting forages can enhance fibre digestibility (Yoder *et al.*, 1997).

Implications

According to our results, AIA and ADL gave coherent data for “starch and sugars” digestibility evaluation. However, parietal carbohydrates and OM digestibilities have been

measured more accurately using ADL in horses given D1, whereas AIA have been preferred to evaluate these components digestibilities in horses offered D1. Whatever the diet, care should be taken to avoid a poor estimation of apparent digestibility and either internal or even external markers should be used.

It is suggested from our data that, even with pelleted feeds, when larger amounts of starch are given, high quantities of starch can reach the large intestine where it can lead to microbial dysfunction and health problems. More work is needed to determine the rate of starch delivery in the large intestine and the consequences of rapid delivery.

Our results also underlined that an important role of “starch and sugars” digestion in the stomach. These data are similar with recent findings on gastric microbial population and raise numerous questions. Further researches are necessary to estimate the true energetic value of the starch ingested, the nature of the by-products of this microbial degradation and the implication of these elements both in the nutritional and health balance.

Acknowledgments

The authors wish to acknowledge the work of Genet Brigand for the care of research animals, the assistance of Stéphane Gonçalves, Christelle Philippeau and Frédérique Respondek for the sampling procedure and the work of Emmanuel Jacotot, Carole Reibel and Patricia Dorsemaine for the microbial and biochemical analyses.

We would also like to gratefully acknowledge the financial support of the French “Haras Nationaux” and of EVIALIS.

Bibliography

- Almeida, F. Q., Campos Valadares Filho, S., Vieira de Almeida, M. I., Lopez Donzeles, J., Leao, M. I. and Cecon, P. R. 2001. Internal and external markers to estimate the apparent digestibility of nutrients in horses diets. *17th Equine Nutrition and Physiology Symposium*, (Ed. ENPS), pp. 477-481., Lexington, Kentucky, USA.
- Almeida, F. Q., Valadares Filho, S. C., Coelho da Silva, J. F., Cecon, P. R., Donzele, J. L., Queiroz, A. C. and Leao, M. I. 1999. Flow rate of dry matter through the equine small intestine obtained with external and internal markers. *16th Equine Nutrition and Physiology Symposium*, (Ed. ENPS), pp. 286-287., Raleigh, North Carolina, USA.
- Araujo, K. V., Freitas Lima, J. A., Fialho, E. T. and Sayuri Miyagi, E. 2000. Comparação dos indicadores internos com o método de coleta total para determinar a digestibilidade dos nutrientes de dietas mistas em equinos. *Ciências. agrotecnicas*. 24: 1041-1048.

- Argenzio, R. A. 1975. Functions of the equine large intestine and their interrelationship in disease. *Cornell Vet* 65: 301-331.
- Bailey, S. R., Rycroft, A. and Elliot, J. 2002. Production of amines in equine cecal contents in an *in vitro* model of carbohydrate overload. *Journal of Animal Science* 80: 2656-2662.
- Barone, R. 1984. *Anatomie comparée des mammifères domestiques*, Vigot ed.: Paris; Vol. 3.
- Bureau InterProfessionnel d'Etudes Analytiques (BIPEA). 1997. Conseils méthodologiques pour le dosage de l'azote par la méthode Kjeldalh. BIPEA : Gennevilliers, 1-20.
- Cuddeford, D. and Hughes, D. 1990. A comparison between chromium-mordanted hay and acid-insoluble ash to determine apparent digestibility of a chaffed, molassed hay/straw mixture. *Equine Veterinary Journal* 22: 122-125.
- Dawson, K. A., Hopkins, D. M., Lawrence, L., Drouet, N., Drogoul, C. and Julliand, V. 1999. Effects of dietary barley on the composition and activities of the cecal microbial populations in ponies. *16th Equine Nutrition and Physiology Symposium*, (Ed. ENPS), pp. 355-356., Raleigh, North Carolina, USA.
- de Fombelle, A., Varloud, M., Gochet, A.-G., Jacotot, E., Philippeau, C., Drogoul, C. and Julliand, V. 2003. Characterisation of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses fed two distinct diets. *Animal Science*.77: 293-304.
- de Vega, A., Gasa, J., Castrillo, C., Guada, J.A. 1998. Passage through the rumen and the large intestine of sheep estimated from faecal marker excretion curves and slaughter trials. *British Journal of Nutrition*. 80: 381-389.
- Drogoul, C., De Fombelle, A. and Julliand, V. 2001. Feeding and microbial disorders in horses : 2-effect of three hay : grain ratios on digesta passage rate and digestibility in ponies. *Journal of Equine Veterinary Science* 21: 487-491.
- Fan, M. Z., Sauer, W. C., Hardin, R. T. and Lien, K. A. 1994. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in pigs: effect of dietary amino acid level. *Journal of Animal Science* 72: 2851-2859.
- Gutiérrez, I., Espinosa, E., Garcia, J., Carabaño, R., De Blas, J.C. 2002. Effect of levels of starch, fiber, and lactose on digestion and growth performance of early-weaned rabbits. *Journal of Animal Science* 80: 1029-1037.
- Healy, H. P., Siciliano, P. D. and Lawrence, L. M. 1995. Effect of concentrate form on blood and gastric fluid variables in ponies. *Journal of Equine Veterinary Science* 15: 423-428.
- Hintz, H. F., Hogue, D. E., Walker, E. F., Lowe, J. E. and Schryver, H. F. 1971. Apparent digestion in various segments of the digestive tract of ponies fed diets with varying roughage-grain ratios. *Journal of Animal Science* 32: 245-248.
- Householder, D. D. 1978. Prececal, postileal and total tract digestion and growth performance in horses fed concentrate rations containing oats or sorghum grain processed by crimping or micronizing. *Animal Nutrition, Graduate College of Texas A&M University*, .
- Huhtanen, P., Kaustell, K. and Jaakkola, S. 1994. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Animal Feed Science and Technology* 48: 211-227.
- Hyslop, J. J. 2002. Voluntary feed intake, apparent digestibility and nutritive values in ponies given *ad libitum* access to complete pelleted diets containing different levels of unmolassed sugar beet pulp. *British Society of Animal Science*, (Ed. BSAS), pp. 32.
- Julliand, V., De Fombelle, A., Drogoul, C. and Jacotot, E. 2001. Feeding and microbial disorders in horses : 3-effects of three hay : grain ratios on microbial profile and activities. *Journal of Equine Veterinary Science* 21: 543-546.
- Kienzle, E. 1994. Small intestinal digestion of starch in the horse. *Revue de Médecine Vétérinaire* 145: 199-204.
- Kienzle, E., Radicke, S., Landes, D., Kleffken, D., Illenseer, M. and Meyer, H. 1994. Activity of amylase in the gastrointestinal tract of the horse. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 72: 234-241.

- Kozłowski, F. 1994. L'amidon, quel dosage pour quel échantillon. *Cahier Technique de l'INRA* 35: 5-22.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 1986. *The analysis of agricultural materials*. (Ed. HMSO), London, UK.
- Medina, B., Drogoul, C. and Julliand, V. 2002. Pratiques alimentaires et transit digestif. *28ème Journée de la recherche équine*, (Ed. Les Haras Nationaux), pp. 91-102., Paris.
- Metayer, N., Lhôte, M., Barh, A., Cohen, N., Kim, I., Roussel, A.J., Julliand, V. 2004. Meal size and starch content affect gastric emptying in horses. *Equine Veterinary Journal* (in press).
- Miraglia, N., Bergero, D., Bassano, B., Tarantola, M. and Ladetto, G. 1999. Studies of apparent digestibility in horses and the use of internal markers. *Livestock Production Science* 60: 21-25.
- Moore-Colyer, M. J. S., Hyslop, J. J., Longland, A. C. and Cuddeford, D. 1999. *In vivo* apparent digestibility of proximate constituents and non-starch polysaccharides in ponies offered botanically diverse fibre based diets. *British Society of Animal Science*, (Ed. BSAS), pp. 139., Scarborough, UK.
- Moore-Colyer, M. J. S., Hyslop, J. J., Longland, A. C. and Cuddeford, D. 2002. The mobile bag technique as a method for determining the degradation of four botanically diverse fibrous feedstuffs in the small intestine and total tract of ponies. *British Journal of Nutrition* 88: 729-740.
- Morrow, H. J., Moore-Colyer, M. J. S. and Longland, A. C. 1999. The apparent digestibilities and rates of passage of two chop lengths of big bale silage and hay in ponies. *British Society of Animal Science*, (Ed. BSAS), pp. 142., Scarborough, UK.
- Murray, M. J. and Schusser, G. F. 1993. Measurement of 24-h gastric pH using an indwelling pH electrode in horses unfed, fed and treated with ranitidine. *Equine Veterinary Journal* 25: 417-421.
- Potter, G. D., Arnold, F. F., Householder, D. D., Hansen, D. H. and Brown, K. M. 1992. Digestion of starch in the small or large intestine of the equine. *1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes*, pp. 107-111., Hannover.
- Radicke, S., Kienzle, E. and Meyer, H. 1991. Preilal apparent digestibility of oats and corn starch and consequences for cecal metabolism. *12th Equine Nutrition and Physiology Symposium*, (Ed. ENPS), pp. 43-48., Calgary, Canada.
- Roberts, M. C. 1974. Amylase activity in the small intestine of the horse. *Research in Veterinary Science* 17: 400-401.
- Schurg, W. A., Frei, D. L., Cheeke, P. R. and Holtan, D. W. 1977. Utilization of whole corn plants pellets by horses and rabbits. *Journal of Animal Science* 45: 1317-1321.
- Scott, T. A. and Hall, J. W. 1998. Using acid insoluble ash marker ratios (diet: digesta) to predict digestibility of wheat and barley metabolizable energy and nitrogen retention in broiler chicks. *Poultry Science* 77: 674-679.
- van Soest, Robertson and Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74 (10): 3583-3597.
- Wolter and Chaabouni 1979. Etude de la digestion de l'amidon chez le cheval par analyse du contenu digestif après abattage. *Revue de Médecine Vétérinaire* 130: 1345-1357.
- Wolter, R., Durix, A., Gouy, D., Letourneau, J. C., Carcelen, M. and Gouy, J. 1980. Paramètres biochimiques et digestibilités dans le duodénum chez le poney recevant un même aliment complet granulé ou semi expansé. *Annales de Zootechnie* 29: 305-315.
- Wolter, R., Valette, J. P., Durix, A., Letourneau, J. C. and Carcelen, M. 1982. Digestibilité comparée de quatre céréales (avoine, orge, maïs, blé) selon le mode de présentation, chez le poney. *Annales de Zootechnie* 31: 445-458.
- Yoder, M. J., Miller, E., Rook, J., Shelle, J. E. and Ullrey, D. E. 1997. Fiber level and form: effects on digestibility, digesta flow and incidence of gastrointestinal disorders. *15th Equine Nutrition and Physiology Symposium*, (Ed. ENPS), pp 122-127., Fort Worth, Texas, USA.

COMMUNICATION ORALE N°1 :

**EFFECT OF THE DIET ON PRECECAL DIGESTION OF DIFFERENT
STARCHES IN THE HORSE MEASURED WITH THE MOBILE BAG
TECHNIQUE**

Proceedings of the 18th Equine Nutrition and Physiology Symposium

Effect of the diet on prececal digestion of different starches in the horse measured with the mobile bag technique

de Fombelle A.¹, Goachet A.G.², Varloud M.¹, Boisot P.¹, Julliand V.²

¹ EVIALIS, Saint Nolff, France – ² ENESAD, Dijon, France

Previous works showed that the extent of starch prececal digestion is related to the botanical origin of starch at a similar level of intake (de Fombelle *et al.*, 2001). The purpose of this study was to identify the respective contribution of the stomach and the small intestine to starch digestion following diet composition and the botanical origin of starch. The mobile bag technique was adapted to measure the starch digestibility of oats, corn and barley. This trial was a part of a larger study designed to characterize the digestion of 2 different pelleted meals along the total digestive tract.

Ten mature geldings (weighing 364 kg BW in average), were maintained in individual free stall, on artificial bedding (DouliTM), with free access to an automatic waterer. Horses were allotted into two groups (G1: n = 3 horses and G2: n = 4 horses) ; each group of horses was assigned a specific diet : G1 horses were fed diet 1 (D1) which was composed of a pelleted feed rich in fiber (pellet 1 (P1): cereals, 38,9%; forage,45,6%; NDF/Starch = 1,82) and straw. G2 horses were fed diet 2 (D2) which was composed of a pelleted feed rich in cereals and meadow hay (pellet 2 (P2): cereals, 78,0%; forage, 6,0%; NDF/Starch = 0,55). For morning meal, G1 received 393g/100 kg BW of pellets bringing 74g of starch (DM basis)/100 kg BW whereas G2 received 750g/100 kg BW of pellets bringing 281 g of starch (DM basis)/100 kg BW. Horses were adapted to their diet for 3 weeks.

After this period, each horse was intubated in the stomach with a batch of 21 nylon bags, composed of 7 bags for each starch source, in the middle of the pelleted morning meal. Two hours after the morning meal, horses were tranquilized and laid down on dorsal decubitus. To preserve the integrity of all digestive function as long as possible, collections occurred under general anesthesia. After localization, the stomach and the small intestine were isolated and their contents were collected in totality. A magnet was plunged in the digestive contents to withdraw the bags. After collection, the bags were washed then dried at 60°C to constant weight. Dry matter disappearance (DMD) was calculated for each bag. For each horse, bags collected in the duodenum, jejunum and ileum (=small intestine) were grouped for starch analysis. For each cereal, horse and anatomic part (stomach and small intestine), starch

disappearance (SD) was calculated. Analysis of variance with the GLM procedure of SAS v8.2 was performed to evaluate the response of the variables (DMD and SD) to starch origin (S), anatomic part of the digestive tract (A), pellet (P), and interactions among S, A and P. The model included horse, nested in diet, as a randomized effect.

The collection of the stomach content occurred $4\text{h}00 \pm 24$ min. and $4\text{h}36 \pm 35$ min. after intubation for horses fed P1 and P2, respectively; in average, 45% of the bags intubated were collected in the stomach contents of horses fed P1 whereas 77% of the bags remained in the stomach of horses fed P2. The collection of the bags in small intestinal content occurred $3\text{h}37 \pm 46$ min. and $3\text{h}48 \pm 12$ min. after intubation for horses fed P1 and P2, respectively.

The main effects S and A had both a significant effect on DMD and SD ($P < 0.001$) whereas the effect of P was not significant on both variables ($P > 0.05$). All interactions were also significant ($P < 0.001$) and the results are shown in Table 31.

DMD were different among cereals only in the stomach ($P < 0.05$). In contrast, SD were different among cereals in the stomach and the small intestine ($P < 0.05$). The respective order of the results was always the same: oats was better degraded than barley which was better degraded than corn. In average, DMD and SD of barley and corn were increased between the stomach and the small intestine whereas no significant effect of the site of collection could be observed on oats DMD and SD ($P > 0.05$). In the stomach, DMD and SD of oats and barley were higher in horses fed the pellet rich in cereals (P2) than in horses fed the pellet rich in forage (P1) ($P < 0.05$) whereas SD of corn was higher in horses fed P1 ($P < 0.05$). In the small intestine, a diet effect could be detected only for corn and barley: DMD and SD were lower in horses fed P2 than in horses fed P1 ($P < 0.05$).

Our results confirm that the prececal starch digestion of cereals in horses is strongly related to the botanical origin of starch (de Fombelle *et al.*, 2001; Kienzle, 1994). Starch digestion starts in the stomach and can be very effective as the most part of starch oats was degraded before reaching the small intestine. Although statistically significant, the effect of pellet composition was moderate in the stomach. Small intestinal starch disappearance was about 10 points lower with the rich starch pellet, this is in accordance to previous works showing a reduction of prececal starch digestion as the starch intake in a single meal rises (Potter *et al.*, 1992). At least 20% of barley starch and 30% of corn starch escaped the pre-cecal digestion which could

cause microbial disturbances (Garner *et al.*,1978) in the hindgut that might be involved in intestinal disorders.

Literature cited

De Fombelle A., Frumholtz P., Poillion D., Drogoul C., Phillipeau C., Jacotot E., and Julliand V. (2001) 17th Equine Nutr. Physiol. Symp., Lexington, Kentucky.pp 153-155.

Garner HE, Moore JN, Johnson JH, Clark L, Amend JF, Tritschler LG, Coffman JR. (1978) Equine Vet. J. 10:249-252.

Kienzle E. (1994). Revue Méd. Vét. 145(2): 199-204.

Potter G.D., Arnold F.F., Householder D.D., Hansen D.H. and Brown K.M. (1992). Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes, Hannover.pp 107-111.

Key words: starch origin; starch digestion; pelleted feed composition; mobile bag technique

Author to which mail should be sent : Véronique JULLIAND : v.julliand@enesad.fr

ETUDE TECHNIQUE

Mise en place de la technique des sachets mobiles sur chevaux porteurs d'une canule cæcale

Introduction

Couramment utilisée pour mesurer la dégradabilité post-ruminale des aliments chez le bovin (Jarosz *et al.*, 1991; Frydrych, 1992; Vanhatalo et Ketoja, 1995; Pereira *et al.*, 1998) ainsi que la digestibilité totale (Sauer *et al.*, 1983; Cherian *et al.*, 1989) et iléale (Han et Froseth, 1995; Yin *et al.*, 2002) des aliments chez le porc, la technique des sachets mobiles a été utilisée chez le cheval par trois équipes. En France, Macheboeuf et ses collaborateurs (1996) l'ont utilisée pour mesurer la digestibilité antécæcale de l'azote contenu dans les aliments. En Ecosse, l'équipe de Cuddeford, a utilisé des sachets mobiles pour mesurer la cinétique de dégradation antécæcale d'amidons purifiés (McLean *et al.*, 1999), ainsi que pour mesurer la dégradation des parois végétales dans ce même segment du tube digestif (Moore-Colyer *et al.*, 1997). Au Brésil, Araujo *et al.* (1996a et b) ont utilisé cette même technique pour mesurer la digestibilité totale des aliments ; leur objectif était de valider les sachets mobiles en tant que méthode alternative aux mesures de digestibilité totale par collecte totale des fèces (Araujo *et al.*, 2000a et b; Araujo *et al.*, 2001).

Au moment où nous avons procédé à la mise en place de la technique des sachets mobiles, en 2000, l'article concernant sa mise en œuvre n'était pas encore publié (Moore-Colyer *et al.*, 2002). Afin de préciser la méthodologie de la technique, nous avons mis en place deux essais complémentaires. Le premier était destiné à évaluer la validité de la technique dans l'objectif d'étudier la disparition antécæcale de l'amidon en fonction de son origine botanique. Par ailleurs, la disparition apparente de substrat (et d'amidon) dans les sachets peut être attribuée en partie à une fraction du substrat qui se serait échappée soit parce que ses particules sont inférieures à la porosité du nylon, soit parce qu'elle s'est solubilisée. Ne pouvant pas garantir que cette fraction est soumise aux mêmes phénomènes digestifs que le substrat restant dans le sachet, le deuxième essai a été mis en place pour mesurer la proportion perdue selon le substrat utilisé. Ces mesures ont été réalisées afin de pouvoir corriger les mesures de digestibilité antécæcale *in sacco* si nécessaire.

I. Matériel et méthodes

I.1. Animaux et alimentation

La mise en place de ce protocole a été effectuée dans l'animalerie expérimentale agréée (n° A21002) de l'UPSP « Nutrition des herbivore », et sous le contrôle de la Direction des Services Vétérinaires de Côte d'or.

I.1.a Animaux

Quatre chevaux hongres adultes porteurs d'une canule cœcale, d'un poids vif moyen de 408 kg, âgés de 6 ans en moyenne, et dont la hauteur au garrot variait entre 130 et 160 cm, ont été utilisés : Appache (350 kg), Dupe (450 kg), Maïko (380 kg) et Panpan (450 kg).

Les opérations chirurgicales de pose de canule avaient eu lieu au moins un an avant la mise en place de cette expérimentation. La technique de fistulisation utilisée était identique à celle décrite par Drogoul *et al.* (2000) ; les canules étaient en PVC et mesuraient de 15 à 18 cm de long pour 2,25 cm de diamètre interne.

Les animaux ont été conduits en box individuel sur une litière artificielle⁹. Chaque cheval disposait en permanence d'un abreuvoir automatique à niveau constant pour un approvisionnement en eau à volonté. Afin de supprimer un large spectre de parasites gastro-intestinaux, 15 jours avant le début de l'expérimentation, les chevaux ont été vermifugés avant le début de l'expérimentation avec une double dose de pyrantel¹⁰, suivie, une semaine plus tard, par une dose d'ivermectine¹¹ (Herd, 1992; Hutchens *et al.*, 1999).

Les chevaux n'étaient soumis à aucune activité physique, ils étaient lâchés dans un paddock en terre pendant 3 à 4 heures une à deux fois par semaine (Figure 17).

I.1.b Alimentation

Pendant toute la durée de cet essai, les animaux ont reçu une ration composée d'un aliment granulé (Tableau 32) et de foin de prairie naturelle (Tableau 33).

⁹ Doulit™, France

¹⁰ Strongid™, laboratoire Pfizer, Orsay, France

L'aliment a été formulé pour répondre aux critères suivants :

1. Limiter l'éventuelle influence de l'origine botanique de l'amidon sur l'activité amylasique dans l'intestin grêle (Radicke *et al.*, 1992). Chaque céréale a été incorporée dans l'aliment de façon à ce qu'elle fournisse un apport d'amidon identique (Tableau 32).
2. Etre homogène et condensé (sous forme granulée), afin d'éviter que les animaux trient leur ration et mangent préférentiellement certains constituants ou en refusent d'autres.
3. Avoir une forte teneur en amidon (41,6 %) afin d'apporter une quantité élevée d'amidon en un repas de petite taille. Le temps de prise du repas était donc limité, ce qui a permis d'éviter une éventuelle « dilution » de l'apport d'amidon dans le temps.

La ration d'aliment granulé était divisée en deux repas quotidiens, distribués à 8:30 h et 18:00 h. L'étude bibliographique a montré qu'un apport de 200 g, ou plus, d'amidon pour 100 kg de poids vif, constitue un niveau critique à partir duquel la digestion de l'amidon dans l'intestin grêle diminue. Le repas du matin a donc été calculé de manière à apporter 286 g d'amidon (soit 750 g d'aliment) pour 100 kg de poids vif. Le repas du soir, quant à lui, apportait 164 g d'amidon (soit 430 g d'aliment) pour 100 kg de poids vif. Le niveau d'ingestion de ce dernier avait été volontairement réduit au cours de la période d'accoutumance car une baisse d'appétit avait été constatée. En outre, la ration quotidienne incluait un repas de 1 kg de foin pour 100 kg de poids vif. Ce niveau d'ingestion a été sélectionné car il est proche des recommandations pratiques du terrain et il permettait de compenser la déficience en fibres de l'aliment granulé ainsi que l'absence de litière. Le fourrage était distribué à midi afin de prévenir une éventuelle interaction avec la digestion de l'amidon (Meyer *et al.*, 1993).

D'après les tables INRA, l'apport énergétique quotidien de cette ration était de 1,58 UFC / 100 kg de PV. Ce qui représente, pour un cheval de 450 kg, un apport 7,13 UFC par jour, c'est à dire la quantité d'énergie recommandée pour un cheval soumis à un exercice léger à intense (Martin-Rosset, 1990) (Annexe 2).

¹¹ Eqvalan™, laboratoire Merial, Lyon, France

Les chevaux ont été accoutumés au régime pendant 14 jours avant de procéder aux mesures de digestibilité antécæcale.

I.2. Préparation des sachets

I.2.a Toile de nylon utilisée

Les résultats de la première étude expérimentale ont montré que la partie antécæcale du tube digestif des chevaux est colonisée par un grand nombre de bactéries (de Fombelle *et al.*, 2003b). En particulier, la prédominance des lactobacilles et des streptocoques dans cet écosystème laisse présager une contribution non négligeable de ces micro-organismes à la disparition de l'amidon. La synthèse des mesures effectuées *in situ* dans le rumen a montré qu'une porosité comprise entre 40 et 60µm permet de laisser passer librement les enzymes digestives et les micro-organismes. Elle permet également un flux de contenu ruminal reproduisant, dans les sachets, les conditions *in vivo* (Vanzant *et al.*, 1998). Les sachets ont donc été préparés à partir d'une toile de nylon monofilament dont la taille des pores est de 46µm¹². Cette porosité est proche de celle choisie par Macheboeuf *et al.* (1996) (48µm) et légèrement supérieure à celle choisie par les écossais (41µm) (Hyslop *et al.*, 1998; Moore-Colyer *et al.*, 1997; McLean *et al.*, 1999). Araujo *et al.* (1996b) ont, quant à eux, utilisé une porosité de 60µm pour leurs mesures.

I.2.b Dimensions des sachets et fabrication

Les dimensions retenues pour les sachets mobiles étaient de 6 × 1 cm ; ce sont celles les plus fréquemment utilisées chez le cheval (Hyslop *et al.*, 1998; Macheboeuf *et al.*, 1995; Macheboeuf *et al.*, 1996; Longland *et al.*, 1997; Moore-Colyer *et al.*, 1997; McLean *et al.*, 1999). Les sachets étaient fermés dans la longueur par une simple couture, avec du fil en polyester imputrescible, de manière à former un tube d'un centimètre de diamètre. Afin de faciliter leur circulation dans la sonde naso-œsophagienne et dans le tube digestif, les sachets étaient retournés de manière à ce que la couture soit à l'intérieur, ce qui leur conférait une forme cylindrique. Les extrémités ont été soudées après avoir été pliées pour qu'elles ne forment pas d'arête et ne soient donc pas irritantes pour la paroi du tractus digestif (Figure 18). Chaque sachet renfermait une rondelle métallique zinguée (∅ externe : 10 mm ;

¹² Tissu Nylon Blutex 46 µm. Société SAATI France - 80 360 Sailly Saillel - France

Ø interne : 5 mm ; poids ≈ 0,45g) afin de permettre la récupération des sachets à l'aide d'un aimant. Une soudure isolait la rondelle de l'aliment contenu dans le sachet afin de prévenir l'éventuelle souillure de celui-ci, si la rondelle venait à rouiller.

1.2.c Broyage et masse des échantillons d'aliments testés

Tous les aliments introduits dans les sachets ont été broyés à la grille de 3 mm. Cette finesse de broyage, similaire à celle choisie par Macheboeuf *et al.* (1995 et 1996), a été sélectionnée car c'est la même grille qui était utilisée pour la fabrication des aliments granulés testés. En outre, le broyage compense l'absence de mastication des aliments introduits dans les sachets et aboutit à la formation de particules de petite taille permettant l'attaque enzymatique et l'attachement des bactéries.

La taille de l'échantillon doit permettre d'obtenir une quantité résiduelle suffisante pour pouvoir procéder aux analyses d'amidon. Cependant, l'encombrement du sachet ne doit pas entraver l'accès du résidu aux acteurs de la digestion. La masse de l'échantillon d'aliment introduit dans les sachets a été de 300 mg. Si l'on considère que la partie cylindrique du sachet renfermant l'aliment mesurait 4,25 cm environ, cela représentait un rapport poids / surface de $[300 \div (4,25 \times 2 \times \pi \times 0,5) =] 22,5 \text{ mg} / \text{cm}^2$. Dans un essai non publié, Macheboeuf *et al.* (1997a et b) n'ont pas constaté d'effet sur la dégradabilité de l'orge pour une variation comprise entre 10 et 40 mg / cm². Cependant ses recommandations proposent un rapport poids / surface inférieur ou égal à 30 mg / cm² afin de ne pas risquer de provoquer le colmatage des pores du tissu, c'est le critère que nous avons respecté.

1.2.d Substrats testés dans les sachets

Quatre substrats ont été testés au cours de cette expérimentation : l'avoine, l'orge, le maïs et la pulpe de pomme de terre déshydratée dont la teneur respective en amidon était de 39,4 %, 51,5 %, 68,2 % et 20,1 %. Chaque lot de sachets à intuber était constitué de sept sachets de chaque aliment.

I.3. Intubation et récupération des sachets

1.3.a Mode d'intubation et nombre de sachets intubés

Après l'ingestion du premiers tiers du repas, une sonde naso-œsophagienne en PVC souple, de longueur 1,50 m, de diamètre externe 18 mm, et légèrement lubrifiée au préalable dans de l'huile de paraffine, était introduite dans l'œsophage. Les sachets étaient chassés dans

l'œsophage avec 250 mL d'eau propulsée à l'aide d'une seringue à droguer, ce qui permettait d'intuber une dizaine de sachets en une seule fois (Figure 19). De plus, circulant avec de l'eau, les sachets étaient moins irritants pour la paroi œsophagienne.

Les travaux réalisés par Moore-Colyer *et al.* (1997), McLean *et al.* (1999) et Macheboeuf *et al.* (1995 et 1996) ont montré que 20 à 30 sachets peuvent être introduits dans l'estomac, par voie naso-œsophagienne, au cours d'un même repas. Nous avons donc intubé des lots de ($7 \times 4 =$) 28 sachets, simultanément (par groupes de 8 à 10 sachets ; avec un total de 750 mL d'eau), à chaque cheval pour chaque jour de mesure (Figure 20). Le reste du repas était distribué après l'intubation et la reprise immédiate de l'ingestion était contrôlée. Elle a permis de s'assurer que la manipulation n'avait pas perturbé l'animal.

Pour tester la faisabilité de la technique, ainsi que la répétabilité des mesures, nous avons procédé à 7 jours d'intubations espacées d'au moins 24 heures.

1.3.b Procédure de récupération des sachets

Les sachets ont été récupérés à l'aide d'aimants¹³ (2 unités de dimensions $36 \times 15 \times 10$ mm), placés à proximité de la jonction iléo-cæcale, qui captaient la rondelle métallique contenue dans les sachets dès leur arrivée dans le cæcum. Cette technique, utilisée par Moore-Colyer *et al.* (1997) et par McLean *et al.* (1999), est facile à mettre en œuvre sur des animaux porteurs d'une canule cæcale de petite taille (3 cm de diamètre externe).

Afin de pouvoir introduire et retirer les aimants de façon aisée, ils étaient juxtaposés, de manière à former une barre de 72 mm de long, dans des sacs de tissu synthétique, de dimensions $40 \times 2,5$ cm et cousus avec du fil de polyester. Les aimants étaient suspendus dans le cæcum, *via* la canule, juste après l'intubation. L'extrémité extérieure du sac était attachée, par le bouchon de la canule, de manière à ce que le haut de l'aimant soit situé à 2-3 cm de l'extrémité interne de la canule (Figure 21). Les aimants étaient sortis, pour la première fois, deux heures après l'intubation, puis toutes les heures jusqu'à la récupération du premier sachet, puis toutes les 30 minutes jusqu'à la distribution du repas suivant.

Chaque relevé se déroulait de la façon suivante : après ouverture de la canule, l'aimant était complètement extériorisé puis il était réintroduit dans le cæcum et ressorti. Si aucun sachet

¹³ Aimant NDFEB RECT. Ref. BM 89.6310/01. BLS Magnét - 54920 Villers-la-montagne - France

n'était retrouvé, l'aimant était replacé dans le cæcum et le bouchon refermé. Quand un sachet, ou plus, était retrouvé sur l'aimant, il(s) étai(en)t retiré(s) et l'aimant était introduit dans le cæcum puis ressorti jusqu'à ce qu'aucun autre sachet soit retrouvé. Cette procédure permettait de récupérer les sachets qui se seraient éventuellement décrochés de l'aimant au moment du passage de l'aimant dans la canule.

I.3.c Traitement des sachets

Une fois récupérés dans le cæcum (Figure 22 et Figure 23), les sachets ont été rincés rapidement à l'eau du robinet puis congelés à -20°C. Après décongélation à température ambiante, les sachets ont été lavés dans de l'eau froide déminéralisée, à l'aide d'une machine à laver automatique¹⁴ (3 à 4 cycles de 5 minutes), jusqu'à ce que l'eau de rinçage soit claire. Même s'il peut occasionner des pertes particulières additionnelles, le lavage des sachets est systématiquement effectué dans la littérature (Hyslop *et al.*, 1998; Macheboeuf *et al.*, 1995; Araujo *et al.*, 1996b; Macheboeuf *et al.*, 1996; Longland *et al.*, 1997; Moore-Colyer *et al.*, 1997; McLean *et al.*, 1999). La procédure choisie était identique à celle couramment utilisée pour les mesures *in sacco* chez les ruminants (Michalet-Doreau *et al.*, 1987).

Les sachets ont ensuite été triés puis séchés à l'étuve à 60°C jusqu'à poids constant.

I.4. Paramètres mesurés sur les sachets intubés aux chevaux

I.4.a Taux de récupération des sachets mobiles

1) Taux de récupération brut

Le taux de récupération brut (TRB) des sachets a été calculé, pour chaque substrat et pour chaque jour de collecte, à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{TRB} = \frac{\text{SR}}{\text{SI}} \times 100$$

Avec : SR : nombre de sachets récupérés au jour j

SI : nombre de sachets intubés le jour j

¹⁴ Calor™

2) Nombre de sachets exploitables pour les mesures de disparition de substrat

Cette mesure était destinée à corriger le TRB. Le taux de récupération brut corrigé (TRB_C) a été calculé, pour l'ensemble de l'expérimentation, à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{TRB}_C = \frac{(\text{SRE} - \text{SE})}{\text{SI}} \times 100$$

Avec : SRE : nombre total de sachets récupérés sur l'ensemble de l'expérimentation

SE : nombre de sachets percés ou endommagés après lavage

SI : nombre total de sachets intubés

1.4.b Cinétique de récupération des sachets

Pour chaque cheval, les courbes représentant la moyenne des TRB cumulés en fonction du temps [TRB = f(t)] ont été tracées.

L'étude de ces courbes a permis de décrire les caractéristiques du transit des sachets dans la partie antécæcale du tractus digestif.

1.4.c Temps de rétention moyen des sachets dans la partie antécæcale du tractus digestif

Le temps de rétention moyen (TRM) des sachets dans la partie antécæcale du tractus digestif a été calculé, pour chaque jour d'intubation et chaque cheval, à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{TRM} = \frac{\sum S_i \times \Delta t_i}{\sum S_i}$$

Avec S_i : Nombre de sachets récupérés au temps t_i

Δt_i : Temps moyen écoulé depuis le t₀ d'introduction des sachets

$$\Delta t_i = \left((t_i - t_0) + \frac{(t_i - t_0)}{2} \right)$$

I.4.d Mesures de disparition de matière sèche

La pesée à la sortie de l'étuve a permis de calculer la quantité de matière sèche ayant disparu (DMS) dans chaque sachet récupéré, et non endommagé, à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{DMS} = \frac{\text{PSE} - (\text{PSV} \times \text{MS}_N)}{[\text{PSP} - (\text{PSV} \times \text{MS}_N)] \times \text{MS}_S} \times 100$$

Avec : PSE : poids du sachet après lavage et séchage à 60°C

PSV : poids du sachet vide numéroté et contenant la rondelle métallique

MS_N : taux de matière sèche du nylon utilisé pour fabriquer le sachet

PSP : poids du sachet fermé après introduction du substrat brut

MS_S : taux de matière sèche du substrat introduit dans le sachet

I.4.e Mesures de disparition d'amidon

Afin de pouvoir procéder à l'analyse de l'amidon résiduel dans les sachets récupérés, il est nécessaire de regrouper plusieurs sachets pour disposer d'une quantité suffisante à l'analyse. Nous avons regroupé, les sachets récupérés pour un même cheval, pour un même substrat, et pour un même jour d'intubation.

Après avoir été regroupés, les substrats résiduels présents dans les sachets ont été broyés ensemble à l'aide d'un broyeur à billes¹⁵ (Figure 24) avant de doser l'amidon non dégradé par méthode enzymatique (Méthode d'Edwards légèrement modifiée par Kozlowski, 1994) (Annexe 3).

Les disparitions d'amidon (Damidon) ont été calculées à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Damidon} = \frac{[(\text{PSP} - \text{PSV}_S) \times \text{MS}_S] \times \text{AI} - [(\text{PSE} - \text{PSV}_S) \times \text{AF}]}{[(\text{PSP} - \text{PSV}_S) \times \text{MS}_S] \times \text{AI}} \times 100$$

Avec : PSP : poids du sachet plein après la soudure

PSV_S : poids du sachet vide numéroté, contenant la rondelle métallique et sec

PSE : poids du sachet après lavage et séchage à 60°C

MS_S : taux de matière sèche du substrat introduit dans le sachet

AI : taux d'amidon initial du substrat

AF : taux d'amidon final du substrat poilé par jour d'intubation et DMS proche

I.5. Mesures des pertes particulières

La perte de matière au travers des pores du nylon peut être liée aux conditions physico-chimiques du milieu dans lequel les sachets sont immergés lors de l'intubation : il est possible que, par le biais de réactions d'ordre biochimique, des particules pouvant « physiquement » passer à travers les pores du nylon soient retenues à l'intérieur des sachets et inversement. Dans cet essai, nous avons tenté de mesurer les pertes particulières en comparant deux milieux d'incubation : de l'eau distillée et un milieu mimant les caractéristiques du contenu gastrique.

I.5.a Mode opératoire

Le pourcentage de pertes en matière sèche et en amidon a été déterminé pour 5 aliments broyés au préalable à la grille de 3 mm (avoine, blé, féverole, maïs et orge) ainsi que pour de la pomme de terre crue lyophilisée et broyée par pilonnage manuel.

Cinq sachets, rigoureusement identiques à ceux utilisés lors des intubations, ont été placés dans 5 flacons sérum contenant environ 50 ml de milieu d'incubation (les flacons et le milieu d'incubation avaient été préalablement stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 20 min).

Les sachets ont été incubés dans deux milieux d'incubation distincts :

- Un milieu constitué d'eau distillée (30 sachets au total),
- Un milieu à pH 5,5 constitué de 80% de salive artificielle (Tableau 34) et de 20% d'acide chlorhydrique 0,625 N destiné à simuler le suc gastrique (30 sachets au total).

Les flacons ont ensuite été incubés dans un bain marie agitant à 38°C pendant 1 heure.

A l'issue de l'incubation, les sachets ont été récupérés, rincés rapidement à l'eau distillée puis placés à l'étuve à 60°C, séchés jusqu'à poids constant, et pesés.

Pour chaque substrat testé, le contenu des cinq sachets correspondants a été regroupé puis broyé au broyeur à bille afin de constituer un échantillon représentatif pour le dosage de l'amidon résiduel (cf. page 109).

¹⁵ vibro-broyeur oscillant MM200. Retsch

I.5.b Mesures effectuées

Les pertes sous forme de matière sèche (DMS_p) ont été calculées pour chaque sachet (cf. **Erreur! Source du renvoi introuvable.**). A partir des dosages de l'amidon résiduel, la perte en amidon (Damidon_p) a été calculée pour chaque aliment testé (cf. I.4.e).

I.6. analyse statistique des résultats

I.6.a Mise en place de la technique des sachets mobiles

Etant donné que le nombre de données disponibles pour l'analyse statistique des résultats était différent pour chaque paramètre mesuré, les TRM, les TRB, les DMS et les Damidon ont été étudiés séparément. Le Tableau 35 présente, pour chaque paramètre, les modèles statistiques utilisés pour l'analyse de variance (procédure GLM de SAS v8.2). Pour l'étude de la DMS, nous avons introduit un facteur de variation « tranche horaire » afin de pouvoir identifier l'effet éventuel du temps de séjour antécæcal sur les résultats. Trois modalités ont été identifiées pour ce facteur de variation : T1, T2 et T3. T1 regroupait les sachets récupérés jusqu'à 5 heures après l'intubation, T2 regroupait les sachets récupérés entre 5:30 h et 7:00 h et T3, les sachets récupérés au delà de 7:30 h.

A chaque fois, l'individu était spécifié en tant que variable aléatoire. Lorsque le dispositif expérimental n'était pas équilibré, les sommes des carrés de type III ont été choisies. Afin de pouvoir évaluer la qualité de l'ajustement des données par le modèle, la normalité des résidus a été étudiée ainsi que le nuage de points formé par les résidus en fonction des valeurs prédites. Les moyennes ajustées (Least square means) ont été calculées pour chaque variable et comparées deux à deux (option Pdiff de SAS) ; le niveau de significativité pour tous les tests a été fixé à 5 %.

I.6.b Mesure des pertes particulières

Les DMS et les Damidon des sachets liées à la mesure des pertes particulières ont été soumises à une analyse de variance à l'aide de la procédure GLM de SAS v8.2. La nature du substrat, le milieu d'incubation ainsi que leur interaction ont été inclus comme facteurs de variation dans le modèle. Les Least square means ont été calculées pour chaque variable et comparées deux à deux ; le niveau de significativité pour tous les tests a été fixé à 5 %.

Remarque : Sauf indication spécifique, les valeurs des résultats qui sont indiqués dans le texte sont les least square means. Quand elles sont présentées, les moyennes arithmétiques sont agrémentées de leur écart-type.

II. Résultats

II.1. Compte rendu du déroulement de la mise en place de la technique

Lors de la mise en place de la technique, les animaux ont consommé normalement leur ration, aucun refus n'a été constaté. Seul le temps consacré à la prise du repas de granulés du matin a été très variable d'un jour à l'autre et entre les animaux : de 1 à 3 heures pour Dupe, Panpan et Maïko et de 4 à 6 heures pour Appache.

L'intubation n'a pas perturbé l'ingestion du repas, les animaux reprenant la consommation du granulé dans les 15 à 20 minutes suivant le retrait de la sonde. La réduction de la longueur de la sonde (1,5 m au lieu de 3,0 m) a permis de diviser par deux le volume d'eau nécessaire à l'expulsion des sachets (de 1,5 L à 750 mL ; un maximum de 250 mL d'eau était suffisant pour administrer un groupe de 10 sachets) et le temps mis pour intuber (de 20 min à 10 min pour un lot de 30 sachets). En outre cela a permis de supprimer les problèmes de coliques apparus chez un des chevaux, quand la sonde était enfoncée trop loin dans l'estomac.

Seuls les résultats de Appache et Dupe ont pu être exploités dans ce premier essai, les sachets de Panpan et Maïko n'ayant pu être collectés. En effet, les premiers sacs enveloppant les aimants ont été cousus, par erreur, avec du fil de coton, ce qui a entraîné leur ouverture et la perte des aimants dans le cæcum. Toute introduction d'objet métallique, ou d'aimant, était alors devenue impossible sous peine d'endommager gravement les intestins de ces deux animaux.

II.2. Taux de récupération des sachets mobiles

En moyenne sur toute la durée de l'expérimentation, le taux de récupération brut des sachets (TRB) a été de $75,3 \pm 25,8$ %. Les mesures ont été assez bien ajustées par le modèle ($P < 0,001$; $R^2 : 0,67$), toutefois les résidus ne suivaient pas une loi normale. Dans cet essai, le TRB des sachets a été significativement différent entre les deux chevaux testés : 64,8 % pour Appache contre 85,7 % pour Dupe ($P < 0,001$), par contre le TRB n'a pas été influencé par le substrat introduit dans les sachets ($P > 0,05$). En outre, le TRB était significativement

différent d'un jour de mesure à l'autre ($P < 0,01$) et l'interaction entre l'individu et le jour était également significative ($P < 0,05$), Appache ayant des TRB proches de ceux de Dupe certains jours. Appache, en effet, a présenté la plus grande variabilité de TRB avec une amplitude entre le TRB minimum et le TRB maximum de 57,2 % (Tableau 36).

Après le lavage, 4,5 % des sachets récupérés étaient ouverts ou endommagés. Par conséquent, 68,2 % des sachets intubés ont été disponibles pour l'étude de la disparition de matière sèche et de la disparition d'amidon.

II.3. Cinétiques de récupération des sachets mobiles

Les cinétiques de récupération des sachets mobiles ont été peu différentes entre les deux chevaux utilisés. Les deux individus se sont distingués principalement par le temps de première récupération des sachets et par la durée de la période nécessaire à la collecte de 90% des sachets récupérés (Figure 25).

La cinétique de récupération des sachets se découpe en trois phases principales : la première phase est une période de « latence » au cours de laquelle 5 % des sachets sont collectés. En moyenne, cette phase a duré 3 heures 30 pour Appache et 4 heures 30 pour Dupe. La seconde phase est une période où la vitesse de récupération des sachets est maximale : 10 à 12 % du total des sachets récupérés sont collectés à chaque relevé de l'aimant (toutes les 30 minutes). A la fin de cette phase, plus de 90% du total des sachets récupérés ont été collectés. En moyenne, cette phase a duré 4 heures 30 pour Appache et 3 heures 30 pour Dupe. Enfin, la troisième, et dernière phase, est caractérisée par un ralentissement et le plafonnement de la récupération des sachets. Cette phase a été atteinte 8 heures après l'intubation pour les deux chevaux, et quasiment aucun sachet supplémentaire n'a été récupéré entre 8 heures et 9 heures après l'intubation.

II.4. Temps de rétention moyens

En moyenne, le TRM des sachets dans la partie antécæcale du tractus digestif était de 6:21 h \pm 53 min. Le modèle statistique utilisé s'est révélé non significatif ($P = 0,1219$; $R^2 : 0,76$) : l'effet de l'individu et du jour de mesure n'ont pas eu d'effet significatif sur les TRM. On a constaté cependant, une forte hétérogénéité des résultats en fonction du jour de mesure et de l'animal considéré : en moyenne 6:03 h \pm 1:08 h pour Appache et 6:38 h \pm 25 min pour Dupe (Figure 26).

II.5. Disparitions de matière sèche

Les valeurs de DMS ont été bien ajustées par le modèle statistique utilisé (Tableau 37). Elles ont été significativement différentes en fonction du jour de mesure et du substrat introduit dans les sachets ($P < 0,001$). Par contre, l'individu, la tranche horaire de collecte et l'interaction entre le substrat et la tranche horaire de collecte n'ont pas eu d'effet significatif sur les mesures ($P > 0,05$). Quel que soit le jour d'intubation, la DMS de la pulpe de pomme de terre a toujours été inférieure à celle du maïs (43,4 % vs. 60,1 % ; $P < 0,001$), elle-même inférieure à celle de l'orge (60,1 % vs. 64,7 % ; $P < 0,001$), tandis que la DMS de l'orge et de l'avoine n'étaient pas significativement différentes (64,7 % vs. 65,0 % ; $P = 0,6539$). En outre, il existait une interaction entre le jour et le substrat ($P < 0,001$) : les DMS des sachets contenant de l'avoine étaient inchangées quel que soit le jour, l'effet sur le classement des substrats étant, quant à lui, presque inexistant (Tableau 37). L'ordre des substrats était identique pour chaque jour, l'amplitude de la différence entre la DMS de l'orge et du maïs était moins grande pour J4, J6 et J7, rendant l'écart entre ces deux substrats non significatif pour ces jours là.

II.6. Disparitions d'amidon

Quel que soit le substrat considéré, nous n'avons pas détecté d'effet du temps de séjour antécæcal sur les mesures de DMS (Annexe 4). Par conséquent, et étant donné la forte variabilité inter-jour, nous avons regroupé l'ensemble des sachets d'un même substrat récupérés chez un même animal et pour un même jour de mesure. Afin de préciser nos mesures de disparition d'amidon, nous avons créé des sous groupes de DMS proches, au sein d'un même jour, quand la variabilité des résultats de DMS était trop grande. Ceci nous a conduit à un total de 73 observations pour la Damidon au lieu de 56.

La disparition d'amidon dans la partie antécæcale du tractus digestif, mesurée dans les sachets, a été en moyenne de 81,1 ($\pm 12,9$) %. Les Damidon ont été bien ajustées par le modèle statistique utilisé ($P < 0,001$; R^2 : 0,88) et la normalité des résidus conforte cette observation. Les Damidon ont été significativement différentes en fonction du substrat introduit dans les sachets et du jour de mesure ($P < 0,001$) (Tableau 38) ; les autres facteurs de variation inclus dans le modèle n'ont pas eu d'effet sur les résultats (Tableau 38). Quel que soit le jour de mesure, le classement des substrats selon leur Damidon était le suivant : avoine (98,9 %), pulpe de pomme de terre (85,9 %), Orge (81,2 %) et maïs (66,7 %). La comparaison

des substrats deux à deux montre des différences significatives ($P < 0,05$) entre toutes les sources d'amidon testées.

II.7. Mesure des pertes particulières

En moyenne, la disparition de matière sèche des sachets mesurée lors de la détermination des pertes particulières (DMS_p) a été de $9,2 (\pm 5,1) \%$. Les mesures ont été bien ajustées par le modèle utilisé ($P < 0,001$; $R^2 : 0,95$) ; la normalité des résidus atteste de la fiabilité de l'analyse. Les DMS_p ont été significativement différentes en fonction du substrat et du milieu d'incubation ($P < 0,001$) et l'interaction entre ces deux paramètres était également significative ($P < 0,001$). Quel que soit le tampon, le classement des substrats selon les pertes croissantes était : avoine (4,5 %), maïs (4,7 %), blé (7,1 %), orge (7,8 %), féverole (13,1 %) et pomme de terre (17,7 %). Les DMS_p mesurées pour les sachets incubés dans la solution à pH 5,5 ont été identiques à celles mesurées dans l'eau pour l'avoine, le maïs, le blé et la féverole ($P > 0,05$), et inférieures pour l'orge ($P < 0,01$) et la pomme de terre ($P < 0,001$) (Tableau 39).

En moyenne, la disparition d'amidon des sachets mesurée lors de la détermination des pertes particulières ($Damidon_p$) a été de $4,6 (\pm 3,3) \%$. Les mesures ont bien été décrites par le modèle utilisé ($P < 0,001$; $R^2 : 0,94$) ; la normalité des résidus atteste de la fiabilité de l'analyse. Le substrat et la nature de la solution d'incubation ont eu un effet significatif sur les mesures (respectivement, $P < 0,001$ et $P < 0,01$) et l'interaction entre ces deux paramètres était significative ($P < 0,001$). Quel que soit le tampon, le classement des substrats selon les pertes d'amidon croissantes était : avoine (-4,9 %), orge (1,6 %), féverole (4,8 %), blé (5,2 %), maïs (8,4 %) et pomme de terre (7,6 %). La teneur en amidon des pertes de substrat sous forme de particules, et / ou par solubilisation, était intimement liée au substrat : une variation de 0 à 100 % a été constatée (Tableau 40). Quel que soit le substrat, les $Damidon_p$ mesurées pour les sachets incubés dans la solution à pH 5,5 étaient inférieures à celles mesurées dans l'eau mais les différences observées n'ont été significatives que pour la pomme de terre (Tableau 41).

III. Discussion

L'utilisation de la technique des sachets de nylon mobiles pour mesurer la disparition antécæcale des aliments est une méthode facile à mettre en œuvre sur des chevaux porteurs d'une canule cæcale pourvu que le dispositif de récupération des sachets (l'aimant) soit sécurisé. L'utilisation d'un aimant pour capter les sachets permet de collecter tous les sachets intubés qui arrivent dans le cæcum. En effet, si le taux de récupération que nous avons reporté dans cet essai est voisin de 75 %, nous avons vérifié que si l'aimant était laissé au delà des 9 heures fixées pour cet essai, 100 % des sachets intubés étaient récupérés.

Lors de la mise en point de la technique des sachets mobiles, nous avons constaté que le moment de l'intubation par rapport à la prise du repas avait une grande importance sur le nombre de sachets récupérés dans les 9 heures suivant l'intubation. Ainsi, lorsque les sachets étaient intubés juste avant la distribution du repas, à jeun, seuls 5 à 10 % des sachets étaient récupérés (résultats non inclus dans cet essai). Tandis que, lorsqu'ils étaient intubés au cours du repas, 75 % des sachets, en moyenne, étaient récupérés. Ce TRB est similaire à celui obtenu par Moore-Colyer *et al.* (1997) qui en avaient récupéré entre 50 et 75 % en utilisant le même procédé de collecte. Pour des essais semblables, Macheboeuf *et al.*, 1995 et 1996) n'en avaient récolté que 50 % environ en procédant par fouille manuelle du cæcum. La technique de l'aimant apparaît donc plus efficace que celle de la fouille manuelle, l'utilisation de chevaux porteurs d'une canule plus large ne paraît donc pas nécessaire pour ce type de mesure.

Quel que soit le cheval et le jour d'intubation, le délai minimum entre l'intubation et la récupération des premiers sachets a été de 3 heures. Dans la littérature, les temps de première apparition des sachets sont généralement plus courts : de 1 à 2 heures après l'intubation (Macheboeuf *et al.*, 1995; Macheboeuf *et al.*, 1996; McLean *et al.*, 1999). Cependant, les travaux présentés par McLean *et al.* (1999) ont été conduits sur des animaux de format inférieur aux nôtres (270 kg PV contre 400 kg PV). L'écart observé au niveau du temps de démarrage de la récupération des sachets est probablement lié, en partie, à la longueur de l'intestin grêle.

En outre, nous avons mesuré un temps de rétention moyen des sachets dans la partie antécæcale du tube digestif de 6:20 environ (± 50 min.) contre 4:10 (± 35 min.) pour Macheboeuf *et al.* (1995). Cependant la comparaison de nos mesures avec celles de la

bibliographie est délicate car le TRM des sachets est conditionné par la durée de la période de collecte des sachets. Dans une revue bibliographique, Medina *et al.* (2002a) ont rapporté une durée du transit « bouche - cæcum » des particules alimentaires de 6:50 (\pm 1:12) à partir de la synthèse de mesures utilisant des terres rares comme marqueur. Ces auteurs ont montré que le transit antécæcal est ralenti quand la teneur en glucides pariétaux de la ration diminue ainsi que quand les aliments sont condensés. En formulant un aliment à 41,6 % d'amidon, nous avons nécessairement réduit la teneur de la fraction cellulosique à (ADF – ADL =) 8,6 %. De plus, en distribuant cet aliment sous forme granulée, nous avons combiné deux facteurs favorisant l'allongement du TRM antécæcal des sachets.

La confrontation de nos TRM et des cinétiques de récupération des sachets avec les travaux antérieurs indique que les sachets mobiles peuvent être un bon marqueur du transit antécæcale de aliments. En regard de la ration distribuée, un TRM de 6:20 h en moyenne apparaît tout à fait vraisemblable. Cependant, afin de pouvoir valider tout à fait ces mesures, il semble nécessaire de tester d'autres régimes, sur un plus grand nombre d'animaux. En outre, étant donné la forte variabilité des TRM pour un cheval, il semble indispensable de procéder à plusieurs répétitions (= intubations) pour tester un même régime.

Le substrat introduit dans les sachets influence de façon significative la proportion de matière sèche disparue. La pulpe de pomme de terre est le substrat le moins bien dégradé (43 %), les DMS des céréales testées sont quant à elles, plus élevées (\geq 60 %) avec une dégradation du maïs significativement inférieure à celle de l'avoine et de l'orge. Ces résultats mettent en évidence que la technique des sachets mobiles est discriminante : pour chaque substrat testé, l'intubation de sept sachets, répétée sept fois, sur deux animaux, a permis de classer les substrats suivant leur DMS antécæcale. A notre connaissance chez le cheval, il n'y a pas de données de DMS comparables dans la littérature. Par conséquent, il est difficile de juger l'exactitude de nos résultats.

Nous n'avons pas noté de corrélation entre la DMS et le temps de séjour pour chaque sachet : les coefficients de corrélation étaient très faibles et la pente de la droite de régression était parfois négative (cf. Annexe 4). Ce résultat était pourtant attendu dans la mesure où le temps d'exposition du substrat aux phénomènes digestifs peut conditionner l'intensité de la DMS des sachets. Cela avait en effet été observé dans un essai présentant une cinétique de dégradation à l'aide de sachets mobiles récoltés dans le cæcum ; l'effet du temps de séjour sur

la disparition de substrat a été montré sur les sachets récupérés entre 1 et 4 heures après l'intubation (McLean *et al.*, 1999). Or, 4 heures après l'intubation, nous n'avions collecté que 8 % du total des sachets récupérés, tous substrats confondus. Le nombre de sachets disponibles pour l'analyse, dans cet intervalle de temps, était donc insuffisant pour détecter un effet du temps de séjour sur nos mesures. Et ce d'autant plus que nous avons observé une grande variabilité des résultats pour une même durée du séjour antécæcal.

Trois raisons d'ordre méthodologique peuvent être proposées pour expliquer la variabilité des données obtenues. La première est liée à la petite taille de l'échantillon introduit dans les sachets. En effet, avec une prise d'essai de 300 mg, il était difficile d'introduire un mélange non seulement identique d'un sachet à l'autre mais aussi représentatif des proportions constituant le grain entier. La deuxième raison concerne le maïs en particulier. En effet, le broyage à la grille de 3 mm produit un substrat très hétérogène. Ainsi, on pouvait distinguer aisément des particules grossières de l'endosperme cireux et des particules fines de l'endosperme farineux ; or il semble que ces caractéristiques physiques du grain de maïs conditionnent l'efficacité de l'hydrolyse enzymatique, ce qui peut expliquer en partie les différences de DMS observées. ***Ces deux raisons impliquent l'intubation simultanée de plusieurs sachets d'un même substrat afin de pouvoir obtenir un résultat représentatif.*** La dernière explication repose sur la technique de collecte des sachets. Nos aimants ne nous permettent pas de connaître exactement le moment d'arrivée des sachets dans le cæcum. Par conséquent, les sachets ont pu, au plus, passer 25 minutes dans ce compartiment. Outre une imprécision de la cinétique de collecte, cela peut conduire à une surestimation variable, de la DMS dans les sachets résultant de l'activité microbienne cæcale. Pour pallier cette limite, il existe des dispositifs électromagnétiques permettant d'être avertis par un signal lumineux dès l'arrivée d'un sachet sur l'aimant (Moore-Colyer *et al.*, 2002). Nous avons testé ce type de dispositif au laboratoire et nous l'avons comparé à notre procédure de collecte (relevé de l'aimant toutes les 30 min) ; nous avons ainsi estimé le temps de séjour des sachets dans le cæcum à 9 minutes en moyenne (pour 25 sachets récupérés sur 30 intubés), ce que nous avons considéré comme négligeable. Nous avons donc choisi de ne pas utiliser de dispositif électromagnétique pour l'expérimentation suivante, d'autant plus que son utilisation nécessite une main d'œuvre considérable.

Afin de mettre en évidence un effet éventuel du temps de séjour sur les DMS, nous avons, dans un premier temps, créé trois tranches horaires de collecte pour l'analyse statistique de nos résultats. Ceci limitait ainsi l'effet de l'hétérogénéité du substrat introduit dans les

sachets. Cependant, cette approche présente deux inconvénients majeurs. Le premier repose sur le fait que nous avons eu des profils de récupération des sachets distincts et décalés dans le temps entre nos deux chevaux. Cela a entraîné un déséquilibre au niveau des effectifs de sachets présents dans les 3 classes constituées. Ainsi, en moyenne pour chaque substrat, T1 regroupait un total de 15 sachets pour Appache contre 4 sachets pour Dupe, T2 regroupait 9 sachets pour Appache contre 26 pour Dupe et T3 regroupait 5 sachets pour Appache contre 7 pour Dupe. Par conséquent, l'effet « tranche horaire » peut refléter un effet individu. Le second inconvénient repose sur le fait que la constitution de ces tranches horaires nécessite de ne pas tenir compte de l'effet « jour ». En effet, la répartition des sachets d'un même substrat entre les trois intervalles de temps n'est pas homogène ni pour un jour donné, ni d'un jour à l'autre. Or l'effet jour étant très significatif sur les mesures, il semblerait nécessaire de pouvoir tester l'interaction entre le jour et la tranche horaire pour pouvoir déceler un éventuel effet de ladite tranche horaire. Ces deux problèmes de répartition non équilibrée contribuent probablement à l'absence d'effet significatif de ce facteur. Dans un second temps, étant donné que les caractéristiques de transit des sachets pouvaient être très variables d'un jour à l'autre pour un même cheval, nous avons étudié le lien entre le TRM des sachets et l'intensité de la DMS des substrats testés dans cet essai. L'absence de relation entre ces deux paramètres réside probablement dans le fait que le calcul du TRM est effectué à partir de l'ensemble des sachets récupérés pour un même jour. Il peut donc être imprécis si le hasard a fait que la récupération de l'ensemble des sachets d'un même aliment a eu lieu avant ou après ce point. Pour pouvoir déterminer exactement l'effet du TRM des sachets sur la DMS du substrat, il aurait donc fallu intuber des lots constitués de 28 sachets d'un même substrat.

Nos résultats n'ont montré aucun effet du temps de séjour antécœcal des sachets sur les DMS ce qui peut représenter une limite à la précision de nos mesures. Cependant, l'objectif de la mise en place de la technique des sachets mobiles est de pouvoir comparer la disparition in sacco de substrats différents. Quelles que soient les raisons de la variabilité inter-jour observée, elles impliquent, à elles seules, l'obligation d'intuber simultanément les substrats que nous voulons tester. En outre, l'effet jour étant le second facteur de variation (après le type de substrat) ayant un effet significatif sur les valeurs de DMS, il justifie le regroupement des sachets par jour afin de pouvoir procéder à l'analyse de l'amidon résiduel.

L'étude des disparitions d'amidon a montré des résultats significativement différents en fonction du substrat introduit dans les sachets : l'amidon d'avoine a été presque intégralement dégradé (98,9 %) ; celui de la pulpe de pomme de terre et de l'orge ont été dégradé respectivement à 85,9 % et à 81,2 % ; l'amidon de maïs a été, quant à lui, le moins bien dégradé avec une disparition 66,7 %. Ces résultats mettent en évidence l'aptitude de la technique des sachets mobiles à discriminer la digestibilité antécæcale d'amidons provenant de diverses origines botaniques : cette méthode est sensible et permet de distinguer des substrats numériquement espacés de 4,7 points.

En outre, les Damidon obtenues semblent cohérentes avec ce qui est connu dans la littérature pour l'avoine et le maïs quand ces substrats sont broyés au préalable (Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1995). L'orge fait l'objet de moins d'études et les mesures de digestibilité antécæcale de l'amidon sont contradictoires : de 21,5 % maximum pour Meyer *et al.* (1993 et 1995) contre 95,9 % pour Arnold (1982). Nos résultats sont plus proches de ceux d'Arnold mais ils mériteraient d'être confirmés. Par contre, la disparition d'amidon de la pulpe de pomme de terre est supérieure à celle que nous attendions. En effet, l'amidon de pomme de terre est réputé résistant ; des travaux conduits sur chevaux porteurs d'une canule au niveau du jéjunum distal avaient rapporté une digestibilité antécæcale n'excédant pas 6,5 % (Meyer *et al.*, 1995). Il est à noter que ces résultats ont été obtenus avec de la pomme de terre crue. Le procédé technologique d'extraction de la pulpe de pomme de terre a probablement entraîné une modification de la structure de l'amidon, le rendant ainsi plus digestible. La pulpe de pomme de terre n'est pas un constituant traditionnel de l'alimentation des chevaux. Nous avons retenu ce substrat afin de tester une gamme d'amidons variés. Des essais complémentaires sont donc nécessaires afin de tester la disparition *in sacco* de l'amidon de pomme de terre crue et de préciser l'exactitude des digestibilités antécæcales de l'amidon mesurées par la technique des sachets mobiles.

Dans cette étude, la comparaison entre les substrats est d'autant plus pertinente qu'elle a été réalisée dans des conditions expérimentales rigoureusement identiques. Cela n'est pas possible quand on travaille à partir de flux intestinaux puisque les aliments que l'on veut comparer constituent la base de l'alimentation des chevaux, ils sont donc testés successivement. Etant donné la multitude de facteurs pouvant influencer la digestibilité antécæcale de l'amidon, seule la technique des sachets mobiles permet de se focaliser sur l'effet isolé de l'origine botanique de l'amidon.

Les mesures présentées ci-dessus ne prennent pas en compte les éventuelles pertes sous forme de particules et par solubilisation du substrat introduit dans les sachets de nylon. Or, ces pertes peuvent occasionner une surestimation de nos mesures de DMS et de Damidon car il n'est pas garanti que la dégradabilité de ce qui est sorti du sachet soit identique à celle de ce qui est resté. En outre, cette mesure est nécessaire pour s'assurer que ce que nous avons mesuré dans les sachets résulte de phénomènes digestifs (dégradation microbienne et hydrolyse enzymatique) et non de phénomènes purement mécaniques.

En moyenne, quels que soient le substrat et la solution d'incubation les pertes en matière sèche se sont élevées à 9,2 % du substrat introduit dans les sachets ; la perte en amidon correspondante a été en moyenne de 4,6 %. En outre, la teneur en amidon des pertes a été très variable d'un substrat à l'autre et elle n'était proportionnelle ni à la teneur en amidon du substrat initial ni à la perte en MS. Ainsi, la proportion d'amidon des pertes pour l'avoine était-elle voisine de zéro, tandis que pour le maïs, les pertes étaient constituées intégralement d'amidon. *Ces résultats mettent en évidence une surestimation probable des résultats donnés par la technique des sachets mobiles et, compte tenu des observations réalisées sur l'amidon, l'ignorance de ces pertes pourrait fausser la hiérarchisation des substrats suivant leur Damidon.*

La variabilité des pertes en MS et en amidon selon le substrat considéré était probablement liée à la granulométrie de ces derniers. En effet, même si le broyeur et la grille de broyage étaient identiques pour tous les substrats (sauf la pomme de terre), les caractéristiques physiques du grain conditionnent la finesse des particules obtenues ainsi que la répartition de l'amidon au sein des différentes classes de particules (Michalet-Doreau et Cerneau, 1992). Pour confirmer cette hypothèse, il serait intéressant de connaître la granulométrie des substrats, et en particulier la proportion de particules inférieures à 48 μm pour identifier d'éventuels autres facteurs conditionnant la proportion de substrat perdue.

Dans un souci de mesurer les pertes dans un milieu proche de celui dans lequel les sachets sont immergés lors de l'incubation, nous avons formulé une solution dont les caractéristiques physico-chimiques sont semblables au contenu gastrique. L'incubation des sachets dans cette solution a eu tendance à diminuer les pertes, mais cet effet n'est apparu significatif que pour l'orge et la pomme de terre sur la DMS_p, et pour la pomme de terre uniquement, sur la Damidon_p. Il est donc difficile de conclure sur la nécessité d'utiliser cette solution plutôt que de l'eau distillée. Pour plus de précision lors de la comparaison des milieux d'incubation, une

filtration de la solution, à l'issue de l'incubation, semblerait intéressante pour pouvoir décrire les caractéristiques de ce qui sort des sachets.

Le protocole que nous avons mis en place ne nous a pas permis de distinguer les pertes sous forme de particules des pertes par solubilisation du substrat. Généralement, il est considéré que la fraction particulaire a le même devenir que le substrat restant dans le sachet mais ce n'est pas forcément le cas de la phase solubilisée qui est entraînée dans la phase liquide du digesta. Dans le gros intestin, la condensation des aliments ralentit le transit des liquides jusqu'à supprimer le différentiel entre la phase solide et la phase liquide du digesta (Drogoul, 2000). Ceci nécessiterait d'être confirmé dans la partie antécæcale du tube digestif afin de pouvoir établir que, lorsque l'intubation des sachets a lieu lors de l'ingestion d'un aliment granulé, les pertes au travers des mailles du nylon seront soumises aux mêmes processus de digestion que le substrat resté dans les sachets.

Lors de l'utilisation de la technique des sachets mobiles dans des essais ultérieurs, la détermination des pertes sous forme de particules pour chaque substrat devra être incluse afin de préciser les mesures de disparition de matière sèche et d'amidon. En outre, l'exactitude des résultats obtenus peut être également influencée par les pertes occasionnées lors du lavage en machine à l'issue de la récupération des sachets dans le cæcum. Par conséquent, le protocole mis en place dans cet essai nécessite d'être complété pour préciser l'influence de ces pertes additionnelles.

PUBLICATION N°3 :

**EFFECT OF DIET COMPOSITION AND FEEDING PATTERN
ON THE PRECECAL DIGESTIBILITY OF STARCHES
FROM DIVERSE BOTANICAL ORIGINS MEASURED
WITH THE MOBILE NYLON BAG TECHNIQUE IN HORSES.**

Journal of Animal Science (accepté)

Effect of diet composition and feeding pattern on the prececal digestibility of starches from diverse botanical origins measured with the mobile nylon bag technique in horses¹⁶

A. de Fombelle^{*}, L. Veiga[†], C. Drogoul[†] and V. Julliand^{†17}

^{*}EVIALIS, Talhouët, 56 250 Saint Nolff, France ; [†]ENESAD, 26 bvd Dr. Petitjean, BP 87999, 21079 Dijon cedex, France

Abstract

This trial was set to determine the extent of prececal starch digestibility depending on the botanical origin of starch and on diet characteristics (i.e., composition and feeding pattern) using the mobile bag technique (MBT). The prececal disappearance of 6 substrates (i.e., oats, barley, corn, horse bean, potato and wheat) was measured in four cannulated horses fed 11.8 g·kg BW⁻¹ of a high fiber (HF) or high starch (HS) pelleted feed and 10.0 g·kg BW⁻¹ of meadow hay. The daily feeding pattern was either 3 meals (i.e., 2 meals of pellets and 1 meal of hay), or 5 meals (i.e., 3 meals of pellets and 2 meals of hay). The experimental procedure was a 2 × 2 factorial arrangement tested in a latin square design. After 2 wk of adaptation to the diet, 5 d of collection were performed. A batch of 30 nylon bags, composed of 5 bags of each substrate, was intubated to each horse during the ingestion of the morning meal. Bags were collected in the cecum, using a magnet, during 9 h post-intubation. In spite of strong inter-individual differences, about 80 % of intubated bags were collected. On average, the mean retention time of the bags was 6.2 h (± 0.17). Whatever the feeding pattern, the transit of the bags was faster when the fiber content of the diet was higher ($P < 0.01$); regardless of the meal composition, transit was also faster when the ration was split into 5 daily meals ($P < 0.01$). The DM disappearance, corrected with particulate losses, (DMD_c) was different depending on the substrate tested (33.5 %, 57.1 %, 63.8 %, 67.7 %, 78.6 %, 86.2 % for potato, horse bean, oats, barley, corn and wheat respectively; $P < 0.001$). The DMD_c of corn, barley and potato was higher when HS was fed ($P < 0.05$); regardless of the substrate, DMD_c was higher with 5 daily meals ($P < 0.001$). The starch disappearance (StarchD_c) was different

¹⁶ Authors acknowledge P. Boisot and A. Guyonvarch for their scientific support; G. Brigand, A.-L. Guyon, D. Poillion and C. Reibel for their technical assistance; EVIALIS and the French Haras Nationaux for their financial support of this work.

¹⁷ Correspondence: phone: 33 380 77 25 59; fax: 33 380 77 25 84; E-mail: v.julliand@enesad.fr

depending on the substrate (36.1 %, 71.2 %, 86.6 %, 89.2 %, 99.0 % and 99.7 % for potato, horse bean, barley, corn, wheat and oats respectively; $P < 0.001$). Whatever the substrate, StarchD_c was higher when HS was fed ($P < 0.01$) but was not affected by the feeding pattern of the diet ($P > 0.05$). Although passage rate was modified and feed intake was different, the botanical origin of starch was the main factor that affected prececal starch disappearance in horses.

Key words: Foregut, Horse, Mobile nylon bag, Nutrition physiology, Starch digestion, Transit time

Introduction

The starch stored in grains represents an important energy source used to meet the athletic horses' energetic requirements. However, the inclusion of starch in the diet needs much attention. Feeding over 4 g of starch per kilogram BW at a time, was shown to lead to the overload of the small intestinal digestive capacity (Potter et al., 1992) and non degraded starch can reach the large intestine. As a consequence, the energetic yield of the diet is reduced, and intestinal disorders can potentially appear due to microbial profile disturbance. Therefore, feeding less than 2 g·kg BW⁻¹ of starch per meal is usually recommended (Meyer et al., 1995). Studies conducted with ileum-fistulated horses have shown that the extent of prececal starch digestion is related to numerous factors interacting together: the starch intake, its processing, its botanical origin and the closeness of forage distribution. However, keeping ileal cannulated horses in good health is difficult, and starch sources can only be tested one after the other, which is time consuming. In addition, due to the variable starch content of feedstuffs, it is impossible to maintain a similar starch intake at a similar level of DM intake. Therefore, it is hard to isolate the effect of the botanical origin of starch on available data. Consequently, the use of mobile bags to estimate prececal starch digestibility, with cecal fistulated horses, represents an interesting alternative method as it allows to compare different feedstuffs simultaneously.

The mobile bag technique (**MBT**) was set to estimate the prececal disappearance of different starch sources depending on meal characteristics and forage distribution: two distinct pelleted feeds and two feeding patterns were chosen according to French feeding practices in stables. Besides, the MBT was used to assess the influence of diet characteristics on prececal transit of solid digesta.

Material and methods

Experimental design and treatments

Four crossbred mature geldings (mean age 11 yr; mean BW 428 ± 32 kg), each fitted with a polyvinyl chloride cannula (i.d. 22.5 mm) in the cecum, were used. Animals were surgically prepared by a certified large animal veterinarian, using the technique described by Drogoul et al. (2000), at least 1 yr before the trial. The project was conducted in the ENESAD facilities

under license from the Department of Health and Animal Care of the French Veterinary authority (A 21 622 007).

Horses were fed a daily diet composed of 11.8 g·kg BW⁻¹ of pellets and 10.0 g·kg BW⁻¹ of meadow hay. Two pelleted feed were compared: a commercial pelleted feed rich in fiber (**HF**) and an experimental one rich in starch (**HS**) (Table 42); the DM intake was set to cover 110 % of maintenance energy requirements according to French recommendation (0.038 Unités Fourragères Cheval (**UFC**) / kg BW^{0.75}; Martin-Rosset et al., 1994; with 1 UFC = 2200 kcal net energy) when HF was fed; therefore, due to its starch content, HS met 140 % of energy requirements. Meadow hay was chosen to balance the fiber deficiency of the pelleted feed HS and its daily intake was close to common feeding practices in stables. Two feeding patterns of the ration were also tested: horses were fed either 3 or 5 meals per day (Table 43). The association “HF and 5 meals” is a common French feeding practice in stables, and the association “HS and 3 meals”, which is the most energetic, mimics a typical diet fed to performance horses. This allowed a varying starch intake through the morning meal: 0.78 g·kg BW⁻¹ with HF and 5 meals, 1.47 g·kg BW⁻¹ with HS and 5 meals, 1.49 g·kg BW⁻¹ with HF and 3 meals and 2.81 g·kg BW⁻¹ with HS and 3 meals. This later starch intake was above the level shown to be only partially digested in the precæcal part of the digestive tract (Meyer et al., 1995). Feed consumption was measured as follows: all refusals were collected before distributing the next meal of the same feed (pellet or hay) and the amount was weighed.

The experimental procedure was a 2 × 2 factorial arrangement tested in a latin square design. The experimental periods were 21 d duration including 14-d of adaptation and 7-d of measurement where 5 d of collection were performed with at least 48 h between 2 consecutive intubations.

Management of horses

Horses were maintained in indoor individual free-stalls, bedded with shavings (DOULIT, Sud Ouest Absorbants, Anglet, France) in order to avoid bedding ingestion. They had *ad libitum* access to water from automatic waterers. In order to destroy a wide range of gastro-intestinal parasites, the horses were wormed with a double dose of Pyrantel (STRONGID, laboratoire Pfizer, Orsay, France) followed, a week later, by a dose of Ivermectin (EQVALAN, laboratoire Merial, Lyon, France) 15 d prior to the beginning of the experiment (Herd, 1992;

Hutchens et al., 1999). Horses were turned out every other day in a round pen where they were led at a steady trot for 30 min.

Preparation, intubation and collection of bags

Mobile bags (6 cm × 1 cm diameter) were prepared from monofilament nylon (Nylon blutex, SAATI France, Saily Saillel, France; 46 µm porosity) and heat sealed (M171 232 00 type UH 32, Thimonier SA, Lyon, France); extremities were folded to prevent any sharp, and possibly irritating ends; to allow bag capture, a steel washer (1 cm external diameter) was sealed into one end of each bag (Moore-Colyer et al., 1997). Bags were filled with 400 mg of substrate ground through a 3 mm mesh. Six substrates from diverse botanical origin were tested: barley (*Hordeum vulgare*), corn (*Zea mays*), horse bean (*Vicia faba minor*), oats (*Avena sativa*), wheat (*Triticum durum*) and freeze dried raw potato (*Solanum tuberosum*). Potato, which is not a usual constituent of horse diet, was chosen as a reference of resistant starch. The chemical composition as well as the particle size distribution (laser light diffraction in dry conditions) of the substrates were determined (Table 44).

For each horse and each intubation, a batch of 30 bags composed of 5 bags of each substrate tested was prepared and intubated to each horse on each day of collection. Mobile bags were intubated right after the ingestion of one third of the morning pelleted meal. Bags were washed out in the oesophagus, through a naso-gastric tube (1.8 cm external diameter; 150 cm long), with 750 ml of tap water. The remainder of the meal was fed right after the intubation and meal consumption was checked to ensure that the intubation did not cause any intake trouble. A polyester bag, containing a magnet (72×15×10 mm), was introduced in the cecum, through the cannula, in order to place the magnet near the ileo-cecal junction (Moore-Colyer et al., 1997). This device allowed bag capture right at their arrival in the cecum. The magnet was withdrawn every half hour, starting 2 h after intubation, till the distribution of the last pelleted meal of the day. Bag collection occurred as follows: after opening the cannula, the magnet was pulled out of the cecum then reintroduced inside the cecum and pulled out again. If no bag were collected, the magnet was replaced in the cecum till next withdrawal. When one or more bags were stuck on the magnet, they were taken off and the magnet was introduced in the cecum and pulled out till no bags were caught anymore. This allowed collecting bags that would eventually be lost as the magnet went passing through the cannula. Collected bags were rinsed rapidly under tap water then stored at -20°C.

Treatment of bags and measurements

For each day of collection throughout each experimental period, the proportion of bags collected (**BC**) was calculated. In addition, the characteristics of the transit of the mobile bags was assessed through the analysis of the curves representing the cumulated percentage of bags as a function of time, and the calculation of the mean retention time (**MRT**) of the bags in the prececal part of the digestive tract according to Faichney (1975):

$$\text{MRT} = (\sum B_i \times \Delta t_i) \div \sum B_i$$

With B_i : Number of bags collected at time t_i ; Δt_i : Average time spent since t_0 = time of bags intubation ($\Delta t_i = (t_i - t_0) + [(t_i - t_0) \div 2]$).

At the end of each experimental period, all bags were thawed at room temperature, then washed in a domestic washing machine (alternatic programme, Calor, Ecully, France) with demineralized water (2 to 3 cycles of 5 min) till rinsing water was clear. Bags were then sorted and dried in a forced air oven at 60°C to constant weight. Each bag was weighed to calculate the DM disappearance (**DMD**). Bags containing a common substrate and collected the same day for a common horse, were pooled and substrate residuals were ground together using a ball mill (Mixer mill MM 200, Retsch, Haan, Germany). Then a representative sample of the experimental period was made mixing an aliquot of ground residues of each day. Residual starch was analyzed through an enzymatic procedure (from Edwards modified by Kozlowski, 1994) and starch disappearance (**StarchD**) was calculated.

Loss of particles from mobile bags

Two different procedures were used to determine the loss of particles from mobile bags. The first one (incubation) was adapted from Philippeau and Michalet-Doreau (1997) and consisted in incubating bags in a medium formulated to mimic the physico-chemical characteristics of gastric content of horses during the meal. The incubation procedure allowed to estimate the losses occurring through the pores of the nylon immediately after intubation. The second procedure (washing) was performed to assess the additional losses of particles occurring during the rinsing procedure (mechanical washing in cold-water). In the incubation procedure, a nylon bag, identical to that previously described, was placed into a bottle containing about 50 mL of a moderately acidic (pH 5.5) medium and composed of 80 % artificial equine saliva (for 1 L of solution: 984.8 mL of H₂O; 15.2 mL of 3 N HCl; 6.7156 g of Na₂CO₃; 6.0164 g of

NaHCO₃; 5.7137 g of CaCl₂ · 2H₂O; 3.0615 g of MgCl₂ · 6H₂O; 2.2743 g of KCl; 1.3361 g of Na₂HPO₄ · 12 H₂O; 1.1011 g of NaCl) and 20 % 0.625 M hydrochloric acid chosen to mimic gastric juice. Five replications per substrate were performed. After 1 h incubation in a shaking water bath at 38°C, bags were withdrawn from the bottles and rapidly rinsed with demineralized water. In the washing procedure, 5 nylon bags of each substrate were immersed in distilled water for 1 h, then washed in the domestic washing machine as described previously. All bags were dried at 60°C to constant weight. Each bag was weighted to determine dry matter loss of particles (**DMD_p**). For each substrate and each procedure, the content of 5 bags was pooled and ground to analyze residual starch and for starch loss (**StarchD_p**) calculation.

DMD from mobile bags collected from the cecum were then corrected for each bag excluding the fraction lost during incubation and the corrected dry matter disappearance (**DMD_c**) was calculated. Likewise, StarchD were corrected and the corrected starch disappearance calculated (**StarchD_c**).

Statistical Analysis

An ANOVA with the GLM procedure of SAS v8.2 (SAS Inst. Inc., Cary, NC) was done to evaluate the response of MRT to the pellet composition (**P**), to the feeding pattern of diet (**F**) and to the **P** × **F** interaction. The period, the day of intubation (nested in the period) and the horse, which was specified as a randomized effect, were also included in the model. In addition, BC was included in the model as a covariate. A repeated measures analysis of variance was performed to compare the profiles of cumulated bag collection using the repeated time option. The time of bag collection had a significant effect; therefore bag collection data were analyzed for each collection time individually in the bar chart.

Another ANOVA was used to evaluate the effect of the starch source on the loss of particle from nylon bags (**DMD_p** and **StarchD_p**). Losses were analyzed within each method using the by option. A last ANOVA was performed to evaluate the variables' response (**DMD_c** and **StarchD_c**) to the main effects: substrate tested in the bag (**S**), **P** and **F**; the interactions **S** × **P**, **S** × **F**, and **P** × **F** were also tested in the model. The period, the day of intubation (nested in the period) and the horse, which was specified as a randomized effect, were included in the model (the day of intubation was removed from the model for **StarchD_c** analysis as the constitution of the representative samples for each period masked day effect). Least square means were

calculated for all variables and separated using pairwise *t*-tests (Pdiff option of SAS) and the significance threshold for all tests was set at $P < 0.05$.

Results

On average, 79.8 % (± 2.5) of the intubated bags were collected in the cecum during the 9-h collection period. The average of BC was different between horses, ranging from 58.1 % (± 6.5) to 92.3 % (± 2.3).

Regardless of diet characteristics and horses, less than 1 % of intubated bags were collected 2.0 h after intubation; in average, the first appearance of bags in the cecum occurred between 2.5 h and 3.0 h after intubation.

The kinetic of cumulative BC was different depending on pellet composition and the number of meals per day (Figure 29). For each collection performed after 2.5 h post-intubation and regardless of the number of meals offered, BC was higher when HF pellet was fed rather than HS ($P < 0.05$). Besides, for each collection performed between 4.0 h and 8.0 h post-intubation, whatever the pellet composition, BC was greater when the daily ration was split into 5 meals instead of 3 meals ($P < 0.05$). At each collection performed after 2.5h post-intubation BC was higher when horses were offered the combination “HF – 5 meals” rather than “HS – 3 meals” ($P < 0.05$). For collections occurring after 3 h post-intubation, the kinetic of BC was similar when horses were given the combination “HF - 3 meals” compared to “HS - 5 meals” ($P > 0.05$).

On average, the mean retention time of the bags in the prececal part of the digestive tract was 6.2 h (± 0.17 h). Whatever diet characteristics, the MRT of the bags was different between horses (from 5.5 h to 7.3 h; $P < 0.001$); the MRT was shorter when HF was fed (5.9 h vs. 6.6 h, for HF and HS respectively; $P < 0.01$) and it was also shorter when horses received 5 meals per day (5.9 h vs. 6.6 h, for 5 meals and 3 meals, respectively; $P < 0.01$); the interaction between the type of pellet and the feeding pattern was not significant (Table 45).

The mean loss of DM after bag incubation in artificial gastric content was 8.3 (± 0.72 ; $n = 30$) %. The DMD_p was different depending on the substrates tested ($P < 0.001$): the greatest loss was observed for potato whereas the smallest were noticed for oats and corn ($P < 0.001$) (Table 46). The associated starch loss was also strongly related to the type of

substrate (mean StarchD_p: 3.8 % ± 0.69; n = 30) ($P < 0.001$) (Table 46). Consequently, compared to total DM loss, the starch content of the particulate fraction was: 0.0 %, 50.2 %, 13.1 %, 100.0 %, 11.7 % and 24.1 % for oats, wheat, horse bean, corn, barley and potato, respectively.

On average, the loss of DM after washing the bags was 22.4 % (± 0.89; n = 30). DMD_p was different depending on the substrate tested ($P < 0.001$). The greatest loss was measured in bags containing oats whereas the smallest ones were observed for wheat and barley ($P < 0.001$) (Table 46). The starch loss induced varied greatly between starch sources (mean StarchD_p: 23.7 ± 1.78 %; n = 30) ($P < 0.001$) (Table 5). However, except for oats (30.8 %), the starch content of the substrate remaining in the bags was fairly close to the starch content of the substrate initially introduced: 59.1 %, 37.9 %, 65.9 %, 51.2 % and 73.0 % for wheat, horse bean, corn, barley and potato, respectively.

The DMD_c from the bags collected in the cecum was affected by the substrate tested ($P < 0.001$). Regardless of pellet composition or feeding pattern, DMD_c was 33.5 %, 57.1 %, 63.8 %, 67.7 %, 78.6 % and 86.2 %, for potato, horse bean, oats, barley corn and wheat, respectively; all pairwise comparisons between substrates were significant ($P < 0.001$). Regardless of the substrate, DMD_c was higher when HS was given (63.8 % vs. 65.2 % for HF and HS, respectively; $P < 0.001$), and also when the daily ration was split into 5 meals (63.9 % vs. 65.0 % for 3 meals and 5 meals, respectively; $P < 0.001$). The interaction between pellet composition and the type of substrate was significant ($P < 0.001$) meanwhile other tested interactions were not. DMD_c of oats, wheat and horse bean were similar between the two pelleted feeds tested whereas results for corn, barley and freeze dried potato were higher when HS was fed ($P < 0.05$) (Table 47).

The StarchD_c from the bags collected in the cecum was different depending on the substrate tested ($P < 0.001$). Whatever the substrate, StarchD_c was higher when HS was fed (79.8 % vs. 80.8 % for HF and HS respectively; $P < 0.01$). Other effects tested in the model were not significant. Whatever the characteristics of the diet, oats and wheat starch was the most degraded (99.7 % and 99.0 %, respectively) and the lowest value was obtained with potato (36.1 %); StarchD_c for barley, corn and horse bean was 86.6 %, 89.2 % and 71.2 %, respectively. All pairwise comparisons between substrates were significant ($P < 0.001$), except between oats and wheat ($P = 0.211$).

Discussion

This trial allowed to isolate the effect of the botanical origin of starch among other parameters affecting its prececal digestibility. Also, the results we obtained using the MBT raised original information about the characteristics of the transit of mobile bags (assuming to be representative of the solid phase of digesta) in the foregut of the horse, depending on the morning meal composition and volume.

We collected about 80 % of intubated bags (range from 58 % to 92 %), which was similar to that of 82 % we observed previously (de Fombelle et al., 2001) and was above those commonly reported: 65 % (de Fombelle, 2000), 50 % to 75 % (Moore-Colyer et al., 1997), and 55 % (Macheboeuf et al., 1996). These differences could be related to the characteristics of the diet given to horses, as discussed below. We noticed indeed that the transit time of the bags varied depending on both the pellet composition and the feeding pattern. Therefore, the amount of bags recovered in the cecum could be different in function of the diet fed to the animals. Besides, bag capture in the cecum could be affected by the method used: similarly to Moore-Colyer et al. (1997), we recovered the bags in the cecum thanks to a magnet whereas Macheboeuf et al. (1996) were proceeding manually. The use of a magnet appeared to be more reliable and, indeed, when the magnet was left in the cecum over a 24-h period, the BC reached 100 %. Although an unlimited collection period would have allowed a full bag recovery, bags reaching the cecum after 9-h post intubation were not collected because their transit was not representative of that of the pelleted meal ingested (Medina et al., 2002). Using those bags for DMD and StarchD might have led to overestimate substrate disappearance.

Regardless of the horse and the diet, the shortest interval between intubation and bag collection was 2 h which is longer than previous data reporting intervals between 1 and 2 h (Macheboeuf et al., 1995, 1996; McLean et al., 1999). The increase might be related to the type of the animals: McLean et al. (1999) worked with ponies (270 kg BW) whereas we used horses (400 kg BW). As mentioned above, a cross-effect of the diet might also interfere on the time of first appearance in the cecum.

The average MRT of collected nylon bags in the foregut was 6.2 h, which was higher than the 4.2 h presented by Macheboeuf et al. (1995), but ranged in the transit time values reported for labelled feeds particles (6.8 ± 1.2 h; Medina et al., 2002). The literature about prececal transit in horses is scarce and most prececal MRT data were calculated by subtracting the cecal-anal MRT to the oral-anal MRT (Medina et al., 2002). Our data being in accordance with previous measurements regarding the transit of particles, we hypothesize that nylon bags behaved like the solid phase of digesta.

Our data clearly demonstrated that the MRT of the bags was modified with both the pellet composition and the feeding pattern of the diet. Regardless of the feeding pattern, the MRT was significantly shorter when HF was fed (5.9 h vs. 6.6 h, for HF and HS respectively). The DM intake being identical on a daily basis, this was probably due to the NDF content of HF (40.4 % vs. 22.9 %, for HF and HS respectively) as a higher proportion of plant cell walls induces a shorter transit time (Cuddeford et al., 1995; Yoder et al., 1997; Medina, 2003). Our observation confirmed recent data reporting a quicker gastric emptying when a HF diet was fed compared to a HS diet given at the same level of intake (Métayer et al., 2004). The MRT was also shortened when the daily ration was split into 5 meals compared to 3 meals (5.9 h vs. 6.6 h, respectively). When the daily ration was split into 5 meals, the volume of the morning meal was twice smaller than with 3 daily meals. Smaller meal size has been associated with quicker gastric emptying in terms of percent of total original volume (Métayer et al., 2004). Besides, feeding hay 2 h after the morning meal probably accelerated the prececal transit of feeds, as shown when forage is fed after a concentrate meal (Muuss et al., 1982; Tisserand, 1992; Drogoul et al., 2001). We also noticed that hay consumption was directly related to inter-individual variation of MRT: horses that would ingest their hay rapidly and had small refusals had a faster transit. In addition, no bags were recovered from the cecum as long as hay ingestion had not started.

Like any *in sacco* method, the first limit of MBT utilization for measuring the prececal digestibility of feedstuffs is the loss of particles through the pores of the nylon. This disappearance of substrate occurs independently of digestion processes and might lead to the overestimation of *in vivo* digestibility. Losses of the substrate and the particles smaller than nylon porosity occur right at the immersion of the bags in the gastric content. Grinding and substrate characteristics (humidity, hardness, structural defects, etc) affect the size distribution

of particles, thus the proportion of losses: a linear relationship between DM-losses and the proportion of particles smaller than 50 μm was shown (Michalet-Doreau and Cerneau, 1992). However, the lost proportion being smaller than the fraction of fine particles, it was suggested that a clogging of pores (Lindberg, 1981) and a retention of small particles in a network of larger ones happened. Our results confirmed that the proportion of DM that was lost during the incubation procedure in artificial gastric content was close to (wheat, horse bean and barley) or lower than (oats, corn and potato) the proportion of particles smaller than 48 μm . According to ruminant *in situ* studies (Vanzant et al., 1998), it is hypothesized that the proportion of substrate lost was completely degraded. This assumption can be sustained by the high concentration of bacteria in the stomach of the horse (de Fombelle et al., 2003b). Considering DM-loss from mobile bags, the correction of our results might have led to underestimate the true DMD (-1.6 %, -0.9 %, -5.5 %, -0.9 %, -2.2 % and -10.0 % for oats, wheat, horse bean, corn, barley, and potato respectively). However, this underestimation was negligible except for potato. The biochemical characteristics of the substrate vary among particle size distribution (Melcion, 2000). As an evidence, we measured no starch in the fraction that escaped for oats whereas, for corn, the total amount of DM-loss was entirely constituted of starch. With the exception of corn, the proportion of starch in the lost fraction was smaller than that in the original substrate. It was likely that the amount of starch lost was completely degraded inside the stomach of the horse as this compartment sheds numerous starch-utilizing bacteria (i.e., lactobacilli and streptococci) (de Fombelle et al., 2003b). Besides, it has been recently reported that the apparent digestibility of starch in the stomach of horses can vary from 24 % to 98 % (de Fombelle et al., 2003a; Varloud et al., 2003). Still, if StarchD-loss were neglected, the overestimation of StarchD would have been small (0.0 %, 0.1 %, 1.3 %, 1.0 %, 0.2 % and 3.5 % for oats, wheat, horse bean, corn, barley and potato respectively). So, it seems that these errors can be neglected.

Additional losses occur during the cold-water rinsing procedure of the bags collected from the cecum, a procedure designed to remove mucous, endogenous enzymes and microbial biomass from the feed residue (Van Straalen et al., 1993). Measuring exactly these losses is impossible. However, rinsing bags containing the original substrates allowed us to qualify the losses. DM-losses ranged between 18.2 % and 29.1 % indicating that the proportion of escaped particles was far over the proportion of particles smaller than 48 μm . This greater loss of particles might be mostly due to distortion of pores and weakening of seams in the washing machine (Vanzant et al., 1998). Assuming that the same proportion of the residual substrate

was lost through the rinsing procedure, the additional DM loss represented 14.3 %, 2.9 %, 11.9 %, 5.4 %, 6.7 % and 15.0 % of the DM initially introduced in the bags for oats, wheat, horse bean, corn, barley and potato, respectively. Therefore, the rinsing procedure led to an overestimation of DMD data that was negligible ($< 7\%$) for wheat, corn and barley. Except for oats, the proportion of starch measured in the substrate remaining in the bag was very close to that initially introduced. Consequently, we hypothesized that the StarchD measured in the nylon bags collected from the cecum might be qualitatively identical to the true StarchD from the bags. When the starch lost through the rinsing procedure was used to calculate the amount of remaining starch in the bags before rinsing, it appeared that 0.3 % of additional starch losses occurred for oats and wheat, 8.6 % for horse bean, 2.9 % for corn, 3.5 % for barley and 10.4 % for potato. Therefore, particulate losses occurring during the rinsing procedure shall not prevent the use of the MBT to estimate the prececal digestibility of starch in conventional feeds for horses (i.e., cereals). However, further work using ileum-fistulated horses should be conducted to validate these *in sacco* measurements; besides, as microbial digestion of starch might occur in the cecum, the collection method should be adjusted in order to suppress the retention time of nylon bags in this compartment.

We fed two pelleted feed of different composition (NDF / starch ratio for HF = 1.82 vs. HS = 0.55) and feeds were offered following two distinct feeding patterns, which modified the prececal retention time of the bags. We hypothesized that the feed composition would interfere on the activity of both prececal microorganisms (Kienzle et al., 1997) and endogenous α -amylase (Radicke et al., 1991, 1992; Kienzle et al., 1994). We also hypothesized that the exposure time to these digestive agents would affect the extent of prececal starch digestion (McLean et al., 1999). However, only the feed composition affected StarchD and, regardless of the substrate placed in the bags, a significant 1.0 % increase was reported between HF and HS. As the effect of the feeding pattern was not significant, our results suggested that the prececal StarchD was more affected by the composition of the feed itself than by the starch intake although it was 3.7-fold greater in HS-3 meals than in HF-5 meals. However, the review of bibliographic data showed a decrease of starch digestibility of oats, corn and sorghum when different assays testing an increasing amount of starch intake were compared (Householder, 1978; Kienzle et al., 1992; Meyer et al., 1995). This decrease could be identified even within comparable starch sources (i.e., when a same mechanical or hydro-thermal treatment has been applied). As among mechanical treatments, grinding

provides the highest starch digestibility (Kienzle et al., 1992; Meyer et al., 1995), it was likely that grinding our substrates contributed to attenuate the effect of the starch level of intake in our trial.

The DMD of oats, wheat and horse bean were not affected by the pelleted feed composition nor by the feeding pattern of the diet. We assumed that the degradability of DM from these three substrates had reached a plateau which was depending on intrinsic properties and not influenced by feeding practices. The DMD of corn, barley and potato was higher with HS than with HF. The greatest modification was a 3.8 increase observed for corn. Besides, the effect of the feed composition was towards a moderate increase of DMD with the HS diet, probably due to the longer retention time of the bags when HS was fed. Nevertheless, DMD was higher when the diet was split into 5 daily meals although this feeding pattern had the shortest bags retention time. As we measured no relationship between DMD and the time of bag collection, it is unlikely that an extended exposure time enhanced substrate digestibility. It is most probable that the composition of the HS diet stimulated digestive phenomenon occurring in the prececal tract. Regardless of the diet, the lowest DMD were measured for potato and horse bean (33.5 % and 57.1 %, respectively). DMD of cereals were comprised between 63.8 %, for oats, and 86.2 %, for wheat, negatively correlated to the NDF content. Oats and barley DMD was almost identical to previous data (64.7 % and 64.0 %, respectively) (de Fombelle et al., 2001). DMD of corn was almost 20 points greater than the data reported by de Fombelle et al. (2001) (78.6 vs. 58.1, respectively) although horses were fed a diet similar to “HS - 3 meals”.

StarchD of potato was the smallest (36.1 %). However, this result was above the 10 % apparent digestibility measured for raw potato on fistulated horses (Meyer et al., 1995) and might be explained by the physical form of this substrate: as we used freeze-dried grounded potato the surface exposed to digestive agents was probably enhanced compared to the raw potato used by Meyer et al. (1995). It might have also provoked a larger loss of small particles (15 %), which led to overestimate the results for this substrate. All other starch sources, among common feedstuffs fed to horses, had a StarchD above 70 %. Horse bean had the lowest StarchD (71.2 %). This substrate is usually chosen to increase the proportion of nitrogen in the diet as shown by its CP content (28.9 %); consequently horse bean is not used on its own. As 30 % of horse bean starch remained undegraded at the entrance of the cecum, we would recommend to keep horse bean at a low level in the diet to limit the amount of starch delivered to hindgut microorganisms. However horse bean starch probably does not

represent the greatest threat to the hindgut ecosystem as it was shown to be slowly fermented by rumen microorganisms (Nocek and Tamminga, 1991). Barley StarchD (86.6 %) was close to our previous measurement (81.4 %; de Fombelle et al., 2001) and comprised between the values reported on cannulated ponies by Meyer et al. (1995) and Arnold (1982) (30 % and 96.9 %, respectively). The low digestibility obtained by Meyer et al. (1995) might be related to grain processing as they used rolled barley instead of ground or cracked barley. In addition, these researchers used ponies fistulated at the end of the jejunum so their results might be somewhat underestimated. Surprisingly, in our trial, corn StarchD was close to 90 % although other trials, which tested ground corn at a starch level of intake above 2 g·kg BW⁻¹, showed a smaller prececal digestibility: 66.2 % (de Fombelle et al., 2001), 45.6 % (Meyer et al., 1993), 55.0 % (Meyer et al., 1995), 70.6 % (Kienzle et al., 1992). Corn structural characteristics do not facilitate enzymatic hydrolysis and microbial degradation (Kienzle et al., 1997). Recent works conducted in ruminants underlined that corn starch degradation was affected both by starch composition (amylose/amylopectin ratio) and endosperm texture (dent or flint). Whatever the amylopectin content, corn starch was better degraded when the endosperm surrounding the starch granule is floury (dent) instead of vitreous (flint) (Philippeau et al., 1998). The accessibility of starch granules to rumen microorganisms is indeed limited by the higher content of protein storage bodies contained in the flint grain (Michalet-Doreau and Doreau, 1999). This assessment could be true for enzymatic hydrolysis. It can be hypothesized that the corn tested in this study was probably a more floury corn compared to others. However, this remains to be proven and further research is required to determine the effect of corn varietal differences on prececal starch digestibility in order to improve and secure its utilization in horse feeds. Oats and wheat starch had the highest prececal digestibility (above 99 %). These results are in accordance with previous measurements and showed these cereals can be safely fed to horses as only a very limited amount of their starch will reach the large intestine.

Implications

This trial showed that the mobile bag technique can be an alternative tool to estimate the *in vivo* prececal digestibility of starch sources used in horse diets. In spite of various passage rates and levels of starch intake, starch digestibility was mainly related to its botanical origin. As oats and wheat starch were almost entirely digested before reaching the large intestine, we

assume that these cereals can be safely fed to horses at this level of intake. However, these cereals being highly fermentable, both their energetic utilization and their influence on the prececal ecosystem need to be further explored. Corn, barley and horse bean should be used cautiously as part of their starch content is not digested in the foregut and reaches the cecum. Consequently, these feeds can represent a threat to the balance of the hindgut ecosystem. Our results will contribute to adapt feeding programs for horses in order to improve feed utilization both in a nutritional and a health-care point of view.

Literature cited

- Arnold, F. F. 1982. Prececal, postileal and total tract starch digestion in ponies fed corn, oats, barley or sorghum grain. M.S. Thesis, Texas A&M University, College Station.
- Arnold, F. F., G. D. Potter, J. L. Kreider, G. T. Schelling and W. L. Jenkins. 1981. Carbohydrate digestion in the small and large intestine of the equine. Pages 19-22 in Proc. 7th Equine Nutr. Physiol. Symp., ENPS, Warrenton, Virginia.
- Cuddeford, D., R. A. Pearson, R. F. Archibald and R. H. Muirhead. 1995. Digestibility and gastrointestinal transit time of diet containing different proportions of alfalfa and oat straw given to Thoroughbreds, Shetland ponies, Highland ponies and donkeys. *J. Anim. Sci.* 61: 407-417.
- de Fombelle, A. 2000. Mise en place de la technique des sachets de nylon mobiles chez le cheval en vue de la mesure de la digestibilité antécœcale de l'amidon. DEA Thesis, Université Marseille II et III, Marseille.
- de Fombelle, A., P. Frumholtz, D. Poillion, C. Drogoul, C. Phillippeau, E. Jacotot and V. Julliand. 2001. Effect of the botanical origin of starch on its prececal digestibility measured with the mobile bag technique. Pages 153-155 in Proc. 17th Equine Nutr. Physiol. Symp., ENPS, Lexington, KY.
- de Fombelle, A., A.-G. Goachet, M. Varloud, P. Boisot and V. Julliand. 2003a. Effect of the diet on prececal digestion of different starches in the horse measured with the mobile bag technique. Pages 115-116 in Proc. 18th Equine Nutr. Physiol. Symp., ENPS, Lansing, MI.
- de Fombelle, A., M. Varloud, A.-G. Goachet, E. Jacotot, C. Phillippeau, C. Drogoul and V. Julliand. 2003b. Characterisation of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses fed two distinct diets. *Anim. Sci.* In press.
- Drogoul, C., A. de Fombelle and V. Julliand. 2001. Feeding and microbial disorder in horses: 2-Effects of three hay:grain ratios on digesta passage flow rate and digestibility in ponies. *J. Equine Vet. Sci.* 21 (10): 487-490.
- Drogoul, C., C. Poncet and J.-L. Tisserand. 2000. Feeding ground and pelleted hay to ponies as the only source of fibre supply. 1. Consequences for *in vivo* digestibility and rate of passage of digesta. *Anim. Feed Sci. Technol.* 87: 117-130.
- Faichney, G. J. 1975. The use of markers to partition digestion within the gastrointestinal tract of ruminants. Page 276-291 in *Digestion and metabolism in the ruminant*. Mc Donald, I. W. and A. C. I. Warner, eds. The university of New England Publishing Unit., Armidale, NSW.
- Herd, R. 1992. Choosing the optimal equine anthelmintic. *Vet. Med.* 87 (3): 232-239.
- Householder, D. D. 1978. Precaecal, postileal and total tract starch digestion and growth performance in horses fed concentrate rations containing oats or sorghum grain processed by crimping or micronizing. Ph.D. Diss., Texas A&M University, College Station.
- Hutchens, D. E., A. J. Paul and J. A. di Pietro. 1999. Treatment and control of gastrointestinal parasites. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.* 15 (3): 561-573.

- Kienzle, E. 1994. Small intestinal digestion of starch in the horse. *Revue Méd. Vét. (Toulouse)* 145 (2): 199-204.
- Kienzle, E., J. Pohlenz and S. Radicke. 1997. Morphology of starch digestion in the horse. *J. Vet. Med.* 44: 207-221.
- Kienzle, E., S. Radicke, E. Landes, D. Kleffken, M. Illenseer and H. Meyer. 1994. Activity of amylase in the gastrointestinal tract of the horse. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 72: 234-241.
- Kienzle, E., S. Radicke, S. Wilke, E. Landes and H. Meyer. 1992. Paeileale stärkeverdauung in abhängigkeit von stärkeart und -zubereitung. in *Proc. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes, Pferdeheilkunde, Hanover.*
- Kozlowski, F. 1994. L'amidon, quel dosage pour quel échantillon ? *Cah. Techn. I.N.R.A.* 35: 5-22.
- Lindberg, J. E. 1981. The effect of sample size and sample structure on the degradation of dry matter, nitrogen and cell walls in nylon bags. *Swed. J. Agric. Res.* 11: 71-76.
- Macheboeuf, D., M. Marangi, C. Poncet and W. Martin-Rosset. 1995. Study of nitrogen digestion from different hays by the mobile nylon bag technique in horses. *Ann. Zootech.* 44 (Supplement): 219.
- Macheboeuf, D., C. Poncet, M. Jestin and W. Martin-Rosset. 1996. Use of a mobile nylon bag technique with caecum fistulated horses as an alternative method for estimating precaecal and total tract nitrogen digestibilities of feedstuffs. Page 296 in *Proc. EAAP-47th Annual meeting, BSAS, Lillehammer.*
- Martin-Rosset, W. 1990. *L'alimentation des chevaux.* INRA, Paris.
- Martin-Rosset, W., M. Vermorel, M. Doreau, J.-L. Tisserand and J. Andrieu. 1994. The french horse feed evaluation systems and recommended allowances for energy and protein. *Livest. Prod. Sci.* 40: 36-56.
- McLean, B. M. L., J. J. Hyslop, D. Longland, D. Cuddeford and T. Hollands. 1999. Developement of the mobile bag technique to determine the degradation kinetics of purified starch sources in the pre-caecal segment of the equine digestive tract. Page 138 in *Proc. British Society of Animal Science-Annual meeting, Scarborough.*
- Medina, B. 2003. Effet de la culture de levures vivantes Yea-Sacc 1026 (CBS 493.94) en fonction de deux ratios luzerne/orge dans un aliment complet granulé, sur le fonctionnement de l'écosystème intestinal du cheval. Ph.D. Diss., Université de Bourgogne, Dijon.
- Medina, B., C. Drogoul and V. Julliand. 2002. Pratiques alimentaires et transit digestif. 91-102 91-102 in *Proc. 28ème journée de la recherche équine, Paris.*
- Melcion, J.-P. 2000. La granulométrie de l'aliment: principe, mesure et obtention. *INRA Prod. Anim.* 13 (2): 81-97.
- Meyer, H., S. Radicke, E. Kienzle, S. Wilke, D. Kleffken and M. Illenseer. 1995. Investigations on preileal digestion of starch from grain, potato and manioc in horses. *J. Vet. Med.* 42: 371-381.
- Meyer, H., S. Radicke, H. Kienzle, S. Wilke and D. Kleffken. 1993. Investigations on preileal digestion of oats, corn, and barley starch in relation to grain processing. Pages 92-97 in *Proc. 13th Equine Nutr. Physiol. Symp., Gainesville, FL.*
- Michalet-Doreau, B. and P. Cerneau. 1992. Influence de la finesse de broyage des aliments sur l'importance des pertes en particules dans la technique in sacco. *Ann. Zootech.* 41: 13-14.
- Michalet-Doreau, B. and M. Doreau. 1999. Maize genotype and ruminant nutrition. *Science des Aliments* 19 (3/4): 349-365.
- Moore-Colyer, M., J. J. Hyslop, A. C. Longland and D. Cuddeford. 1997. Degradation of four dietary fiber sources by ponies as measured by the mobile bag technique. Pages 118-119 in *Proc. 15th Equine Nutr. Physiol. Symp., Forth-Worth, TX.*
- Muuss, R., H. Meyer and M. Schmidt. 1982. Entleerung und Zusammen setzung des ileum Chymus beim Pferde *Zeitschrift Für Tierphysiologie.* Pages 13-23 in *Proc. Beiträge zur Verdauungsphysiologie des Pferdes, Tierphysiol. Tierernährg. Futtermittelkd, Hamburg, DE.*

- Pagan, J. D., P. Harris, T. Brewster-barnes, S. E. Duren and S. G. Jackson. 1998. Exercise affects digestibility and rate of passage of all-forage and mixed diets in thoroughbred horses. *J. Nutr.* 128: 2704S-2707S.
- Philippeau, C., J. Landry and B. Michalet-Doreau. 1998. Influence of the biochemical and physical characteristics of the maize grain on ruminal starch degradation. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4287-4291.
- Philippeau, C. and B. Michalet-Doreau. 1997. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 68: 25-35.
- Potter, G. D., F. F. Arnold, D. D. Householder, D. H. Hansen and K. M. Brown. 1992. Digestion of starch in the small or large intestine of the equine. Pages 107-111 in *Proc. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes, Pferdeheilkunde, Hannover.*
- Radicke, S., E. Kienzle and H. Meyer. 1991. Preileal apparent digestibility of oats and corn starch and consequences for caecal metabolism. Pages 43-48 in *Proc. 12th Equine Nutr. Physiol. Symp., Calgary.*
- Radicke, S., E. Landes, E. Kienzle and H. Meyer. 1992. Aktivität der Amylase im Darmkanal des Pferdes in Abhängigkeit von der Futterart. Pages 99-102 in *Proc. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes, Pferdeheilkunde, Hannover.*
- Sauvant, D., P. Chapoutot and H. Archimède. 1994. La digestion des amidons par les ruminants et ses conséquences. *INRA Prod. Anim.* 7 (2): 115-124.
- Tisserand, J.-L. 1992. Fermentation in the hindgut of the horse - Possibilities of disorders. Pages 197-200 in *Proc. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes, Pferdeheilkunde, Hannover.*
- Van Straalen, W. M., F. M. H. Dooper, A. M. Antoniewicz, I. Kosmala and A. M. Van Vuuren. 1993. Intestinal digestibility in dairy cows of protein from grass and clover measured with mobile nylon bag and other methods. *J. Dairy Sci.* 76: 2970-2981.
- Vanzant, E. S., R. C. Cochran and E. C. Titgemeyer. 1998. Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. *J. Anim. Sci.* 76: 2717-2729.
- Yoder, M. J., E. Miller, J. Rook, J. E. Shelle and D. E. Ullrey. 1997. Fiber level and form: effects on digestibility, digesta flow and incidence of gastrointestinal disorders. Pages 122-127 in *Proc. 15th Equine Nutr. Physiol. Symp., Forth Worth, TX.*

DISCUSSION GENERALE

Les essais expérimentaux conduits au cours de ce travail de thèse nous ont permis d'une part, d'apporter des résultats innovants en matière de physiologie digestive chez les chevaux, et d'autre part, de proposer des valeurs de référence pour la digestibilité antécæcale d'amidons provenant de diverses origines botaniques. Seuls les aspects les plus originaux de nos résultats seront repris dans cette discussion.

L'intensité de la digestion antécæcale des glucides de la ration du cheval est conditionnée à la fois par la durée du séjour des *digesta* dans cette partie du tube digestif et par l'efficacité des agents digestifs. A l'heure actuelle, peu d'études se sont penchées sur le transit antécæcal des *digesta* : les rôles respectifs de l'estomac et de l'intestin grêle et l'impact des caractéristiques de la ration sur le transit sont assez controversés et nécessitent d'être précisés. Les lieux de production de l' α -amylase et ses facteurs de variation ont été partiellement identifiés (Alexander et Chowdhury, 1958; Alexander et Hickson, 1970; Roberts, 1974 et 1975; Radicke *et al.*, 1992; Kienzle, 1993; Illenseer, 1994; Kienzle *et al.*, 1994a). L'implication des micro-organismes antécæcaux dans la nutrition de l'hôte a rarement été prise en considération. Comme nous le verrons dans la première partie de la discussion, nos travaux ont contribué à compléter les connaissances sur les facteurs de variation du transit antécæcal et à identifier les caractéristiques de l'écosystème antécæcal afin de déterminer son implication dans la nutrition de l'hôte.

Il existe relativement peu de données sur la digestion antécæcale de l'amidon chez le cheval. Les différentes investigations, menées sur chevaux porteurs d'une canule au niveau de l'intestin grêle, ont mis en évidence de nombreux paramètres influençant son intensité (Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Massey *et al.*, 1985; Brown, 1987; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995). On peut distinguer les paramètres ayant trait aux pratiques alimentaires (quantité d'amidon distribuée par repas, proximité de la distribution du fourrage, choix et forme de présentation du fourrage), et les paramètres spécifiquement liés à la nature de l'amidon (origine botanique et traitement technologique). Compte tenu de l'interaction entre ces paramètres et de la diversité des méthodologies employées, il est difficile d'extraire des valeurs de référence pour la digestibilité antécæcale *in vivo* de l'amidon provenant de diverses origines botaniques. Nos travaux ont permis de mettre en place une méthode permettant de mesurer la digestibilité antécæcale de l'amidon, d'approcher sa partition entre les compartiments antécæcaux et de discriminer l'effet de l'origine botanique parmi les nombreux facteurs de variation de la

digestibilité antécœcale de l'amidon. Nous avons ainsi répondu à la question de la société EVIALIS, comme nous le discuterons dans la deuxième partie.

I. Approfondissement des connaissances sur la physiologie digestive chez les chevaux

I.1 Volume des *digesta* et influence des caractéristiques de la ration sur le transit antécœcal

Si les caractéristiques anatomiques du tube digestif du cheval ont été détaillées précisément, en revanche, il existe peu de données sur le volume des contenus digestifs. Il est vrai que ce paramètre est probablement indissociable de la composition du régime et de sa teneur en humidité mais il est intéressant de noter que pour un régime composé exclusivement de granulés, la quantité de *digesta* récoltée est largement inférieure à la contenance des organes. Ainsi, chez des animaux dont le transit a été arrêté environ 2:30 h après l'ingestion du dernier repas, nous avons récolté en moyenne 4,0 L de contenu dans l'estomac pour une capacité de 10-15 L. Dans l'intestin grêle, 4,1 L de contenu ont été récoltés alors que la capacité de compartiment digestif est de 60 L (Barone, 1978). D'une façon assez logique, nous avons en outre récolté une plus grande quantité de contenu digestif en antécœcal chez les animaux ayant consommé le repas le plus important (10,2 L vs 6,1 L, respectivement pour des animaux ayant ingéré un repas de 2477 g vs 1272 g).

Par ailleurs, les mesures effectuées sur les chevaux sacrifiés ont permis de montrer l'implication de l'estomac dans la régulation du transit antécœcal. Nous avons en effet constaté que, pour un moment de prélèvement identique, la localisation du dernier repas était différente en fonction du régime consommé : lorsque les chevaux avaient ingéré un petit repas riche en fourrage, 45 % du repas était situé dans l'estomac, tandis que lorsque le repas était volumineux et riche en céréales, 59 % du repas était localisé dans l'estomac. Bien que ces observations soient approximatives, car nous n'avons pas mesuré la masse volumique des contenus digestifs prélevés, elles concordent avec la localisation des sachets mobiles que nous avons intubés à ces mêmes chevaux. En effet, avec le premier régime, 45 % des sachets intubés ont été récupérés dans l'estomac, alors qu'avec le second, ce taux atteignait 77 % des sachets intubés. Ces observations montrent que les sachets quittent l'estomac de la même façon que le repas dont ils marquent le transit. ***Dans le cas d'un aliment granulé, les sachets***

mobiles semblent représenter un outil intéressant pour étudier le TRM des digesta dans la partie antécœcale du tube digestif.

La confrontation des observations réalisées sur les chevaux sacrifiés et des mesures de TRM effectuées à l'aide de la technique des sachets mobiles a permis de mettre en évidence que le transit antécœcal des *digesta* est influencé à la fois par le volume du repas distribué et par sa composition (ratio NDF / Amidon). En particulier, l'étude de la proportion du dernier repas retrouvée dans l'estomac concorde avec les résultats de vidange gastrique rapportés par Métayer *et al.* (2003). Ces auteurs avaient effectivement constaté un temps de demi vidange gastrique plus court avec un repas de petit volume riche en NDF par rapport à un gros repas riche en amidon (respectivement 1:33 h et 4:25 h). En outre, nous avons observé que le TRM antécœcal d'un petit repas (393 g / 100 kg PV) riche en NDF était plus rapide (5:35 h) que celui d'un gros repas (750 g / 100 kg PV) riche en amidon (6:58 h). Compte tenu des temps de demi vidange gastrique préalablement rapportés par Métayer *et al.* (2003), il semblerait que le transit dans l'intestin grêle soit plus rapide avec une ration de gros volume et riche en céréales. Ceci serait cohérent avec l'augmentation de l'activité propulsive de l'intestin suite à l'ingestion d'un gros repas de concentrés, (Ruckebusch, 1981 cité par Clarke *et al.*, 1990; Combrisson, 1991). Par ailleurs, nous avons constaté que, pour une quantité ingérée égale à 393 g / 100 kg PV, le TRM d'un repas riche en amidon était supérieur à celui d'un repas riche en NDF (respectivement 6:12 h vs 5:35 h). Ces TRM antécœcaux concordent avec l'écart de 50 min mesuré au niveau du temps de demi vidange gastrique pour des rations comparables (respectivement, 1:33 h et 2:23 h ; Métayer *et al.*, 2003). Par conséquent, la durée du transit dans l'intestin grêle semble peu influencée par la composition du repas, quand celui-ci est de petite taille (proche 4:00 h pour les deux régimes).

Nos résultats ont permis de confirmer le rôle actif de l'estomac dans la régulation du transit des aliments en antécœcal. Nos observations montrent en outre que le volume du repas ingéré ainsi que sa composition (ratio NDF/Amidon) sont deux facteurs influençant la rétention des aliments dans l'estomac. Le temps de séjour dans l'intestin grêle serait, quant à lui, essentiellement influencé par le volume du repas ingéré.

I.2 Caractérisation de l'écosystème antécœcal et évaluation de sa contribution dans la digestion des glucides de la ration

Depuis les premiers travaux d'Alexander et Davies (1963), mis en place pour vérifier que l'intestin grêle du cheval était stérile (!), peu d'auteurs se sont penchés sur la population

microbienne résidant dans la partie antécæcale du tube digestif (Kern *et al.*, 1974; Mackie et Wilkins, 1988; Kollarczik *et al.*, 1992; Kropp, 1991 cité par Kleffken, 1993). Dans ces études, les différents compartiments antécæcaux ont rarement été étudiés en simultané. Le manque d'information concernant les propriétés fonctionnelles des micro-organismes ne permettait pas d'établir un lien direct entre les populations présentes et les caractéristiques biochimiques du contenu intestinal. Il était donc difficile d'évaluer le rôle des micro-organismes dans la nutrition de l'hôte.

Nos résultats ont permis de confirmer que l'estomac et l'intégralité de l'intestin grêle sont colonisés par des bactéries anaérobies strictes dans des concentrations comparables à celles préalablement dénombrées dans le gros intestin : en accord avec les données de Kern *et al.* (1974), elles sont de l'ordre de 10^9 bactéries par mL de contenu gastrique, et de 10^8 dans le chyle intestinal antécæcal. Il est probable que la forte colonisation microbienne de l'estomac du cheval soit permise notamment par des conditions de pH relativement favorables. En effet, le pH du chyme gastrique que nous avons mesuré était compris entre 4,5 et 5,1. Etant donné l'acidité des sécrétions gastriques, au moment où nous avons arrêté le transit digestif (2:30 h après l'ingestion d'un repas de granulés), nos valeurs présupposent une forte contribution des sécrétions salivaires dans l'hydratation du chyme gastrique. Compte tenu du taux d'humidité du bol alimentaire dégluti quand la ration est constituée d'aliments concentrés (Meyer *et al.*, 1986) et du taux de MS des contenus gastriques récoltés, il semblerait en effet que les sécrétions gastriques contribuent seulement à 15 % de l'humidité totale retrouvée dans l'estomac.

D'un point de vue fonctionnel, nos mesures montrent que les micro-organismes résidant dans l'estomac et l'intestin grêle seraient impliqués dans la dégradation des constituants de la ration. S'il est fort probable que l'écosystème antécæcal contribue à la digestion des composés azotés, les données dont nous disposons sont actuellement insuffisantes pour discuter cet aspect. En ce qui concerne les hydrates de carbone, la dégradation des glucides pariétaux semble relativement limitée étant donné la faible concentration en bactéries cellulolytiques (inférieure à 100 CFU / mL de contenu quel que soit le compartiment digestif antécæcal). De plus, cette faible concentration est concomitante à une production d'AGV n'excédant pas les 20 mmol / L. Les AGV, et en particulier l'acétate, étant les principaux produits terminaux de la fermentation des glucides pariétaux, leur faible concentration confirme l'aspect minoritaire de la digestion de ces composés en antécæcal. Ceci est également concordant avec la faible digestibilité apparente des fractions NDF et ADF de la

ration que nous avons distribuée ; Moore-Colyer *et al.* (2002) avaient déjà rapporté que seulement 9 à 15 % de la totalité des NSP disparus *in sacco* le sont dans la partie antécœcale du tube digestif. En fait, cet écosystème microbien serait principalement impliqué dans la dégradation de l'amidon et des glucides facilement fermentescibles. De fait, les populations amylolytiques, estimées par la concentration des lactobacilles et des streptocoques, représentent en moyenne 12 % des bactéries anaérobies (concentration totale comprise entre $7,8 \times 10^7$ et $1,9 \times 10^8$ CFU / mL de contenu digestif). Ces bactéries sont actives comme l'atteste la production de lactate mesurée simultanément (1,2 à 4,5 mmol / L). Il est vrai que les teneurs en lactate que nous avons mesurées restent en moyenne inférieures à celles préalablement rapportées dans la littérature (de 2,9 à 31,9 mmol / L) (Alexander et Davies, 1963; Kern *et al.*, 1974; Wolter et Chaabouni, 1979) mais il est probable que ce soit lié à notre méthodologie expérimentale ; ce point sera développé ultérieurement. Par ailleurs, le dénombrement de bactéries utilisatrices d'acide lactique dans des concentrations similaires à celles des bactéries amylolytiques ($4,5 \times 10^7$ à $1,5 \times 10^8$ CFU / mL de contenu digestif) suggère que l'acide lactique est consommé. Il doit donc être synthétisé dans des proportions bien plus importantes que celles couramment mesurées. Jusqu'à présent, seuls les travaux d'Alexander et Davies (1963) avaient rapporté la présence de bactéries métabolisant le lactate. Parmi elles, *Veillonella parvula* (initialement dénommée *V. gazogenes*¹⁸) a été dénombrée dans des proportions identiques à celles que nous avons mesurées. Il est donc probable que cette espèce soit prédominante dans cette catégorie de bactéries. Les bactéries du genre *Veillonella* utilisent la voie succinique (du méthylmalonyl-CoA) pour fermenter le lactate en acétate et en propionate (Figure 30) ; le ratio acétate:propionate serait approximativement de 1:2 (Stams *et al.*, 1998; Seeliger *et al.*, 2002). Par conséquent, une partie des AGV produits en antécæcal proviendrait de la fermentation du lactate. Cependant, étant donné que nous avons mesuré une majorité d'acétate, il est probable que les conditions physico-chimiques en antécæcal favorisent la fermentation du lactate en acétate et / ou que d'autres espèces bactériennes interviennent dans la synthèse des AGV. Enfin, il semble que le type de bactéries productrices et utilisatrices de lactate et / ou leur activité métabolique soient modifiés entre l'estomac et l'intestin grêle : ceci est illustré non seulement par l'évolution du ratio entre les deux isomères du lactate (L-lactate / D-lactate), mais aussi par la variation du profil des AGV produits (ratio (acétate + butyrate) / propionate). Il est probable que cette modification soit liée à des caractéristiques anatomo-physiologiques mais aussi au régime qui est consommé par l'animal.

¹⁸ Cf. J.P. Euzéby : list of bacterial names with standing in nomenclature – Genus *Veillonella*. <http://www.bacterio.cict.fr/uw/veillonella.html>

Ces différentes observations démontrent que les micro-organismes antécœcaux contribuent significativement à la digestion antécœcale de l'amidon. En particulier, il semblerait que l'activité de l'écosystème gastrique soit à l'origine de la quasi intégralité de la digestion de l'amidon dans l'estomac. En effet, la salive du cheval est pratiquement dépourvue d' α -amylase et il est vraisemblable que le reflux duodéal soit inexistant chez un animal nourri. La teneur en α -amylase du contenu gastrique devrait donc être largement insuffisante pour expliquer un tel résultat. Les 60 à 69 % de digestion apparente de l'amidon de la ration mesurés dans l'estomac résulteraient donc de la dégradation microbienne.

Au niveau de l'intestin grêle, la participation des micro-organismes à la digestion de l'amidon est difficile à évaluer à partir de nos résultats. Compte tenu de l'évolution postprandiale des concentrations en lactate rapportée dans la littérature, il semblerait que la contribution des micro-organismes se prolonge après l'estomac (Wolter *et al.*, 1980; Landes, 1992 cité par Kleffken, 1993; Radicke, 1991 cité par Kleffken, 1993; Radicke, 1990 cité par Kleffken, 1993). Cependant, les teneurs en acides organiques (lactate et AGV) que nous avons mesurées dans les différents compartiments de l'intestin grêle ne permettent pas de confirmer cette hypothèse. Il semblerait donc que, dans nos conditions expérimentales, les 88 % de digestion apparente de l'amidon mesurés dans l'intestin grêle soient majoritairement liés à l'hydrolyse enzymatique par l' α -amylase pancréatique.

Dans notre travail, nous avons constaté que la partie antécœcale du tube digestif du cheval abrite un écosystème microbien fonctionnel notamment impliqué dans la digestion de l'amidon. A partir des digestions apparentes mesurées dans l'estomac, nous avons pu approcher la contribution de ces micro-organismes à 68 - 78 %, au minimum, de la disparition antécœcale de l'amidon.

Le prélèvement du contenu gastrique, environ 4:45 h après l'ingestion du repas du matin, nous a permis de constater que la proportion d'amidon disparue dans l'estomac est indépendante de la quantité ingérée. En effet, lors de l'arrêt du transit, la quantité d'amidon présente était approximativement cinq fois supérieure avec le régime riche en amidon (Tableau 48). Au moment du prélèvement, nous avons constaté d'une part que, malgré sa faible quantité initiale, la totalité de l'amidon du granulé riche en fibre n'avait pas été dégradée. D'autre part, la quantité d'amidon dégradée pendant la même durée était près de 4,5 fois supérieure avec le granulé riche en amidon (Tableau 48). Ces résultats peuvent être mis directement en relation avec les concentrations de micro-organismes : nous avons constaté en

effet que la distribution d'un gros repas riche en amidon favorisait la prolifération des lactobacilles et des bactéries utilisatrices d'acide lactique, probablement grâce au maintien d'un pH relativement élevé (cf. discussion publication n°1). Il en résulte une concentration en AGV numériquement doublée par rapport à un repas de plus petite taille apportant quatre fois moins d'amidon. Ce dernier, en favorisant un pH plus acide, est probablement moins propice à l'activité amylolytique et lacticoxytique (Espinasse *et al.*, 1995), ce qui peut limiter la quantité d'amidon dégradée et conduire à une concentration en lactate plus élevée.

Par ailleurs, il est probable que la quantité d'amidon dégradée dans l'estomac soit également influencée par le type de céréales entrant dans la composition des aliments granulés testés. Parmi les trois sources d'amidon que nous avons testées dans les sachets mobiles intubés aux chevaux sacrifiés, le taux de disparition d'amidon de maïs dans l'estomac était le plus faible (inférieure à 28 %) et l'amidon d'orge et d'avoine étaient les mieux dégradés (respectivement 68 % et 97 %). Ces résultats sont conformes à ce qui est connu chez le ruminant ; d'après leur dégradabilité ruminale, l'amidon d'orge et d'avoine sont en effet considérés comme des amidon rapides et celui de maïs, comme un amidon lent (Sauvant *et al.*, 1994). La dégradabilité de l'amidon dans le rumen est liée à sa proportion d'amidon soluble (fraction « a »), à sa proportion d'amidon progressivement dégradable (fraction « b ») et à la vitesse de dégradation de la fraction b (« c »). Il est intéressant de noter que pour les trois céréales testées, les disparitions d'amidon *in sacco* mesurées dans l'estomac sont du même ordre que les proportions d'amidon soluble présentées dans la revue bibliographique de Sauvant *et al.* (1994).

La quantité d'amidon dégradée au niveau gastrique semble être reliée à la fois aux caractéristiques de l'écosystème stomacal et à l'origine botanique de l'amidon ingéré ; en particulier les concentrations des populations amylolytiques et lacticoxytiques ainsi que l'acidité du chyme gastrique semblent être des critères déterminants. En outre, suivant l'origine botanique de l'amidon, le taux de disparition mesuré dans l'estomac semble être corrélé à la proportion d'amidon soluble (fraction a) déterminée chez les ruminants. Ce critère pourrait être utilisé pour prédire la dégradation de l'amidon dans l'estomac du cheval.

II. Etude de la digestion antécæcale de l'amidon chez le cheval

II.1 Approche méthodologique

Afin de pouvoir apprécier l'exactitude des données de digestibilité antécæcales de l'amidon, il est nécessaire de se pencher sur la méthodologie mise en œuvre pour effectuer les mesures. En particulier, le mode de prélèvement du contenu intestinal, la méthode de calcul de la digestibilité apparente et l'adéquation de la méthode de dosage de l'amidon doivent être étudiés précisément.

La mesure de la digestibilité antécæcale des composants d'une ration alimentaire peut être réalisée par trois approches distinctes. La première repose sur des prélèvements de contenu intestinal effectués *post-mortem* (Hintz *et al.*, 1971; Kern *et al.*, 1974; Wolter et Chaabouni, 1979). Cette technique présente plusieurs avantages liés à la collecte intégrale des contenus digestifs : en permettant la constitution d'échantillons représentatifs, elle conduit à l'obtention de mesures ayant une bonne précision. De plus, le nombre de mesures possibles n'étant pas un facteur limitant, cette méthode permet d'obtenir des informations complémentaires renseignant sur la physiologie digestive. Cependant cette technique présente quelques inconvénients : elle n'est pas répétable et outre le problème d'éthique lié au sacrifice d'animaux, elle réalise une « photographie » de la digestion à un instant t qui n'est pas nécessairement le plus opportun pour connaître la digestibilité antécæcale exacte des composés choisis et décrire les facteurs qui lui sont associés. Enfin, l'exactitude des résultats obtenus peut être contestable pour deux raisons : premièrement, entre le moment où le transit est arrêté et celui où les contenus digestifs sont prélevés, il s'écoule nécessairement un temps qui prolonge artificiellement le séjour des *digesta* dans les segments digestifs isolés. Il est donc possible que les paramètres mesurés soient affectés par cette rétention non physiologique. Deuxièmement, lors de la mort de l'animal, tous les sphincters digestifs se relâchent, ce qui peut provoquer le mélange des contenus entre segments digestifs ; pour limiter ce mélange, il serait donc conseillé de placer les animaux en décubitus dorsal. En l'absence d'une description précise de la procédure de prélèvement, il est donc peu aisé de juger l'exactitude des résultats de digestibilité obtenus sur chevaux sacrifiés.

Une seconde approche repose sur l'analyse de contenus intestinaux prélevés *via* une canule permanente de l'iléon. Contrairement à la méthode précédente, celle-ci permet d'effectuer des mesures en cinétique, et, en théorie, de mesurer la digestibilité antécæcale apparente des

constituants d'une ration. De plus, en permettant des prélèvements répétés, cette approche conduit à des résultats dont il est possible d'apprécier la fidélité, la sensibilité et la spécificité. Néanmoins, la pose d'une canule au niveau de l'iléon terminal des chevaux est une opération délicate, le taux de mortalité est élevé et la durée de vie des animaux est souvent limitée (Peloso *et al.*, 1994; Coleman *et al.*, 1998; Leão *et al.*, 1999). Ceci conduit à une utilisation des chevaux dans un délai post-opératoire relativement court (un à deux mois, selon Householder, 1978; Arnold, 1982) ne permettant probablement pas à l'intestin grêle de retrouver une motricité normale, ce qui est susceptible d'interférer sur les mesures de digestibilité antécæcale. C'est peut être pour ces raisons que la canule a parfois été placée au niveau du jéjunum distal (Gerhards *et al.*, 1991) mais, dans ces conditions, les mesures réalisées peuvent conduire à une sous-estimation des digestibilités réelles ; tous les résultats issus de l'équipe de Meyer à Hanovre ont été obtenus sur des chevaux fistulisés du jéjunum. En outre, la comparaison des résultats de digestibilité antécæcale est délicate dans la mesure où les résultats sont susceptibles d'être fortement influencés par la durée de la période de collecte des flux intestinaux : dans les études recensées, elle peut être comprise entre 0 et 4 h après l'ingestion du repas (Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982), entre 15 min et 6 h (Householder, 1978), entre 3 et 7 h (Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992) et, au maximum, entre 1 et 11 h (Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993; Meyer *et al.*, 1995). A cela, s'ajoute également la fréquence de prélèvement qui peut également être variable d'un essai à l'autre. L'exactitude des données obtenues par l'intermédiaire de cette méthode peut donc être contestable et compte tenu des différentes limites soulevées ci-dessus, il est même difficile d'identifier les résultats les plus représentatifs.

La troisième approche, qui est celle que nous avons retenue pour la deuxième partie de notre travail, repose sur la mesure de la disparition d'aliment dans des sachets de nylon intubés dans l'estomac, par voie naso-œsophagienne, et récupérés dans le cæcum après leur arrivée dans ce compartiment. Cette méthode peut être mise en place sur des chevaux porteurs d'une canule permanente au niveau du cæcum. Celle-ci est généralement très bien tolérée et ne porte pas atteinte à la vie de l'animal. De plus, la méthode de fistulisation utilisée au laboratoire, ainsi que la pose d'une canule n'excédant pas 3 cm de diamètre externe, semble préserver la motilité du cæcum; la canule interfère donc peu sur les paramètres du transit des aliments (Drogoul, 2000). Les expérimentations successives mises en place nous ont montré que la méthode des sachets mobiles est un outil facile à mettre en œuvre et fiable dans la mesure où tous les sachets arrivant dans le cæcum peuvent être récupérés. Cette méthode présente deux

limites principales : la première repose sur la représentativité du transit des sachets par rapport à celui de la ration ingérée au moment de l'intubation. Dans le cas d'un repas d'aliment granulé, nous avons pu démontrer que les sachets circulent de la même façon que la phase solide de la ration (cf. I.1). Les disparitions d'amidon observées sont donc caractéristiques de la digestion de la ration ingérée. La seconde limite réside dans le fait que la petite taille des sachets limite la quantité de substrat que l'on peut y introduire. Par conséquent le nombre d'analyses à l'issue de la récupération des sachets est très restreint. Dans nos essais, la récupération de 75 à 80 % des sachets intubés a permis la récolte d'un résidu suffisant pour pouvoir procéder au dosage de l'amidon. Cependant nous avons dû nous limiter à la mesure de la disparition de l'amidon or il aurait été intéressant de coupler cette mesure à celle d'autres constituants de la ration comme l'azote ou la fraction NDF.

Suivant la méthode de prélèvement du contenu intestinal (ou des sachets), la méthode de calcul de la digestion apparente est différente. Lorsque le contenu intestinal est directement accessible, le recours à un marqueur de l'aliment est nécessaire. Un marqueur doit présenter les propriétés suivantes : être indigestible, être dosable, transiter de la même façon que les nutriments dont on veut mesurer la digestibilité et être récupéré en totalité. Dans les essais réalisés précédemment, l'oxyde de chrome a souvent été incorporé à la ration comme marqueur sans qu'il soit préalablement mordancé aux particules alimentaires. Ce marqueur a donc pu transiter avec une des deux phases de la ration (solide ou liquide) ou de façon totalement indépendante. Ceci contribue à expliquer, comme l'illustre Kienzle (1994) à partir des résultats présentés par Wilke (1992), que la digestibilité apparente de l'amidon à un temps donné puisse être tantôt surestimée, tantôt sous-estimée. Par conséquent, seules des mesures en cinétique prenant en compte les flux de *digesta* peuvent permettre d'approcher avec exactitude la digestibilité réelle de l'amidon, au contraire des mesures effectuées *post mortem*. En outre, même s'il est impossible de collecter la totalité des flux intestinaux au travers d'une canule iléale ou jéjunale, à partir de la teneur en chrome des *digesta* collectés toutes les heures pendant 12 h ppr, Kleffken (1993) a pu estimer à 90 % la récupération du marqueur. Par conséquent, l'utilisation de l'oxyde de chrome sur des chevaux fistulisés au niveau de l'intestin grêle peut permettre de mesurer la digestibilité apparente de façon relativement exacte. Toutefois, si la période de collecte des flux est trop courte, les résultats ne sont probablement pas représentatifs de la digestibilité de l'intégralité de la ration.

Lorsque des sachets de nylon sont utilisés, la digestibilité apparente correspond à la disparition du substrat à l'intérieur du sachet. Les limites liées à l'utilisation d'un marqueur

sont donc inexistantes. Cependant, comme pour toutes les méthodes *in sacco*, l'existence de pertes par solubilisation du substrat et par fuite de particules fines au travers des mailles du nylon peut conduire à la surestimation des résultats. Les procédures mises en œuvre pour déterminer ces pertes ont montré que, dans nos conditions expérimentales, elles pouvaient être négligeables en ce qui concerne l'amidon uniquement (cf. discussion publication n°3). Il semble par contre, que les résultats de disparition de matière sèche soient un peu surestimés. Par conséquent, si la méthode des sachets mobiles devait être utilisée pour mesurer la digestibilité apparente d'autres constituants de la ration, azote en particulier, ces pertes nécessiteraient d'être caractérisées plus précisément. En effet, il a déjà été rapporté que le lavage en machine des sachets contenant le substrat initial occasionne 24 % de pertes en MS pour du foin broyé aggloméré et un mélange « avoine décortiquée + son d'avoine » (broyage grille 1 mm – porosité nylon 41 µm) ; ces pertes représentent 59 % de la MAT et 15 % des NSP (Moore-Colyer *et al.*, 2002).

L'exactitude des résultats de disparition in sacco est habituellement validée par des données obtenues à l'aide d'une méthode in vivo. Compte tenu des limites méthodologiques présentées plus haut, il est délicat d'utiliser les digestibilités disponibles dans la littérature pour valider nos résultats. Par ailleurs, nous avons montré que les différentes limites soulevées n'entravent pas l'aptitude de la technique des sachets mobiles à la mesure de la digestibilité antécœcale de l'amidon chez le cheval. Cette méthode est sensible et les résultats ainsi obtenus présentent une bonne reproductibilité et une précision acceptable. Même si l'exactitude des résultats ne peut être validée avec certitude, la technique des sachets mobiles est, à l'heure actuelle, la seule méthode qui peut servir de référence chez le cheval.

Enfin, le dernier aspect à prendre en compte dans la critique des mesures de digestibilité antécœcale est la méthode utilisée pour doser l'amidon dans les contenus. Parmi les méthodes disponibles, on distingue la méthode polarimétrique (méthode de EWERS¹⁹) et les méthodes enzymatiques. La première est préconisée pour le dosage de l'amidon dans les amidons et féculs natifs, à l'exception de l'amidon à haute teneur en amylose. Elle a l'avantage d'être rapide, peu coûteuse et facile à mettre en œuvre, mais elle n'est pas applicable aux amidons modifiés ou pré-gélatinisés (solubles dans l'eau). Les méthodes enzymatiques ont été recensées dans la revue de Kozłowski (1994), elles sont caractérisées par la méthode utilisée pour

¹⁹ Norme ISO 10520:1997

dispenser les chaînes d'amidon afin de pouvoir les hydrolyser en glucose, et par la méthode enzymatique de dosage du glucose. Ces méthodes sont complexes et parfois longues à mettre en œuvre. De plus, sachant qu'il peut exister une variabilité importante d'une méthode à une autre, il est recommandé d'utiliser toujours la même méthode pour pouvoir comparer les résultats entre eux. Par conséquent, la méthode de dosage choisie doit être adaptée à la fois au dosage de l'amidon dans les aliments (quels qu'ils soient) mais aussi dans les contenus digestifs qui sont contaminés par des pigments biliaires susceptibles d'interférer avec le dosage du glucose (Kozlowski, 1994). Dans ses travaux, l'équipe de Meyer en Allemagne a toujours dosé l'amidon par polarimétrie, et même si les échantillons étaient dilués pour permettre le dosage d'un échantillon coloré, cette méthode était probablement inadaptée pour mesurer l'effet du traitement thermique sur la digestibilité de l'amidon. Or ces chercheurs sont les seuls à ce jour à avoir travaillé sur du maïs expansé... Par contre, les travaux issus du Texas ont utilisé une méthode enzymatique faisant intervenir l'hexokinase pour le dosage ultime du glucose. Par conséquent, leurs mesures sont probablement plus exactes étant donné que l'hexokinase est adaptée pour doser le glucose dans des contenus contaminés par des pigments biliaires ; cependant nous ne savons pas si cette méthode était adaptée à des échantillons contenant un amidon résistant. Lors de la mise en place de la technique des sachets mobiles, nous avons choisi une méthode enzymatique adaptée à la fois aux amidons résistants et aux échantillons de contenus digestifs (Méthode d'Edwards légèrement modifiée par F. Kozlowski, 1995). Par conséquent, nos résultats pourront être confrontés à ceux obtenus ultérieurement par la technique des sachets mobiles (ou autre), quelles que soient les sources d'amidon qui seront testées (amidon natif ou ayant subi un traitement technologique).

Grâce au choix d'une méthode permettant de doser tout type d'amidon, les données de digestibilité antécœcale de l'amidon que nous avons obtenues par la méthode des sachets mobiles pourront servir de référence.

II.2 Digestion antécœcale de l'amidon

La digestibilité antécœcale de l'amidon est conditionnée par de nombreux paramètres de la ration (cf. Partie III de l'étude bibliographique). D'après les résultats antérieurs, il semblerait que l'influence de facteurs tels que la quantité d'amidon ingérée et le traitement technologique appliqué aux grains, soit directement conditionnée par la source d'amidon utilisée. Cependant, la difficulté de faire varier un seul facteur au sein de protocoles expérimentaux mis en place précédemment ne permet pas de hiérarchiser précisément ces

facteurs de variation. De plus leur possible interaction rend délicate la comparaison de la digestibilité antécæcale des différentes sources d'amidon. L'utilisation de la technique des sachets mobiles a permis de faire varier la quantité d'amidon ingérée ainsi que la teneur en composés pariétaux de la ration tout en testant différentes sources d'amidon. ***Les différentes sources d'amidon étant testées simultanément, la comparaison de l'aptitude à être digéré est donc possible et pertinente.***

Nos résultats ont ainsi permis de démontrer que, dans des conditions expérimentales identiques (même régime, même temps de séjour et même individu), la digestibilité antécæcale de l'amidon dépend de son origine botanique. Le classement des différentes sources d'amidon testées est conforme à celui qui pouvait être établi à partir des données de la littérature (Figure 31). Nos résultats confirment que l'amidon d'avoine présente la digestibilité antécæcale la plus élevée avec des valeurs très reproductibles d'un essai à l'autre (99 % en moyenne) ; testé dans un seul essai, la digestibilité de l'amidon de blé semble similaire à celle de l'avoine. Il est suivi par l'amidon d'orge dont les valeurs sont légèrement plus dispersées (84 % en moyenne ; amplitude 81 - 87 %) mais dont la digestibilité est néanmoins bien supérieure à celle rapportée par Meyer *et al.* (1993, 1995) (21 %) ; ces auteurs ayant travaillé avec de l'orge aplatie ou concassée, cela peut expliquer leurs digestibilités plus faibles. Néanmoins, il paraît surprenant que l'effet du traitement technologique explique à lui seul un écart de 63 points, d'autant moins qu'une digestibilité de 96 % avait été mesurée par Arnold (1982) pour de l'orge concassée. Une interférence de la méthode de dosage de l'amidon utilisée peut être supposée (cf. II.1). L'amidon de féverole, à ce jour inexploré en antécæcal chez le cheval, a une digestibilité inférieure à celle de l'orge (71 %) ; étant donné la forte teneur en protéines de cette graine, il est possible que ces composés entravent l'accessibilité des granules d'amidon et réduise ainsi leur digestibilité. Parmi les constituants traditionnels de l'alimentation du cheval, l'amidon de maïs présente généralement la digestibilité la plus faible. Contrairement, à l'avoine et à l'orge, les résultats de digestibilité de l'amidon de maïs ont été très différents d'un essai à l'autre (de 67 % à 89 %) ; ces données ayant été obtenues avec des matières premières différentes, elles sont probablement liées au rapport amylose / amylopectine ainsi qu'aux caractéristiques structurelles de l'endosperme du grain de maïs. Ces deux aspects peuvent en effet être très variables en fonction de la variété utilisée (cf. III.2.a de l'étude bibliographique). Déjà pris en considération dans la nutrition des ruminants, ces aspects nécessiteraient d'être intégrés lors de l'utilisation du maïs en alimentation équine. Enfin, l'amidon de pomme de terre présente la

plus faible digestibilité antécæcale (36 %), ce qui est conforme avec la forte teneur en amidon résistant de ce tubercule (60 % d'après Murray *et al.*, 2001). Notre résultat est cependant supérieur à celui préalablement rapporté par Meyer *et al.* (1995) (7 %). Outre la méthode de dosage de l'amidon, deux explications peuvent être proposées : premièrement, nous avons utilisé un substrat lyophilisé et broyé, ce qui a probablement favorisé la digestibilité de cet amidon par rapport à l'utilisation du tubercule entier et cru. Deuxièmement, nos animaux consommaient un aliment à base de céréales, la production d' α -amylase n'était donc pas un facteur limitant contrairement aux travaux de Meyer dont les pommes de terres constituaient la base de l'alimentation des chevaux (cf.II.2.c.2 de l'étude bibliographique).

Avec une ration de base composée d'un aliment granulé, nous n'avons pas observé d'interaction entre la composition de la ration (ratio NDF / amidon) et l'origine botanique de l'amidon, ni entre le mode de distribution de la ration (taille du repas – proximité du repas de foin) et l'origine botanique de l'amidon sur la digestibilité antécæcale de l'amidon. Pourtant, compte tenu de ce qui était décrit dans la littérature, des effets pouvaient être attendus. Il avait déjà été démontré que la composition de la ration modifie à la fois l'activité de l'écosystème intestinal (Kienzle *et al.*, 1997) (cf. I.2) et de l' α -amylase pancréatique (Radicke *et al.*, 1991; Radicke *et al.*, 1992; Kienzle *et al.*, 1994b). De plus, d'après les observations de McLean *et al.* (1999), le temps d'exposition à ces agents digestifs aurait dû interférer avec la digestibilité antécæcale de l'amidon. Des explications inhérentes au protocole expérimental peuvent être proposées pour comprendre ces résultats. Premièrement, les sources d'amidon testées dans les sachets mobiles avaient subi un broyage préalable. Par conséquent, ce traitement mécanique a facilité l'accès aux granules d'amidon et a peut-être limité (voire supprimé) l'effet des facteurs alimentaires susceptibles d'interférer sur la digestibilité de l'amidon. Deuxièmement, dans notre protocole expérimental, l'effet de la quantité d'amidon ingérée ne pouvait être dissocié du mode d'incorporation du fourrage dans la ration. D'un côté, celui qui était susceptible d'interagir négativement sur la digestion de l'amidon (ratio NDF / amidon élevé et repas de foin en brins longs proche du repas de granulé) était associé à la quantité d'amidon ingérée la plus faible (80 g / 100 kg PV). Celle-ci n'était donc pas un facteur limitant de la digestibilité antécæcale de l'amidon. De l'autre côté, le mode de rationnement regroupant le plus faible ratio NDF / amidon et la distribution de foin en brins longs la plus tardive (4 h après celle du repas d'amidon) était associé à la quantité d'amidon la plus élevée (280 g / 100 kg PV). En induisant une augmentation du temps de séjour des *digesta*, ce mode de

rationnement était susceptible de compenser une légère saturation de la digestibilité antécœcale de l'amidon. En outre, il est possible que la distribution d'aliments granulés ait permis un mélange homogène de cet aliment et des sachets avec les sécrétions digestives. Par conséquent, les conditions étaient favorables à la digestion de l'amidon. Cette impossibilité de dissocier la quantité d'amidon ingéré du mode d'incorporation du fourrage a probablement contribué à masquer l'effet du TRM des sachets dans la portion antécœcale du tube digestif.

Par ailleurs, il est possible que les fortes différences interindividuelles que nous avons observées aient masqué l'effet des facteurs de variations liés aux caractéristiques de la ration. Cet effet individu a déjà été rapporté lors d'essais antérieurs (Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993) et peut être relié en partie à des différences au niveau de l'activité α -amylasique (Radicke *et al.*, 1992). Ceci soulève le problème des données obtenues sur un petit nombre d'animaux. Enfin, il est possible que l'activité des micro-organismes et de l' α -amylase à l'intérieur des sachets soient relativement constantes quelles que soient les conditions extérieures au sachet, et ce d'autant plus que nos sachets sont de petite taille. Dans des essais *in sacco* conduits chez le ruminant, il a en effet déjà été démontré que la niche écologique à l'intérieur du sachet n'était pas le reflet fidèle de celle du rumen (Meyer et Mackie, 1986). Ceci met peut être en évidence la limite de l'utilisation des sachets mobiles pour déterminer l'influence de facteurs alimentaires qui sont extérieurs au sachet.

Les mesures réalisées grâce à la technique des sachets mobiles ont permis d'obtenir des données de digestibilité antécœcale pour des sources d'amidon encore inexplorées ou mal connues chez le cheval. Nos résultats ont mis en avant l'effet prédominant de l'origine botanique de l'amidon parmi les autres facteurs de variation de la digestibilité de ce glucide.

II.3 Partition de la digestion de l'amidon en antécœcal

L'ensemble des résultats obtenus dans la première étape de nos travaux ont démontré que, chez le cheval, la digestion de l'amidon est initiée dans l'estomac et se poursuit dans l'intestin grêle. L'étude de la partition de la digestion entre ces deux compartiments est nécessaire car elle conditionne le rendement énergétique de l'amidon ingéré. En effet, si on fait l'hypothèse que la digestion ayant lieu au niveau gastrique est essentiellement d'origine microbienne, parmi les métabolites formés, seuls le lactate et le propionate pourront fournir de l'énergie à l'animal. A l'opposé, si la digestion dans l'intestin grêle est majoritairement chimique,

l'hydrolyse de l'amidon produit essentiellement du glucose qui est directement métabolisable par l'organisme. Par conséquent, plus la contribution de l'estomac est importante, plus le rendement énergétique de l'amidon risque d'être diminué.

L'analyse des résultats obtenus sur les chevaux sacrifiés nous permet d'approcher la partition de la digestion de l'amidon entre l'estomac et l'intestin grêle. Cependant les observations sont à interpréter avec précaution car d'une part elles ont été effectuées à un temps unique, et d'autre part, les contenus digestifs ont été retenus artificiellement dans les compartiments prélevés. En particulier, nos résultats montrent qu'avec le régime incluant un repas de petit volume et riche en NDF, 78 % de la totalité de l'amidon disparu en antécæcal ont été dégradés dans l'estomac. Or, au moment où nous avons prélevé le contenu stomacal, 4:30 h après le repas, ce compartiment aurait été probablement vide si le transit avait été maintenu. Par conséquent, la contribution de l'estomac est probablement surestimée. Par contre, pour le régime incluant un gros repas riche en amidon, la contribution de l'estomac était de 68 % ; compte tenu du temps de demi vidange de ce compartiment et du moment de prélèvement, ce résultat pourrait être réaliste.

La proportion d'amidon dégradée dans l'estomac est probablement liée en partie au temps de séjour des digesta dans ce compartiment ; elle serait donc intimement liée à la vidange gastrique. Compte tenu de nos observations et de celles de Métayer et al. (2003), la contribution de l'estomac serait d'autant plus grande que la ration est pauvre en parois végétales et de gros volume ; ce mode de rationnement ne permettrait donc pas une valorisation optimale de l'énergie de l'amidon.

La partition de la digestion de l'amidon entre l'estomac et l'intestin grêle semble également conditionnée par l'origine botanique de l'amidon. En effet, comme cela a été mis en évidence (cf.I.2), la fermentescibilité de l'amidon au niveau gastrique est intimement liée à son origine botanique. L'utilisation des données de disparitions *in sacco* mesurées dans l'estomac et des données recueillies chez le ruminant, permet de révéler une corrélation positive entre la fraction d'amidon soluble (fraction « a ») et la digestibilité antécæcale de l'amidon (Figure 32). Il semblerait donc que la contribution des micro-organismes de l'estomac soit un critère déterminant l'intensité de la digestion de l'amidon en antécæcal. On constate en effet une corrélation négative entre la quantité d'amidon non dégradée au niveau gastrique et la digestibilité de l'amidon (Figure 33). Comme suggéré par Kienzle *et al.* (1997), il est probable qu'un amidon peu fermentescible sera également moins facilement hydrolysé par

l' α -amylase. Afin de favoriser la production de glucose et de limiter la dégradation microbienne dans l'estomac, il conviendrait que l'emploi des sources d'amidon facilement fermentescibles soit intégré à un mode de rationnement limitant leur temps de séjour au niveau gastrique. En outre, quand les animaux requièrent une ration très énergétique (impliquant une ingestion d'amidon supérieure à 200 g d'amidon / 100 kg PV / repas), il semble déconseillé d'utiliser une source d'amidon lent (valeur de « c » élevée) ; en effet, même si les pratiques d'alimentation favorisaient leur rétention dans l'estomac, leur digestibilité antécæcale ne serait probablement pas suffisamment améliorée pour prévenir l'arrivée d'amidon dans le gros intestin.

La détermination de la contribution de la dégradation microbienne et de l'hydrolyse enzymatique montre que le rendement énergétique de l'amidon ingéré dépend de son origine botanique. Les pratiques alimentaires devraient donc être adaptées en fonction des matières premières pour optimiser la valorisation de l'amidon.

Bien que les niveaux d'ingestion et la composition des aliments granulés soient différents, nous n'avons constaté de modification de la digestibilité de l'amidon du granulé, ni dans l'estomac, ni dans l'intestin grêle. Il semblerait donc que la distribution d'aliments granulés permette d'homogénéiser la digestibilité de l'amidon. En particulier, ce procédé technologique permettrait d'élever la limite à partir de laquelle la digestibilité antécæcale de l'amidon diminue. L'étude bibliographique a en effet placé cette limite à 200 g d'amidon / 100 kg PV / repas or notre niveau d'ingestion était proche de 300 g. ***L'incorporation de céréales dans un aliment granulé semble permettre d'augmenter la quantité d'amidon qui peut être distribuée tout en limitant celle qui sera déversée dans le gros intestin.***

Par ailleurs, l'influence de l'origine botanique de l'amidon semble se retrouver même au sein de l'aliment granulé, et en particulier au niveau gastrique. En effet, l'orge était la principale source d'amidon entrant dans la composition du granulé riche en fibres ; la digestibilité stomacale de l'amidon de ce granulé était très proche de celle de la disparition d'amidon d'orge mesurée simultanément dans les sachets mobiles (respectivement 68,6 % et 65,6 %). Le granulé riche en amidon, quant à lui était composé de quatre céréales différentes (l'avoine, le blé, le maïs et l'orge) incorporées de manière à apporter une proportion d'amidon identique. D'après les dégradabilités théoriques mesurées *in sacco* pour l'avoine, l'orge et le maïs, et la teneur en amidon soluble du blé (fraction « a » = 70 %), la dégradabilité stomacale de l'amidon du granulé est estimée à 65,6 % pour une valeur mesurée de 60,4 %. Ces résultats

sont compatibles avec le fait que la grille de broyage utilisée pour les céréales testées dans les sachets était identique à celle utilisée lors de la fabrication des aliments granulés. Ils semblent indiquer que la granulation n'a pas modifié la fermentescibilité de l'amidon broyé. Par contre, quand les mêmes extrapolations sont effectuées au niveau de l'intestin grêle, les données *in sacco* sous-estiment de 7 à 9 points la digestibilité apparente de l'amidon de l'aliment. Il semblerait donc que la granulation améliore la digestibilité enzymatique de l'amidon. Même si nous ne l'avons pas mesurée, cette amélioration est probablement liée à une gélatinisation partielle de l'amidon. La gélatinisation augmentant la solubilité de l'amidon, celui-ci est probablement entraîné avec la phase soluble des *digesta*. Étant donné la rétention fugace des liquides dans l'estomac, la dégradation microbienne serait alors limitée. En outre, la gélatinisation n'améliore peut-être pas la fermentescibilité de l'amidon chez le cheval. Il a en effet été observé que la distribution de maïs expansé permet d'améliorer fortement sa digestibilité antécæcale sans augmenter la teneur en acides organiques du contenu intestinal (Kleffken, 1993).

Nos résultats indiquent que la granulation de l'aliment permettrait de modifier la partition de la digestion de l'amidon entre l'estomac et l'intestin grêle. En particulier, la digestion dans l'intestin grêle semble améliorée alors qu'elle ne serait pas modifiée au niveau de l'estomac.

CONCLUSION GENERALE

Les travaux expérimentaux ayant fait l'objet de cette thèse ont permis de compléter les connaissances en matière de physiologie digestive chez le cheval. Nous avons montré que la partie antécæcale du tube digestif du cheval abrite une flore bactérienne nombreuse qui participe significativement à la digestion des glucides facilement fermentescibles apportés par la ration. Ces micro-organismes sembleraient initier, en particulier, la digestion de l'amidon au niveau de l'estomac ; le lactate et le propionate issus de la fermentation de l'amidon contribueraient alors à la nutrition énergétique de l'hôte. Cependant, le rendement énergétique de ces métabolites est moins élevé que celui du glucose produit dans l'intestin grêle suite à l'hydrolyse de l'amidon par l' α -amylase pancréatique. Par conséquent, afin de valoriser au mieux l'énergie fournie par l'amidon de la ration, il convient d'ajuster les pratiques alimentaires de manière à limiter la contribution de ces micro-organismes. Nous avons mis en évidence que, pour un aliment granulé, la distribution de petits repas diminue le temps de séjour des aliments dans l'estomac. De plus, l'augmentation du ratio NDF / amidon permet également de réduire la rétention gastrique des digesta et la concentration en bactéries amylolytiques (lactobacilles en particulier). En outre, nous avons vu que conformément à ce qui a été décrit dans le rumen (Sauvant *et al.*, 1994), des amidons lentement fermentescibles comme le maïs sont moins bien dégradés dans l'estomac du cheval. L'amidon serait donc mieux rentabilisé en combinant la distribution de petits repas de teneur modérée en amidon (ratio NDF / amidon = 1,82) et l'utilisation de sources d'amidon lents. Des travaux complémentaires devraient être menés pour mieux connaître l'écosystème gastrique et sa contribution dans la nutrition de l'hôte, non seulement d'un point de vue énergétique mais aussi azoté. Il conviendrait également de préciser l'implication des facteurs de variation contrôlant l'intensité de la dégradation de l'amidon au niveau stomacal, par exemple en travaillant en cinétique *in vivo* sur des chevaux vivants porteurs d'une canule gastrique ou en adaptant les méthodes *in vitro* de gas-test à partir de contenus gastriques. Une telle méthode serait en effet très utile pour pouvoir étudier la fermentescibilité de multiples sources d'amidon dans l'estomac du cheval et éventuellement confirmer l'analogie qui peut être faite avec le rumen. Enfin, il serait intéressant de pouvoir évaluer plus précisément la contribution des micro-organismes résidant dans l'intestin grêle ; cela pourrait être approché, par exemple, en adaptant spécifiquement la technique des sachets mobiles.

Nos travaux ont permis de proposer une méthode *in sacco* destinée à la mesure de la digestibilité antécæcale de l'amidon chez le cheval. Parce qu'elle est facile à mettre en œuvre, que les résultats sont reproductibles et qu'elle permet la comparaison de différentes sources

d'amidon dans des conditions rigoureusement identiques, la technique des sachets mobiles peut être proposée comme une méthode de référence. Etant donné que nous n'avons pas constaté d'effet prépondérant du régime consommé lors de l'intubation des sachets mobiles, nous recommandons le choix d'un régime pas forcément très concentré en amidon mais qui favorise le transit des sachets afin de faciliter leur récupération. Pour s'assurer de l'exactitude des mesures ultérieures réalisées à l'aide de cette méthode, il conviendrait néanmoins de choisir et de valider une source d'amidon de référence qui servirait d'étalon interne et devrait être introduite systématiquement dans chaque série testée.

Enfin, l'utilisation de la technique des sachets mobiles nous a permis de démontrer que l'origine botanique de l'amidon conditionne l'intensité de sa digestibilité antécæcale chez le cheval. Parmi les facteurs de variation de la digestion de l'amidon, il semble que le temps de séjour des aliments dans la partie antécæcale du tube digestif ait un rôle négligeable. Par ailleurs, il est apparu que certains facteurs ont un effet qui peut être localisé dans l'un des deux compartiments antécæcaux du tube digestif. Ainsi, en interférant sur la vidange gastrique, il est probable que l'effet de la taille des repas distribués soit localisé essentiellement au niveau de l'estomac. Par contre, l'effet de la quantité d'amidon ingérée sera sans doute essentiellement localisé au niveau de l'intestin grêle car il ne semble pas être un facteur limitant de la dégradation microbienne. En distribuant un aliment sous forme granulée, nous avons sélectionné un mode de distribution du fourrage qui interfère peu sur la digestion de l'amidon (les fourrages entrant dans la composition du granulé ayant été broyés lors du processus de granulation). En outre, la quantité de fourrage distribuée simultanément avec l'amidon était inférieure à 400 g / 100 kg PV / repas, cette quantité était probablement insuffisante pour observer un effet négatif du fourrage sur la digestion de l'amidon. Par conséquent des travaux complémentaires incluant des niveaux d'ingestion plus élevés et une présentation en brins longs devraient être conduits pour vérifier l'absence d'interaction négative entre la consommation de fourrage et la digestion de l'amidon. D'une manière générale, l'élaboration de protocoles expérimentaux mettant en œuvre des méthodologies complémentaires afin de mesurer simultanément la digestibilité antécæcale de l'amidon, la vidange gastrique et la réponse glycémique permettrait de préciser l'influence des différents facteurs de variation contrôlant la digestion antécæcale de l'amidon.

Enfin, cette étude a permis à la société EVIALIS d'obtenir des données de digestibilité antécæcale pour des sources d'amidon qui entrent traditionnellement dans la formulation des aliments destinés aux chevaux. Ces données pourraient servir à la mise en place d'un nouveau

critère dénommé « amidon digestible en antécæcal ». Ce paramètre pourrait être ajouté aux critères habituels (UFC et MADC). Nous recommandons son intégration dans le raisonnement et le calcul de la ration des chevaux de sport et de course car il permet d'identifier les sources d'amidon dont le niveau d'ingestion peut être augmenté pour accroître la densité énergétique de la ration, tout en préservant l'intégrité des processus de digestion ayant lieu dans la partie postérieure du tractus digestif.

Par ailleurs, des essais additionnels devront être menés pour connaître la digestibilité antécæcale de nombreuses autres sources d'amidon afin de pouvoir raisonner au mieux la formulation d'aliments pour chevaux ; le croisement de ces données avec des contraintes d'ordre économique (coût des matières premières) et géographique (disponibilité des matières premières) pourrait permettre à l'industriel de proposer des aliments « sécurisés », apportant l'énergie nécessaire tout en réduisant leur coût. Après avoir obtenu un large éventail de digestibilités antécæcales par l'intermédiaire d'une grande variété de matières premières, il sera possible de mettre au point une méthode *in vitro* capable de simuler la digestion antécæcale de l'amidon chez le cheval. Une telle méthode serait un outil précieux pour prédire la digestibilité antécæcale des matières premières reçues au niveau d'une usine de fabrication d'aliment, mais aussi pour évaluer l'effet de divers traitements technologiques sur la digestibilité de l'amidon.

L'approche expérimentale utilisée pour conduire ce travail de thèse a été pluridisciplinaire. L'obtention de données de microbiologie relatives à l'écosystème intestinal, simultanément à des informations relatives à la physiologie digestive, a permis de proposer des hypothèses explicatives sur la digestion de l'amidon dans la partie antécæcale du tube digestif du cheval. Cette approche a permis de répondre aux objectifs appliqués de l'entreprise EVIALIS en lui permettant de préciser la formulation de ses aliments et d'améliorer le conseil à ses clients. Elle a aussi permis d'ouvrir des perspectives plus fondamentales qui nécessiteront l'implication de microbiologistes et l'utilisation des outils modernes de biologie moléculaire pour mieux connaître l'écosystème antécæcal et définir précisément son implication dans la nutrition et la protection de l'hôte. Par ailleurs, nos résultats devront être approfondis en sollicitant la contribution de biochimistes et de biologistes moléculaires afin de prendre en considération la complexité de la molécule d'amidon. L'approche de ces spécialistes, en collaboration avec celle de nutritionnistes, semble en effet nécessaire à la validation des hypothèses que nous avons formulées sur la digestion antécæcale de l'amidon.

REFERENCES

- Alexander, F. 1966. A study of parotid salivation in the horse. *Journal of Physiology* **184**: 646-656.
- Alexander, F. et Benzie, G. 1951. A radiological study of the digestive tract of the foal. *Journal of Experimental Physiology* **36**: 213-217.
- Alexander, F. et Chowdhury, A. K. 1958. Enzymes in the ileal juice of the horse. *Nature* **161**: 190.
- Alexander, F. et Davies, E. 1963. Production and fermentation of lactate by bacteria in the alimentary canal of the horse and pig. *Journal of Comparative Pathology* **73**: 1-8.
- Alexander, F. et Hickson, J. C. D. 1970. The salivary and pancreatic secretion of the horse. In : *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant* (J. D. Philipson Ed.), pp. 375-389. Verlag Oriel Press, New-Castle upon Tyne.
- Alexander, F., Mac Pherson, M. et Oxford, A. E. 1952. Fermentative activities of some members of the normal coccal flora of the horses large intestine. *Journal of Comparative Pathology* **62**: 252-259.
- Almeida, F. Q., Campos Valadares Filho, S., Vieira de Almeida, M. I., Lopez Donzeles, J., Leao, M. I. et Cecon, P. R. 2001. Internal and external markers to estimate the apparent digestibility of nutrients in horses diets. *17th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 477-481. Lexington, KY.
- Almeida, F. Q., Valadares Filho, S. C., Coelho da Silva, J. F., Cecon, P. R., Donzele, J. L., Queiroz, A. C. et Leao, M. I. 1999. Flow rate of dry matter through the equine small intestine obtained with external and internal markers. *16th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 286-287. Raleigh, NC.
- Araujo, K. V., de Freitas Lima, J. A., Fialho, E. T. et Teixeira, J. C. 2001. Comparacao da tecnica do saco de nylon movel com o metodo de coleta total para determinar a digestibilidade dos nutrientes de alimentos concentrados em equinos. *Ciência e Agrotecnologia* **25**(2): 375-384.
- Araujo, K. V., de Freitas Lima, J. A., Fialho, E. T. et Teixeira, J. C. 2000a. Comparacao da tecnica do saco de nylon movel com o metodo de coleta total para determinar a digestibilidade dos nutrientes de alimentos volumosos em equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia* **29**(3): 752-761.
- Araujo, K. V., Freitas Lima, J. A., Fialho, E. T. et Sayuri Miyagi, E. 2000b. Comparação dos indicadores internos com o método de coleta total para determinar a digestibilidade dos nutrientes de dietas mistas em equinos. *Ciência e Agrotecnologia* **24**(4): 1041-1048.
- Araujo, K. V., de Freitas Lima, J. A., Teixeira, J. C., Fialho, E. T., de Oliveira, A. I. G. et de Queiroz, A. C. 1996a. Determinacao da digestibilidade aparente dos nutrientes de alguns concentrados e volumosos para equinos, pela tecnica do saco de nylon movel. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia* **25**(5): 944-956.
- Araujo, K. V., de Freitas Lima, J. A., Teixeira, J. C., Fialho, E. T., de Oliveira, A. I. G. et Queiroz, A. C. 1996b. Uso da tecnica do saco de nylon movel na determinacao da digestibilidade aparente dos nutrientes em equinos. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia* **25**(5): 957-963.
- Argenzio, R. A. 1975. Functions of the equine large intestine and their interrelationship in disease. *Cornell Veterinarian* **65**: 303-329.
- Argenzio, R. A., Southworth, M. et Stevens, C. E. 1974. Sites of organic acid production and absorption in the equine gastrointestinal tract. *American Journal of Physiology* **226**: 1043-1044.
- Arnold, F. F. 1982. Precaecal, postileal and total tract starch digestion in ponies fed corn, oats, barley or sorghum grains. *MSc, Animal Nutrition*, Texas A&M University, College Station, 44 p.
- Arnold, F. F., Potter, G. D., Kreider, J. L., Schelling, G. T. et Jenkins, W. L. 1981. Carbohydrate digestion in the small and large intestine of the equine. *7th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), Warrenton, VA.
- Bailey, S. R., Rycroft, A. et Elliot, J. 2002. Production of amines in equine cecal contents in an *in vitro* model of carbohydrate overload. *Journal of Animal Science* **80**: 2656-2662.
- Baker, S. J. et Gerring, E. L. 1993. Technique for prolonged, minimally invasive monitoring of intragastric pH in ponies. *American Journal of Veterinary Research* **54**: 1725-1734.

- Banta, C. A., Clemens, E. T., Krinsky, M. M. et Sheffy, B. E. 1979. Sites of organic acid production and patterns of digesta movement in the gastrointestinal tract of dogs. *Journal of Nutrition* **109**: 1592-1600.
- Barnes, E. M., Mead, G. C., Barnum, D. A. et Harry, E. G. 1972. The intestinal flora of the chicken in the period w to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. *British Poultry Science* **13**(3): 311-326.
- Barone, R. 1978. *Anatomie comparée des animaux domestiques*; Vigot: Lyon; Vol. Tome 3, 951 p.
- Baruc, J. C., Dawson, K. A. et Baker, J. P. 1983. The characterization and nitrogen metabolism of equine caecal bacteria. *8th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 151-156. Lexington, KY.
- Berry, C. R., Merritt, A. M. et Burrows, C. F. 1986. Evaluation of the myoelectrical activity of the equine ileum infected with *Strongylus vulgaris* larvae. *American Journal of Veterinary Research* **47**: 27-30.
- Bertone, A. L., Ralston, S. L. et Stashak, T. S. 1989. Fiber digestion and voluntary intake in horses after adaptation to extensive large-colon resection. *American Journal of Veterinary Research* **50**(9): 1628-1632.
- Bonhomme-Florentin, A. 1969. Essais de culture in vitro des Cycloposthiidae, ciliés commensaux de l'intestin du cheval. Rôle de ces ciliés dans la dégradation de la cellulose. *Protistologica* **5**: 519-522.
- Brown, K. M. 1987. Nutrient digestion in various segments of the gastrointestinal tract of ponies fed two, three or four meals per day. *MSc dissertation*, Animal Science, Texas A&M University, College Station.
- Bryant, M. P. et Burkey, L. A. 1953. Cultural methods and some characteristics of the more numerous groups of bacteria in the bovine rumen. *Journal of Dairy Science* **36**: 205-217.
- Buléon, A., Colonna, P., Le Bail, P. et Bizot, H. 2002. Structure et transitions de phase des amidons: applications à la formulation. <http://www-lagep.univ-lyon1.fr/nouveautes/casa2000actes/Buleon1.htm>.
- Cabrera, L. 1995. Contribution à l'étude de l'utilisation de l'azote alimentaire chez Equus caballus : Effet de la source azotée, du mode de distribution et de la forme de présentation du régime sur l'acidoaminémie et sur l'urémie. *Thèse de doctorat*, ENSBANA, Université de Bourgogne., DIJON, 154 p.
- Canibe, N., Steien, S. H., Overland, M. et Jensen, B. B. 2001. Effect of K-diformate in starter diets on acidity, microbiota, and the amount of organic acids in the digestive tract of piglets, et on gastric alteration. *Journal of Animal Science* **79**: 2123-2133.
- Cherian, G., Sauer, W. C. et Thacker, P. A. 1989. Factors affecting the apparent digestibility of protein for swine when determined by the mobile nylon bag technique. *Animal Feed Science and Technology* **27**: 137-146.
- Clarke, L. L., Roberts, M. C. et Argenzio, R. A. 1990. Feeding and digestive problems in horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* **6**(2): 433-449.
- Coenen, M. 1986. Beiträge zur verdauungsphysiologie des pferdes 13. Verdaulichkeit und praecaecale passage einer suspendierfähigen diät in abhängigkeit von der applikationsform (spontane und futteraufnahme bzw. flüssig per sonde). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **56**: 104-117.
- Coleman, R. J. 2001. Grain processing for horses: does it pay ? In : *Advances in Equine Nutrition II* (J. D. Pagan et R. J. Geor Eds.), pp. 57-61. Nottingham University Press, Nottingham.
- Coleman, R. J., Mathison, G. W., Ingram, J. et Bell, D. 1998. Cannulation of the distal ileum in ponies. *Canadian Journal of Animal Science* **78**: 445-447.
- Colonna, P., Buléon, A., Leloup, V., Thibault, J.-F., Renard, C., Lahaye, M. et Viroben, G. 1995. Constituant des céréales, des graines, des fruits et de leurs sous-produits. In : *Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion* (R. Jarrige, Y. Ruckebush, C. Demarquilly, M.-H. Farce et M. Journet Eds.), pp. 83-121. INRA, Paris.
- Combrisson, H. 1991. La digestion chez le cheval. *1er Congrès de médecine équine sur l'alimentation du cheval*. pp. 1-10. Centre médico-sportif équestre, Gramat.
- Counotte, G. H. M., Lankhorst, A. et Prins, R. A. 1983. Role of DL-lactic acid as an intermediate in rumen metabolism of dairy cows. *Journal of Animal Science* **56**(5): 1222-1235.

- Crandell, K. 2002. Trends in feeding the american endurance horse. *Equine Nutrition Conference: Nutrition of the performance horse - An international perspective* (KER Ed.), pp. 135-138. Lexington, KY.
- Cuddeford, D. et Hughes, D. 1990. A comparison between chromium-mordanted hay and acid-insoluble ash to determine apparent digestibility of a chaffed, molassed hay/straw mixture. *Equine Veterinary Journal* **22**(2): 122-125.
- Cuddeford, D., Pearson, R. A., Archibald, R. F. et Muirhead, R. H. 1995. Digestibility and gastrointestinal transit time of diet containing different proportions of alfalfa and oat straw given to Thoroughbreds, Shetland ponies, Highland ponies and donkeys. *Journal of Animal Science* **61**: 407-417.
- Davies, E. 1964. Cellulolytic bacteria isolated from the large intestine of the horse. *Journal of Applied Bacteriology* **27**(3): 373-378.
- Davies, J. V. et Gerring, E. L. 1983. Electromechanical activity of the small intestine and its correlation with transit of fluid through Thiry-Vella loops. *Research in Veterinary Science* **34**: 327-333.
- Dawson, K. A., Hopkins, D. M., Lawrence, L., Drouet, N., Drogoul, C. et Julliand, V. 1999. Effects of dietary barley on the composition and activities of the cecal microbial populations in ponies. *16th Equine Nutrition and Physiology Society* (ENPS Ed.), pp. 355-356. Raleigh, NC.
- de Fombelle, A. 2000. Mise en place de la technique des sachets de nylon mobiles chez le cheval en vue de la mesure de la digestibilité antécaecale de l'amidon. *DEA Thesis, Nutrition: Aspects Moléculaires et cellulaires*, Université Marseille II et III, Marseille, 16 p.
- de Fombelle, A., Frumholtz, P., Poillion, D., Drogoul, C., Phillipeau, C., Jacotot, E. et Julliand, V. 2001a. Effect of the botanical origin of starch on its prececal digestibility measured with the mobile bag technique. *17th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 153-155. Lexington, KY.
- de Fombelle, A., Goachet, A.-G., Varloud, M., Boisot, P. et Julliand, V. 2003a. Effect of the diet on prececal digestion of different starches in the horse measured with the mobile bag technique. *18th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 115-116. Lansing, MI.
- de Fombelle, A., Julliand, V., Drogoul, C. et Jacotot, E. 2001b. Feeding and microbial disorder: 1-Effects of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profiles and activities. *Journal of Equine Veterinary Science* **21**(9): 439-444.
- de Fombelle, A., Varloud, M., Goachet, A.-G., Jacotot, E., Phillipeau, C., Drogoul, C. et Julliand, V. 2003b. Characterisation of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses fed two distinct diets. *Animal Science Accepted*.
- de Lange, C. F. M., Sauer, W. C., den Hartog, L. A. et Huisman, J. 1991. Methodological studies with the mobile nylon bag technique to determine protein and energy digestibilities in feedstuffs for pigs. *Livestock Production Science* **29**: 213-225.
- Drogoul, C. 2000. Contribution à l'étude du fonctionnement de l'écosystème intestinal des équidés: Influence de la granulométrie du fourrage sur la digestion des parois végétales chez le poney en relation avec les modifications du transit et de l'activité fibrolytique des écosystèmes caecal et colique. *thèse de doctorat*, Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé, Université de Bourgogne, Dijon, 169 p.
- Drogoul, C., de Fombelle, A. et Julliand, V. 2001. Feeding and microbial disorder in horses: 2-Effects of three hay:grain ratios on digesta passage flow rate and digestibility in ponies. *Journal of Equine Veterinary Science* **21**(10): 487-490.
- Drogoul, C., Faurie, F. et Tisserand, J. L. 1995. Estimation of the contribution of the pony's colon in fibre digestion : a methodological approach. *Annales de Zootechnie* **44**(suppl.): 182.
- Drogoul, C., Poncet, C. et Tisserand, J.-L. 2000. Feeding ground and pelleted hay to ponies as the only source of fibre supply. 1. Consequences for *in vivo* digestibility and rate of passage of digesta. *Animal Feed Science and Technology* **87**: 117-130.
- Duprat, F., Gallant, D., Guilbot, A., Mercier, C. et Robin, J. P. 1980. L'amidon. In : *Les polymères végétaux, polymères pariétaux et alimentaires non azotés* (B. Montiers Ed.), pp. 176-231. Gauthier-Villards.

- Dyer, J., Fernandez-Castano Merediz, E., Salmon, K. S. H., Proudman, C. J., Edwards, G. B. et Shirazi-Beechey, S. P. 2002. Molecular characterization of carbohydrate digestion and absorption in equine small intestine. *Equine Veterinary Journal* **34**(4): 349-358.
- Eckersall, P. D. 1984. Equine whole saliva: a sample collection system and biochemical analysis. *The Veterinary Record* **115**: 437-438.
- Eckersall, P. D., Aitchison, T. et Colquhoun, K. M. 1985. Equine whole saliva: variability of some major constituents. *Equine Veterinary Journal* **17**(5): 391-393.
- Espinasse, J., Kuiper, R. et Schelcher, F. 1995. Physiopathologie du complexe gastrique. In : *Nutrition des ruminants domestiques - Ingestion et digestion* (R. Jarrige, Y. Ruckebusch, C. Demarquilly, M.-H. Farce and M. Journet Eds.), pp. 805-852. INRA, Paris.
- Fahrenholtz, C. 1994. Cereal grains and byproducts: what's in them and how are they processed? In : *Advances in Equine Nutrition* (J. D. Pagan Ed.), pp. 57-70. Nottingham University Press, Nottingham.
- Faichney, G. J. 1975. The use of markers to partition digestion within the gastrointestinal tract of ruminants. In : *Digestion and metabolism in the ruminant* (I. W. Mc Donald et A. C. I. Warner Eds.), pp. 276-291. The university of New England Publishing Unit., Armidale, NSW.
- Fan, M. Z., Sauer, W. C., Hardin, R. T. et Lien, K. A. 1994. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in pigs: effect of dietary amino acid level. *Journal of Animal Science* **72**: 2851-2859.
- Franklin, M. A., Mathew, A. G., Vickers, J. R. et Clift, R. A. 2002. Characterization of microbial populations and volatile fatty acid concentrations in the jejunum, ileum, and cecum of pigs weaned at 17 vs 24 days of age. *Journal of Animal Science* **80**: 2904-2910.
- Freeman, D. E. 1997. Overview of gastrointestinal physiology. *5th Congress of Equine Medicine and surgery proceedings*. pp. 15-21. Geneva.
- French, D. 1973. Chemical and physical properties of starch. *Journal of Animal Science* **37**(4): 1048-1061.
- Frydrych, Z. 1992. Intestinal digestibility of rumen undegraded protein of various feeds as estimated by the mobile bag technique. *Animal feed science and technology* **37**: 161-172.
- Fujisawa, T., Itoh, K. et Mitsuoka, T. 1993. Lactobacilli in the alimentary tract of horses. *Bifidobacteria Microflora* **12**(2): 87-90.
- Fuwa, H., Sugimoto, Y., Tanaka, M. et Glover, D. V. 1978. Susceptibility of various starch granules to amylases as seen by scanning electron microscope. *Starch* **30**: 186-191.
- Gallagher, K., Leech, J. et Sowe, H. 1992a. Protein, energy and dry matter consumption by racing standardbreds: a field survey. *Journal of Equine Veterinary Science* **12**: 382-388.
- Gallagher, K., Leech, J. et Sowe, H. 1992b. Protein, energy and dry matter consumption by racing thoroughbreds: a field survey. *Journal of Equine Veterinary Science* **12**: 43-48.
- Gallant, D. J., Bouchet, B., Buléon, A. et Pérez, S. 1992. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. *European Journal of Clinical Nutrition* **42**(Suppl. 2): S3-S16.
- Garner, H. E., Moore, J. N., Johnson, J. H., Clark, L., Amend, J. F., Tritschler, L. G. et Coffman, J. R. 1978. Changes in the caecal flora associated with the onset of laminitis. *Equine Veterinary Journal* **10**(4): 249-252.
- Gerhards, H., Radicke, S. et Hipp, K. 1991. Anlage, Pflege und Nutzung von Dünndarmfisteln bei Ponys. *Pferdeheilkunde* **7**: 243-248.
- Goodson, J., Tyznik, W. J., Cline, J. H. et Dehority, B. A. 1988. Effects of an abrupt diet change from hay to concentrate on microbial numbers and physical environment in the cecum of the pony. *Applied Environmental Microbiology* **54**(8): 1946-1950.
- Graham, H., Fadel, J. G., Newman, C. W. et Newman, R. K. 1989. Effect of pelleting and b-glucanase supplementation on the ileal and fecal digestibility of a barley-based diet in the pig. *Journal of Animal Science* **67**: 1293-1298.

- Guilloteau, P., Le Huerou-Luron, I., Quillet, J. et Toullec, R. 1994. Les sécrétions digestives et leur régulation chez le jeune veau préruminant. *INRA Productions Animales* **7**(2): 85-95.
- Gusils, C., Gonzales, S. N. et Oliver, G. 1999. Some probiotic properties of chicken lactobacilli. *Canadian Journal of Microbiology* **45**(12): 981-987.
- Halliwell, G. et Bryant, M. P. 1963. The cellulolytic activity of pure culture strains of bacteria from the rumen of cattle. *Journal of Generic Microbiology* **32**: 441-448.
- Han, M. S. et Froseth, J. A. 1995. The use of a mobile Nylon bag technique with dual-cannulated pigs in feed digestibility studies. *Journal of Animal Science Supplement 1*: 157.
- Hardy, J., Parmentier, M. et Fanni, J. 1999. Functionality of nutrients and thermal treatments of food. *Food technology: can it alter the functionality of nutrients* (Nutrition Society Ed.), pp. 579-585. Nancy, France.
- Healy, H. P., Siciliano, P. D. et Lawrence, L. M. 1995. Effect of concentrate form on blood and gastric fluid variables in ponies. *Journal of Equine Veterinary Science* **15**(10): 423-428.
- Herd, R. 1992. Choosing the optimal equine anthelmintic. *Veterinary and Medicine* **87**(3): 232-239.
- Hinckle, D. K., Potter, G. D. et Kreider, J. L. 1983. Starch digestion in different segments of the digestive tract of ponies fed varying levels of corn. *8th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 227. Lexington, KY.
- Hintz, H. F., Argenzio, R. A. et Schryver, H. F. 1971a. Digestion coefficients, blood glucose levels and molar percentage of volatile acids in intestinal fluid of ponies fed varying forage-grain ratios. *Journal of Animal Science* **33**(5): 992-995.
- Hintz, H. F., Hogue, D. E., Walker, E. F., Lowe, J. E. et Schryver, H. F. 1971b. Apparent digestion in various segment of the digestive tract of ponies fed with varying roughage-grain ratios. *Journal of Animal Science* **32**(2): 245-248.
- Holm, J., Asp, N.-G. et Björk, I. 1897. Factors affecting enzymatic degradation of cereal starches *in vitro* and *in vivo*. *Cereals in European context: 1st European Conference on Food Science and Technology* (I. D. Morton Ed.), pp. 169-187. Chichester, U.K.
- Holm, J., Björck, I., Asp, N. G., Sjöberg, L. B. et Lundquist, I. 1985. Starch availability *In vitro* and *In vivo* after flaking, steam-cooking and popping of wheat. *Journal of Cereal Science* **3**: 193-206.
- Holm, J., Björck, I., Ostrowska, S., Eliasson, A. C., Asp, N.-G., Larsson, K. et Lundquist, I. 1983. Digestibility of amylose/lipid complexes *in vitro* and *in vivo*. *Starch* **35**: 294-297.
- Householder, D. D. 1978. Precaecal, postileal et total tract digestion and growth performance in horses fed concentrate rations containing oats or sorghum grain processed by crimping or micronizing. *Ph.D. Diss.*, Animal Nutrition, Texas A&M University, College Station, 124 p.
- Huang, S. X., Sauer, W. C., Pickard, M., Li, S. et Hardin, R. T. 1998. Effect of micronization on energy, starch and amino acid digestibility in hullless barley for young pigs. *Canadian Journal of Animal Science* **78**: 81-87.
- Hubener, K., Vahjen, W. et Simon, O. 2002. Bacterial responses to different dietary cereal types and xylanase supplementation in the intestine of broiler chicken. *Archiva fur Tierernahrung* **56**(3): 167-187.
- Huhtanen, P., Kaustell, K. et Jaakkola, S. 1994. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Animal Feed Science and Technology* **48**: 211-227.
- Hume, I. D. et Sakagushi, E. 1991. Patterns of digesta flow and digestion in foregut and hindgut fermenters. *7th International Symposium on ruminant physiology* (Academic press Inc. Ed.), pp. 427-451.
- Hutchens, D. E., Paul, A. J. et di Pietro, J. A. 1999. Treatment and control of gastrointestinal parasites. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* **15**(3): 561-573.
- Hyslop, J., Cuddeford, D., Moore-Colyer, M. et Longland, A. C. 1998. The degradation of organic matter and crude protein of four botanically diverse feedstuffs in the foregut of ponies, as measured by the mobile bag technique. *British Society of Animal Science-Annual meeting* (BSAS Ed.), pp .

- Hyslop, J. J. 2002. Voluntary feed intake, apparent digestibility and nutritive values in ponies given *ad libitum* access to complete pelleted diets containing different levels of unmolassed sugar beet pulp. *British Society of Animal Science* (BSAS Ed.), pp. 32.
- Illenseer, M. 1994. Praeileale Verdaulichkeit von Hafer-, Kartoffel- und Maniok-rationen beim Pferd. *Doctor Medicinae Veterinariae*, Institut für Tierernährung, Tierärztlichen Hochschule Hannover, Hannover, 129 p.
- Jarosz, L., Weisbjerg, M. R., Hvelplund, T. et Borg Jensen, B. 1991. Digestibility of nitrogen and 15N from different roughages in the lower gut of cows estimated with the mobile nylon bag procedure. *6th International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition*. pp. 113-115. Herning, Denmark.
- Jensen, B. B. 1988. Effect of diet composition and virginiamycin on microbial activity in the digestive tract of pigs. *Digestive physiology in the pig. 4th International Seminar* (L. Buraczewska, S. Buraczewski, B. Pastuszewska et T. Zebrowska Eds.), pp. 392-400. Jablona, Poland.
- Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., Ali, M. A. et Jalaludin, S. 1996. Antagonistic effects of intestinal Lactobacillus isolates on pathogens of chicken. *Letters in Applied Microbiology* **23**(2): 67-71.
- Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N. et Jalaludin, S. 1998. Lack of influence of adherent Lactobacillus isolates on the attachment of Escherichia coli to the intestinal epithelial cells of chicken in vitro. *Journal of Applied Microbiology* **84**(6): 1171-1174.
- Jouany, J. P. 1982. Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Sciences des Aliments* **2**: 131-144.
- Jourda de Vaux, A. 1997. Etude de la cellulolyse bactérienne dans le caecum des équidés : Variation de la population bactérienne liée à l'âge et à l'alimentation, Caractérisation de l'espèce bactérienne dominante, Interaction avec une espèce non cellulolytique caecale. *Thèse de doctorat 3ème cycle*, ENSBANA, Université de Bourgogne, Dijon, 180 p.
- Julliand, V. 1996. Etude de l'écosystème cæcal des équidés : aptitude à dégrader les polyosides pariétaux, Caractérisation quantitative et qualitative des flores cellulolytiques bactériennes et fongiques dominantes. *Thèse de doctorat 3ème cycle*, ENSBANA, Université de Bourgogne, Dijon, 121 p.
- Julliand, V., De Fombelle, A., Drogoul, C. et Jacotot, E. 2001. Feeding and microbial disorders in horses : 3-effects of three hay : grain ratios on microbial profile and activities. *Journal of Equine Veterinary Science* **21**(11): 543-546.
- Julliand, V., de Vaux, A., Millet, L. et Fonty, G. 1999. Identification of *Ruminococcus flavefaciens* as the predominant cellulolytic bacterial species of the equine cecum. *Applied and Environmental Microbiology* **65**: 3788-3741.
- Kamphues, J. 1992. "Lipopolysaccharides in the alimentary tract of ponies fed hay or a concentrate ration". *I. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes - Physiologie und Pathologie des Verdauungskanals - Konsequenzen für die Ernährung* (Pferdeheilkunde Ed.), pp. 59-62. Hannover.
- Kern, D. L., Slyter, L. L., Leffel, E. C., Weaver, J. M. et Oltjen, R. R. 1974. Ponies Vs. steers: microbial and chemical characteristics of intestinal ingesta. *Journal of Animal Science* **38**(3): 559-564.
- Kern, D. L., Slyter, L. L., Weaver, J. M., Leffel, E. C. et Samuelson, G. 1973. Pony cecum Vs. Steer rumen: the effect of oats and hay on the microbial ecosystem. *Journal of Animal Science* **37**(2): 463-469.
- Kienzle, E. 1993. Carbohydrate metabolism of the cat 1. Activity of amylase in the gastrointestinal tract of the cat. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **69**: 92-101.
- Kienzle, E. 1994. Small intestinal digestion of starch in the horse. *Revue de Médecine Vétérinaire* **145**(2): 199-204.
- Kienzle, E., Pohlenz, J. et Radicke, S. 1997. Morphology of starch digestion in the horse. *Journal of Veterinary Medicine* **44**: 207-221.
- Kienzle, E., Radicke, S., Landes, D., Kleffken, D., Illenseer, M. et Meyer, H. 1994. Activity of amylase in the gastrointestinal tract of the horse. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **72**: 234-241.

- Kienzle, E., Radicke, S., Wilke, S., Landes, E. et Meyer, H. 1992. Paeileale stärkeverdauung in abhängigigkeit von stärkeart und -zubereitung. *Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes* (Pferdeheilkunde Ed.), pp. 103-106. Hannover.
- Kitchen, D. L., Burrow, J. A., Heartless, C. S. et Merritt, A. M. 2000. Effect of pyloric blockage and infusion of histamine or pentagastrin on gastric secretion in horses. *American Journal of Veterinary Research* **61**(9): 1133-1139.
- Kleffken, D. 1993. Praeileale Verdauung von Getreidestärke (Gerste / Mais) in Abhängigkeit von Zubereitung, Rauhfutterangebot und Amylasezusatz beim Pferd. *Doctor Medicinae Veterinariae*, Institut für Tierernährung, Tierärztlichen Hochschule Hannover, Hannover, 115 p.
- Klingeberg-Kraus, S. 2001. Beitrag zur ernährungsforschung bei pferden bis 1950 (verdauungsphysiologie, energie- und eiweibstoffwechsel). *Doktorin der Veterinärmedizin*, Institut für Tierernährung, Tierärztlichen Hochschule Hannover, Hannover, 310 p.
- Knudsen, K. E. B., Jensen, B. B., Andersen, J. O. et Hansen, I. 1991. Gastrointestinal implications in pigs of wheat and oat fractions. 2. Microbial activity in the gastrointestinal tract. *British Journal of Nutrition* **65**(2): 233-248.
- Kolb, E. 1975. Physiologie de la digestion et de l'absorption. In : *Physiologie des animaux domestiques*, pp. 206-334. Vigot Frères, Paris.
- Kollarczik, B., Enders, C., Friedrich, M. et Gedek, B. 1992. "Effect of diet composition on microbial spectrum in the jejunum of horses". 1. *Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes - Physiologie und Pathologie des Verdauungskanals - Konsequenzen für die Ernährung* (Pferdeheilkunde Ed.), pp. 49-54. Hannover.
- Kotarski, S. F., Waniska, R. D. et Thurn, K. K. 1992. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *Journal of Nutrition* **122**: 178-190.
- Kozlowski, F. 1994. L'amidon, quel dosage pour quel échantillon ? *Cahiers Techniques de l'INRA* **35**: 5-22.
- Landes, E. et Meyer, H. 1998. "Influence of fat on feed intake and microbial activity in the stomach and small intestine in the horse". *Pferdeheilkunde* **14**(1): 51-58.
- Laplace, J. P., Aumaître, A. A. et Rérat, A. 2001. Digestive physiology in the pig: 40 of research in France. In : *Digestive physiology of pigs* (J. E. Lindberg et B. Ogle Eds.), pp. 317-326.
- Leão, M. I., Almeida, F. Q., Carvalho, A. U., Valadares Filho, S. C., Oliveira, A. A. M. A. et Alvarenga, R. C. 1999. Technique for long-term ileal cannulation in horses. *16th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 288-293. Raleigh, NC.
- Leedle, J. A. Z. et Hespell, R. E. 1980. Differential carbohydrate media and anaerobic replica plating techniques in delineating carbohydrate-utilizing subgroups in rumen bacteria populations. *Applied and Environmental Microbiology* **34**: 709-719.
- Lindberg, J. E. 1981. The effect of sample size and sample structure on the degradation of dry matter, nitrogen and cell walls in nylon bags. *Swedish Journal of Agricultural Research* **11**: 71-76.
- Longland, A. C., Moore-Colyer, M., Hyslop, J. J., Dhanoa, M. S. et Cuddeford, D. 1997. Comparison of the *in sacco* degradation of the non-starch polysaccharide and neutral detergent fibre fractions of four sources of dietary fibre by ponies. *15th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 120-121. Forth-Worth, TX.
- Lorenzo-Figueras, M., Jones, G. et Merritt, A. M. 2002. Effects of various diets on gastric tone in the proximal portion of the stomach of horses. *American Journal of Veterinary Research* **63**(9): 1275-1278.
- Macheboeuf, D., Marangi, M., Poncet, C. et Martin-Rosset, W. 1995. Study of nitrogen digestion from different hays by the mobile nylon bag technique in horses. *Annales de Zootechnie* **44**(Supplement): 219.
- Macheboeuf, D., Poncet, C., Jestin, M. et Martin-Rosset, W. 1996. Use of a mobile nylon bag technique with caecum fistulated horses as an alternative method for estimating precaecal and total tract nitrogen digestibilities of feedstuffs. *EAAP-47th Annual meeting* (BSAS Ed.), pp. 296. Lillehammer.

- Macheboeuf, D., Poncet, C., Dardillat, C. et Martin-Rosset, W. 1997a. Adaptation de la technique des sachets de nylon mobiles pour estimer la digestibilité précaecale et totale de l'azote chez le cheval. 1- Facteurs de variation liés à l'animal.
- Macheboeuf, D., Poncet, C., Jestin, M. et Martin-Rosset, W. 1997b. Adaptation de la technique des sachets de nylon mobiles pour estimer la digestibilité précaecale et totale de l'azote chez le cheval. 2- Facteurs liés au sachet.
- Macheboeuf, D., Poncet, C., Jestin, M. et Martin-Rosset, W. 2003. Mobile Nylon bag technique (MNBT) in caecum fistulated horses as an alternative method for estimating precaecal and total tract nitrogen digestibilities of feedstuffs. *18th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 347-351. East Lansing, MI.
- Mackie, R. I. et Heath, A. B. 1979. Enumeration and isolation of lactate-utilizing bacteria from the rumen of sheep. *Applied and Environmental Microbiology* **38**(3): 416-421.
- Mackie, R. I. et Wilkins, C. A. 1988. Enumeration of anaerobic bacterial microflora of the equine gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology* **54**(9): 2155-2160.
- Martin-Rosset, W. 1990. *L'alimentation des chevaux*. Techniques et Pratiques. , 232 p., INRA, Paris.
- Martin-Rosset, W., Vermorel, M., Doreau, M., Tisserand, J. L. et Andrieu, J. 1994. The French horse feed evaluation systems and recommended allowances for energy and protein. *Livestock Production Science* **40**: 36-56.
- Massey, K. J., Potter, G. D., Schelling, G. T. et Jenkins, W. L. 1985. Prececal, postileal and total tract starch digestion in ponies fed at varying intervals. *9th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 42-45. East Lansing, MI.
- McLean, B. M. L., Hyslop, J. J., Longland, D., Cuddeford, D. et Hollands, T. 1999. Developement of the mobile bag technique to determine the degradation kinetics of purified starch sources in the pre-caecal segment of the equine digestive tract. *British Society of Animal Science-Annual meeting* (BSAS Ed.), pp. 138. Scarborough.
- Medina, B. 2003. Effets de la culture de levures vivantes Yea SaccR1026 (CBS 493.94), en fonction de deux ratios luzerne/orge dans un aliment complet granulé, sur le fonctionnement de l'écosystème intestinal du cheval. *Sciences de l'alimentation - nutrition animale*, Université de Bourgogne, Dijon, 159 p.
- Medina, B., Drogoul, C. et Julliard, V. 2002a. Pratiques alimentaires et transit digestif. *28ème journée de la recherche équine* pp. 91-102. Les Haras Nationaux, Paris.
- Medina, B., Girard, I. D., Jacotot, E. et Julliard, V. 2002b. Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profile and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. *Journal of Animal Science* **80**: 2600-2609.
- Melcion, J.-P. 2000. La granulométrie de l'aliment: principe, mesure et obtention. *INRA Production Animales* **13**(2): 81-97.
- Merritt, A. M. 1999. Normal equine gastroduodenal secretion and motility. *Equine Veterinary Journal* **29**(Supplement): 7-13.
- Merritt, A. M., Campbell-Thompson, M. L. et Lowrey, S. 1989. Effect of xylazine treatment on equine proximal gastrointestinal tract myoelectrical activity. *American Journal of Veterinary Research* **50**: 945-949.
- Métayer, N., L'hôte, M., Bahr, A., Cohen, N. D., Kim, I., Roussel, A. J. et Julliard, V. 2003. Meal size and starch content affect gastric emptying in horses. *Equine Veterinary Journal* **Accepted**.
- Metges, C. C. 2000. Contribution of microbial amino acids to amino acid homeostasis of the host. *Journal of Nutrition* **130**: 1857S-1864S.
- Meyer, H., Coenen, M. et Probst, D. 1986. Beiträge zur verdauungsphysiologie des pferdes 14. Futtereinspeichelung und -passage im kopfdarm des pferdes. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **56**(3): 171-183.

- Meyer, H., Radicke, S., Kienzle, E., Wilke, S., Kleffken, D. et Illenseer, M. 1995. Investigations on preileal digestion of starch from grain, potato and manioc in horses. *Journal of Veterinary Medicine* **42**: 371-381.
- Meyer, H., Radicke, S., Kienzle, H., Wilke, S. et Kleffken, D. 1993. Investigations on preileal digestion of oats, corn, and barley starch in relation to grain processing. *13th Equine Nutrition and physiology symposium* (ENPS Ed.), pp. 92-97. Gainesville, FL.
- Michalet-Doreau, B. et Cerneau, P. 1992. Influence de la finesse de broyage des aliments sur l'importance des pertes en particules dans la technique in sacco. *Annales de Zootechnie* **41**: 13-14.
- Michalet-Doreau, B. et Doreau, M. 1999. Maize genotype and ruminant nutrition. *Science des Aliments* **19**(3/4): 349-365.
- Michalet-Doreau, B., Vérité, R. et Chapoutot, P. 1987. Méthodologie de mesure de la dégradabilité in sacco de l'azote des aliments dans le rumen. *Bulletin technique C.R.Z.V. Theix, INRA* **69**: 5-7.
- Miraglia, N., Bergero, D., Bassano, B., Tarantola, M. et Ladetto, G. 1999. Studies of apparent digestibility in horses and the use of internal markers. *Livestock Production Science* **60**: 21-25.
- Moore-Colyer, M., Hyslop, J. J., Longland, A. C. et Cuddeford, D. 1997. Degradation of four dietary fiber sources by ponies as measured by the mobile bag technique. *15th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 118-119. Forth-Worth, TX.
- Moore-Colyer, M. J. S., Hyslop, J. J., Longland, A. C. et Cuddeford, D. 1999. *In vivo* apparent digestibility of proximate constituents and non-starch polysaccharides in ponies offered botanically diverse fibre based diets. *British Society of Animal Science* (BSAS Ed.), pp. 139. Scarborough, UK.
- Moore-Colyer, M. J. S., Hyslop, J. J., Longland, A. C. et Cuddeford, D. 2002. The mobile bag technique as a method for determining the degradation of four botanically diverse fibrous feedstuffs in the small intestine and total digestive tract of ponies. *British Journal of Nutrition* **88**: 729-740.
- Morris, V. K., Kaihilahti, L., Girvan, M., Ball, A. S. et Hill, J. 2002. Chemical composition of digesta and microbial diversity in the fore stomach of the horse. *53rd EAAP meeting* (EAAP Ed.), pp. . Cairo, Egypt.
- Morris, V. K., Kaihilahti, L., Girvan, M., Ball, A. S. et Hill, J. 2003. Chemical composition of digesta and application of denaturing gradient gel electrophoresis to characterise microbial diversity in the fore-stomach of the horse. *Animal Science Soumis*.
- Morrow, H. J., Moore-Colyer, M. J. S. et Longland, A. C. 1999. The apparent digestibilities and rates of passage of two chop lengths of big bale silage and hay in ponies. *British Society of Animal Science* (BSAS Ed.), pp. 142. Scarborough, UK.
- Muir, J. G. et O'Dea, K. 1992. Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion *in vitro*. *American Journal of Clinical Nutrition* **56**: 123-127.
- Muir, J. G. et O'Dea, K. 1993. Validation of an *in vitro* assay for predicting the amount of starch that escapes digestion in the small intestine of humans. *American Journal of Clinical Nutrition* **57**: 540-546.
- Murray, M. J. et Schusser, G. F. 1993. Measurement of 24-H gastric pH using an indwelling pH electrode in horses unfed, fed and treated with ranitidine. *Equine Veterinary Journal* **25**: 417-421.
- Murray, S. M., Flickinger, E. A., Patil, A. R., Merchen, N. R., Brent Jr, J. L. et Fahey Jr, G. C. 2001. *In vitro* fermentation characteristics of native and processed cereal grains and potato starch using ileal chyme from dogs. *Journal of Animal Science* **79**: 435-444.
- Muuss, H., Meyer, H. et Schmidt, M. 1982. Entleerung und Zusammensetzung des Ileumchymus beim Pferd. *Fortschritte in der Tierphysiologie und Tierernahrung* **13**: 13-23.
- Nadeau, J. A. 2001. Pathogenesis of acid injury in the non-glandular region of the equine stomach: implication in gastric ulcer disease. *Ph.D dissertation*, Animal Science, University of Tennessee, Knoxville, 182 p.
- Nadeau, J. A., Andrews, F. M., Mathew, A. G., Argenzio, R. A. et Blackford, J. T. 1997. Volatile fatty acid concentrations in the stomach of horses: a pilot study. *15th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 420-421. Fort-Worth, TX.

- Nadeau, J. A., Andrews, F. M., Mathew, A. G., Argenzio, R. A. et Blackford, J. T. 1999. Implications of diet in the cause of gastric ulcer disease in horses. *16th ENPS Symposium* Ed.), pp. 20-21. Raleigh, N.C.
- Nyberg, M. A., Potter, G. D., Gibbs, P. G., Schumacher, J., Murray-Gerzik, M., Bombarda, A. et Swinney, D. L. 1995. Flow rate through the equine small intestine determined with soluble and insoluble indicators. *14th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 36-41. Ontario, CA.
- Orpin, C. G. 1981. Isolation of cellulolytic phycomycete fungi from the caecum of the horse. *Journal of Generic Microbiology* **123**: 287-296.
- Pagan, J. D., Harris, P., Brewster-barnes, T., Duren, S. E. et Jackson, S. G. 1998. Exercise affects digestibility and rate of passage of all-forage and mixed diets in thoroughbred horses. *Journal of nutrition* **128**: 2704S-2707S.
- Palmgren Karlsson, C., Lindberg, J. E. et Rundgren, M. 2000. Associative effect on total tract digestibility in horses fed different ratios of grass hay and whole oats. *Livestock Production Science* **65**: 143-153.
- Peloso, J. G., Schumacher, J., McClure, S. R., Crabill, M. R., Hanselka, D. V., Householder, D. D. et Potter, G. D. 1994. Technique for long-term ileal cannulation in ponies. *Canadian Journal of Veterinary Research* **58**: 181-184.
- Pereira, J. C., Carro, M. D., Gonzalez, J., Alvir, M. R. et Rodriguez, C. A. 1998. Rumen degradability and intestinal digestibility of brewers' grains as affected by origin and heat treatment and of barley rootlets. *Animal Feed Science and Technology* **74**(2): 107-121.
- Pettersson, A. et Lindberg, J. E. 1997. Ileal and total tract digestibility in pigs of naked and hulled barley with different starch composition. *Animal Feed Science and Technology* **66**: 97-109.
- Phaneuf, L. P. et Ruckebusch, Y. 1983. Physiological, pharmacological and therapeutic aspects of some gastrointestinal disorders in the horse. In : *Veterinary Pharmacology and Toxicology* (Y. Ruckebusch, P. L. Toutain et G. D. Koritz Eds.), pp. 371-380. MTP press, Lancaster, England.
- Philippeau, C., Landry, J. et Michalet-Doreau, B. 1998. Influence of the biochemical and physical characteristics of the maize grain on ruminal starch degradation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **46**: 4287-4291.
- Philippeau, C. et Michalet-Doreau, B. 1997. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. *Animal Feed Science and Technology* **68**: 25-35.
- Potter, G. D., Arnold, F. F., Householder, D. D., Hansen, D. H. et Brown, K. M. 1992. Digestion of starch in the small or large intestine of the equine. *Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes* (Pferdeheilkunde Ed.), pp. 107-111. Hannover.
- Radecki, S. V. et Yokoyama, M. T. 1991. Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition. In : *Swine nutrition* (E. R. Miller, D. E. Ullrey et A. J. Lewis Eds.), pp. 439-447. Butterworth Heinemann, Boston.
- Radicke, S., Kienzle, E. et Meyer, H. 1991. Preileal apparent digestibility of oats and corn starch and consequences for cecal metabolism. *12th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed. Eds.), pp. 43-48. , Calgary, Canada.
- Radicke, S., Landes, E., Kienzle, E. et Meyer, H. 1992. Aktivität der Amylase im Darmkanal des Pferdes in Abhängigkeit von der Futterart. *Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes* (Pferdeheilkunde Ed.), pp. 99-102. Hannover.
- Reiwald, D. et Riond, J.-L. 2002. Aliments et techniques d'alimentation du cheval en Suisse: interprétation des résultats d'un questionnaire *Revue Suisse d'agriculture* **34**(4): 191-196.
- Respondek, F., Lambey, J. L., Drogoul, C. et Julliard, V. 2003. Feeding practices in racehorses stables in France. *18th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 244-246. East Lansing, MI.
- Roberts, M. C. 1974. Amylase activity in the small intestine of the horse. *Research in Veterinary Science* **17**: 400-401.
- Roberts, M. C. 1975. Carbohydrate digestion and absorption studies in the horse. *Research in Veterinary Science* **18**: 64-69.

- Roger, T. et Malbert, C. H. 1989. Caractéristiques anatomo-fonctionnelles de la jonction iléo-caecale du poney. *Revue de Médecine Vétérinaire* **140**(8-9): 851-855.
- Rowan, A. M., Moughan, P. J. et Wilson, M. N. 1992. The flows of desoxyribonucleic acid and diaminopimelic acid and the digestibility of dietary fibre components at the terminal ileum, as indicator of microbial activity in the upper digestive tract of ileostomised pigs. *Animal Feed Science and Technology* **36**(1-2): 129-141.
- Ruckebusch, Y. 1973. Les particularités motrices du jéjuno-iléon chez le cheval. *Les cahiers de médecine vétérinaire* **42**: 128-143.
- Sakata, T. 1987. Stimulatory effect of short chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: A possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors. *British Journal of Nutrition* **58**:95-103.
- Sauer, W. C., Jorgensen, H. et Berzins, R. 1983. A modified nylon bag technique for determining apparent digestibilities of protein in feedstuffs for pigs. *Canadian Journal of Animal Science* **63**: 233-237.
- Sauvant, D., Chapoutot, P. et Archimède, H. 1994. La digestion des amidons par les ruminants et ses conséquences. *INRA Production Animales* **7**(2): 115-124.
- Sauvant, D., Perez, J.-M. et Tran, G. 2002. *Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage*. INRA, 301 p.
- Schoch, T. J. 1945. The fractionation of starch. In : *Advanced Carbohydrate Chemistry* (W. W. Pigman et M. L. Wolfson Ed.) pp. 247. Academic press Inc., New York.
- Schurg, W. A., Frei, D. L., Cheeke, P. R. et Holtan, D. W. 1977. Utilization of whole corn plants pellets by horses and rabbits. *Journal of Animal Science* **45**(6): 1317-1321.
- Scott, T. A. et Hall, J. W. 1998. Using acid insoluble ash marker ratios (diet: digesta) to predict digestibility of wheat and barley metabolizable energy and nitrogen retention in broiler chicks. *Poultry Science* **77**: 674-679.
- Seeliger, S., Janssen, P.H. et Shink, B. 2002. Energetics and kinetics of lactate fermentation to acetate and propionate via methylmalonyl-CoA or acrylyl-Co-A. *FEMS Microbiol. Lett.* **211**(1):65-70.
- Seynaeve, M., Janssens, G., Hesta, M., van Nevel, C. et de Wilde, R. O. 2000. Effect of dietary Ca/P ratio, P level and microbial phytase supplementation on nutrient digestibilities in growing pigs: breakdown of phytic acid, partition of P and phytase activity along the intestinal tract. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **83**(4-5): 193-204.
- Shome, B. R., Senani, S., Padhi, M. K., Saha, S. K., Rai, R. B. et Shome, R. 2001. Isolation, identification and characterization of autochthonous Lactobacillus from chicken intestine. *Indian Veterinary Journal* **78**(4): 278-281.
- Simmons, H. A. et Ford, E. J. H. 1991. Gluconeogenesis from propionate produced in the colon of the horse. *British Veterinary Journal* **147**: 340-345.
- Sisson, S. 1975. Equine digestive system. In : *Sisson and Grossman's The anatomy of the domestic animals* Eds.), pp. 454-497. W.B. Saunders company, London.
- Smith, H. W. 1965. Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. *Journal of Pathologic Bacteria* **89**: 95-122.
- Snow, P. et O'Dea, K. 1981. Factors affecting the rate of hydrolysis of starch in food. *American Journal of Clinical Nutrition* **34**: 2721-2727.
- Southwood, L., Evan, D., Bryden, W. et Rose, R. 1993a. Nutrient intake of horses in thoroughbred and standardbred stables. *Australian Veterinary Journal* **70**(5): 164-168.
- Southwood, L., Evan, D., Bryden, W. et Rose, R. 1993b. Feeding practices in thoroughbred and standardbred racehorse stables. *Australian Veterinary Journal* **70**(5): 184-185.
- Stams, A.J.M., Dijkema, C., Plugge, C. et Lens, P. 1998. Contribution of ¹³C-NMR spectroscopy to the elucidation of pathways of propionate formation and degradation in methanogenic environments. *Biodegradation* **9**: 463-473.

- Stevens, C. E. et Hume, I. D. 1998. Contribution of microbes in vertebrate gastrointestinal tract to production and conservation of nutrients. *Physiological reviews* **78**(2): 393-427.
- Stick, J. A., Robinson, N. E. et Krehbiel, J. D. 1981. Acid-base and electrolyte alterations associated with salivary loss in the pony. *American Journal of Veterinary Research* **42**(5): 733-737.
- Sutton, D. G. M., Bahr, A., Preston, T., Christley, R. M., Love, S. et Roussel, A. J. 2003. Validation of the 13C-octanoic acid breath test for measurement of equine gastric emptying rate of solids using radioscintigraphy. *Equine Veterinary Journal* **35**(1): 27-33.
- Tisserand, J.-L. 1992. Fermentation in the hindgut of the horse - Possibilities of disorders. *Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes* (Pferdeheilkunde Ed.), pp. 197-200. Hannover.
- Torrallardona, D., Harris, C. I., Milne, E. et Fuller, M. F. 1994. The contribution of intestinal microflora to amino acid requirements in pigs. *VIth International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition* (W. B. Souffrant et H. Hagemester Eds.), pp. 245-248. EAAP, Bad Doberan, Germany.
- Torrallardona, D., Harris, C. I., Milne, E. et Fuller, M. F. 1996. Site of absorption of lysine synthesized by the gastrointestinal microflora in pigs. *VIIIth International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition* (A. F. Nunes, A. V. Portugal, J. P. Costa et J. R. Ribeiro Eds.), pp. 369-371. Santarem, Portugal.
- Van Soest, P. J. et Wine, R. H. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV The determination of plant cell wall constituents. *Journal Assoc. Official Anal. Chem.* **51**: 50-55.
- Van Straalen, W. M., Dooper, F. M. H., Antoniewicz, A. M., Kosmala, I. et Van Vuuren, A. M. 1993. Intestinal digestibility in dairy cows of protein from grass and clover measured with mobile nylon bag and other methods. *Journal of Dairy Science* **76**: 2970-2981.
- Vanhatalo, A. et Ketoja, E. 1995. The role of the large intestine in post-ruminal digestion of feeds as measured by the mobile-bag method in cattle. *British Journal of Nutrition* **73**: 491-505.
- Vanzant, E. S., Cochran, R. C. et Titgemeyer, E. C. 1998. Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. *Journal of Animal Science* **76**: 2717-2729.
- Wolter, R. 1984. La digestion chez le cheval. In : *Le cheval. Reproduction, sélection, alimentation, exploitation* (R. Jarrige et W. Martin-Rosset Eds.), pp. 189-208. INRA, Paris.
- Wolter, R. 1994. *Alimentation du cheval*, Editions France Agricole, Paris, 415 p.
- Wolter, R. et Chaabouni, A. 1979. Etude de la digestion de l'amidon chez le cheval par analyse du contenu digestif après abattage. *Revue de Médecine Vétérinaire* **130**(10): 1345-1357.
- Wolter, R., Durix, A., Gouy, D., Letourneau, J.-C., Carcelen, M. et Gouy, J. 1980. Paramètres biochimiques et digestibilités dans le duodénum chez le poney recevant un même aliment complet granulé ou semi expansé. *Annales de Zootechnie* **29**(3): 305-315.
- Wolter, R., Durix, A. et Letourneau, J. C. 1976. Influence du mode de présentation d'un aliment complet sur la vitesse de transit digestif et la digestibilité chez le poney. *Ann. Zootech.* **25**(2): 181-188.
- Wolter, R., Valette, J. P., Durix, A., Letourneau, J. C. et Carcelen, M. 1982. Digestibilité comparée de quatre céréales (avoine, orge, maïs, blé) selon le mode de présentation, chez le poney. *Annales de Zootechnie* **31**(4): 445-458.
- Würsch, P., Del Vedovo, S. et Koellreutter, B. 1986. Cell structure and starch nature as key determinants of the digestion rate of starch in legume. *American Journal of Clinical Nutrition* **43**: 25-29.
- Yin, Y. L., Huang, R. L., Zhong, H. Y., Li, T. J., Souffrant, W. B. et de Lange, C. F. M. 2002. Evaluation of mobile nylon bag technique for determining apparent ileal digestibilities of protein and amino acids in growing pigs. *Journal of Animal Science* **80**: 409-420.
- Yoder, M. J., Miller, E., Rook, J., Shelle, J. E. et Ullrey, D. E. 1997. Fiber level and form: effects on digestibility, digesta flow and incidence of gastrointestinal disorders. *15th Equine Nutrition and Physiology Symposium* (ENPS Ed.), pp. 122-127. Fort Worth, TX.

- Yuki, N., Shimazaki, T., Kushiro, A., Watanabe, K., Uchida, K., Yuyama, T. et Morotomi, M. 2000. Colonization of the stratified squamous epithelium of the nonsecreting area of horse stomach by lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology* **66**(11): 5030-5034.
- Zentek, J. 1995a. "Influence of diet composition on the microbial activity in the gastrointestinal tract of dogs. II. Effects on the microflora in the ileum chyme". *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **74**(1-2): 53-61.
- Zentek, J. 1995b. "Influence of diet composition on the microbial activity in the gastrointestinal tract of dogs. III. In vitro studies on the metabolic activities of the small intestinal microflora". *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **74**(1-2): 62-73.

ANNEXES

ANNEXE 1

Tableau de synthèse des données relatives à la digestibilité antécaecale de l'amidon

ALIMENTATION						AMIDON			ANIMAUX			METHODE ²	REFERENCE
CEREALE			FOURRAGE			Amidon ingéré		Digestibilité amidon ¹	Type	NB	Poids (kg)		
origine botanique	traitement physique	g / 100 kg PV / repas	nature	mode de distribution	g MS / 100 kg PV / repas	g / 100 kg PV / repas	% du repas						
Avoine	concassé	437	foin haché	mélange		103,9	23,8	91,1	Poneys	3	111	C iléon	Arnold et al, 1981
Maïs	concassé	379	foin haché	mélange		104,2	27,5	78,2					
Sorgho	concassé	455	foin haché	mélange		130,5	28,7	94,3					
Avoine	concassé	281	foin haché	mélange	121	121,3	29,8	91,6	Poneys	4	120	C iléon	Arnold, 1982
Maïs	concassé	174	foin haché	mélange	233	134,8	33,0	82,2					
Orge	concassé	207	foin haché	mélange	226	150,3	34,8	95,5					
Sorgho	concassé	179	foin haché	mélange	204	118,9	31,1	84,9					
avoine + maïs	sweet feed	263	luzerne	mélange	113	133,2	35,5	70,2	Poneys	3	144	C iléon	Brown, 1987
avoine + maïs	sweet feed	350	luzerne	mélange	150	177,5	35,5	74,8					
avoine + maïs	sweet feed	525	luzerne	mélange	225	265,4	35,4	73,4					
Maïs	broyé	150	luzerne hachée	mélange	600	113,2	15,1	64,5	Poneys	4	150	C iléon	Hinckle et al., 1983
Maïs	broyé	300	luzerne hachée	mélange	450	223,7	29,8	59,6					
Maïs	broyé	450	luzerne hachée	mélange	300	315,8	42,1	54,3					
Maïs	broyé	600	luzerne hachée	mélange	150	343,2	45,8	65,8					
Maïs	granulé broyé	520	luzerne	mélange	162	358,05	43,4	51,8	Poneys	4	130,9	Abattage jéjunum	Hintz et al., 1971
Maïs	granulé broyé	299	luzerne	mélange	561	212,8	22,4	28					
Maïs	granulé broyé	11	luzerne	mélange	1032	95,55	9,1	24,1					
Maïs	granulé broyé	520	luzerne	mélange	162	358,05	43,4	71,4	Poneys	4	130,9	Abattage iléon	
Maïs	granulé broyé	299	luzerne	mélange	561	212,8	22,4	54					
Maïs	granulé broyé	11	luzerne	mélange	1032	95,55	9,1	46,1					
Avoine	crimped	402	foin	séparé	402	264,3	65,7	48,04	Chevaux	4	370	C iléon	Householder, 1978
Avoine	micronised	362	foin	séparé	362	230,8	63,8	62,35					
Sorgho	crimped	401	foin	séparé	401	295,1	73,6	36,02					
Sorgho	micronised	372	foin	séparé	372	270	72,6	56,73					
Avoine	broyée	380	luzerne	mélange	124	180	30,8	98	Poneys	2	-	C Jéjunum	Radicke et al., 1991
Maïs	broyé	259	luzerne	mélange	259	180	29,9	70,8					

ANNEXE 1

ALIMENTATION						AMIDON			ANIMAUX			METHODE	REFERENCE
CEREALE			FOURRAGE			Amidon ingéré		Digestibilité amidon	Type	NB	Poids (kg)		
origine botanique	traitement physique	g / 100 kg PV /repas	nature	mode de distribution	g MS / 100 kg PV /repas	g / 100 kg PV / repas	% du repas						
Maïs	broyé	270	foin	mélange	390	190	28,8	16,4	Poneys	5	223	C Jéjunum	Meyer et al., 1993
Maïs	broyé + amylase	310	fouillage vert	mélange	460	210	27,3	57,7					
Maïs	expansé	210	fouillage vert	mélange	490	130	18,6	90,1					
Maïs	broyé	310	fouillage vert	mélange	490	210	26,3	45,6					
Orge	aplatie (rolled)	400	fouillage vert	mélange	480	200	22,7	21,4					
Avoine	aplatie (rolled)	400	fouillage vert	séparé		180	45,0	85,2					
Avoine	entier	460	fouillage vert	séparé		200	43,5	83,5					
Maïs	entier	260	fouillage vert	séparé		190	73,1	28,9					
Maïs	concassé	280	fouillage vert	séparé		190	67,9	29,9					
Avoine	aplatie (rolled)	470	foin	mélange	310	180	23,1	87,4	Poneys	4	213	C Jéjunum	Meyer et al., 1995
Maïs	expansé	170	herbe	mélange	460	140	22,2	90,1					
Avoine	entier	930	luzerne	mélange	140	390	36,4	79,7					
Maïs	broyé+amylase	260	luzerne	mélange	430	210	30,4	56,8					
Maïs	broyé	260	luzerne	mélange	460	220	30,6	47,3					
Manioc	aplatie (rolled)	290	luzerne	mélange	460	200	26,7	9					
Orge	concassé	350	luzerne	mélange	450	200	25,0	21,5					
Pomme-de-terre	fraîche	300	luzerne	mélange	460	200	26,3	6,5					
Avoine	aplatie (rolled)	460		séparé	0	180	39,1	85,2					
Avoine	entier	520		séparé	0	200	38,5	83,5					
Maïs	concassé	320		séparé	0	220	68,8	29,9					
Maïs	entier	300		séparé	0	210	70,0	28,9					
avoine + maïs	sweet feed	465	luzerne hachée	mélange	225	254	36,2	74,1					
avoine + maïs	sweet feed	310	luzerne hachée	mélange	150	171,8	36,2	76,9					
avoine + maïs	sweet feed	233	luzerne hachée	mélange	113	127,6	36,2	70,1					
Avoine	entier	460	Fourrage vert	séparé		200	43,5	83,5	Poneys	6	215	C Jéjunum	Kienzle et al, 1992
Avoine	aplatie (rolled)	400	Fourrage vert	séparé		180	45,0	85,2					
Avoine	broyé	350	Fourrage vert	mélange	110	180	39,1	98,1					
Maïs	entier	260	Fourrage vert	séparé		190	73,1	28,9					
Maïs	concassé	280	Fourrage vert	séparé		190	67,9	29,9					
Maïs	broyé	230	Fourrage vert	mélange	230	180	39,1	70,6					

1 : Toutes les digestibilités ont été calculées en utilisant le chrome comme marqueur interne de l'aliment ; 2 : C = canule

Détermination de l'apport énergétique de la ration distribuée aux chevaux lors de la mise en place de la technique des sachets mobiles

I. Energie fournie par l'aliment granulé

Détermination de la valeur UFC du granulé :

détermination de la teneur en UFC de 100 kg de MO (INRA, équation (5) p 194) :

$$121,9 - 0,0852 \text{ ADF} - 0,0287 \text{ NDF} - 0,0857 \text{ ADL} + 0,0034 \text{ MAT} + 0,0207 \text{ Amidon}$$

(constituants exprimés en g / Kg de MO)

Teneur en MO de l'aliment : $100 - 6,1 = 93,9$ % de MO soit 0,939 Kg de MO / Kg de MS

Composition chimique de l'aliment :

	ADF	NDF	ADL	MAT	Amidon
Teneur en % de MS	10,8	22,9	2,2	13,4	41,6
Teneur en g par Kg de MO	115	244	23	143	443

Teneur en UFC / 100 Kg de MO : $(121,9 - 9,798 - 7,003 - 1,971 + 0,486 + 9,170 =)$ 112,784.

UFC / Kg de MO = 1,128 – UFC / Kg de MS $(1,128 \times 0,939) = 1,06$

Calcul de la quantité d'énergie apportée par le granulé :

L'aliment granulé apporte donc : 1,06 UFC par kg de MS.

Valeur UFC de l'aliment (à 91,7% de MS): **0,97 UFC par kg de matière brute**

Les animaux reçoivent 1180g d'aliment pour 100 kg de poids vif par jour.

Un animal de 450 kg reçoit donc : $1180 \times 4,5 = 5310$ g d'aliment par jour.

Soit $(5,310 \text{ kg} \times 0,93 =)$ **5,15 UFC par jour fournis par l'aliment**

II. Energie fournie par le fourrage

Foin utilisé : 1^{er} cycle, floraison : 0,44 UFC par kg de matière brute

Les animaux reçoivent 1kg de foin pour 100kg de poids vif,
soit, pour un animal de 450 kg : 4,5 kg de foin par jour.

Soit ($4,5 \times 0,44 =$) **1,98 UFC par jour fournis par le repas foin**

Au total un animal de 450 kg reçoit $4,71 + 1,98 = 7,13$ UFC par jour

Selon les tables de l'INRA l'énergie apportée par notre ration se situe entre le niveau d'énergie requis pour un cheval de 450 kg soumis à un travail léger (6,6 UFC / jour) et celui requis pour le même cheval soumis à un travail moyen (7,6 UFC / jour).

La quantité de matière sèche ingérée est de $1930 \times 4,5 = 8,685$ Kg ; cet apport quant à lui, se situe dans la fourchette recommandée pour un cheval soumis à un exercice très léger.

Dosage de l'amidon par la méthode d'Edwards

Principe de la méthode : La méthode utilisée est basée sur la méthode d'Edwards, légèrement modifiée par F. Kozlowski (1995). Edwards et al. ont élaboré, à partir de la méthode mise au point par Englyst et al. (1992) pour doser l'amidon dans des échantillons très résistants à l'attaque enzymatique, une nouvelle méthode qui a été testée par F. Kozlowski.

Cette méthode nécessite de petites quantités d'échantillon (50 à 100 mg), celui-ci devant être très homogène. En outre, elle est bien adaptée aux contenus digestifs colorés par des pigments biliaires. Après solubilisation dans l'hydroxyde de potassium 4M (plus efficace que la norme AFNOR 1988), l'amidon est hydrolysé en glucose par l'amyloglucosidase. Le glucose est dosé avec le kit D-glucose de chez Böhrenger.

Réactifs nécessaires :

- Solution d'acide acétique 0,5 M / L + 4mL / L de CaCl₂ 1M
- Solution de KOH 4M
- Amyloglucosidase (Fluka)
- Kit D-glucose (Böhrenger Mannheim)

Matériel nécessaire :

- Bain marie à 100°C
- Bain marie à 70°C
- Vortex
- Tubes à essai (col à vis) en Pyrex de 50 mL
- Tubes à essai (col lisse) en Pyrex de 20 mL
- Pipettes 5 mL - 1 mL - 0,75 mL - 0,4 mL - 0,5 mL - 100/200 µL - 10 µL
- Spectrophotomètre à 340 nm

Préparation des réactifs :

1) Solution d'acide acétique 0,5 M / L + 4mL / L de CaCl₂ 1M.

C₂H₄O₂ 100% (PM = 60,05 g/mole). La solution étant pure et de densité d=1,05, on a donc 1050 g/L, c'est à dire $1050 / 60,5 = 17,35$ moles par litre d'acide acétique.

Pour obtenir une solution à 0,5 M/L, il faut donc : $(0,5 \times 1000) / 17,35 = 28,82$ mL/L

CaCl₂, 2 H₂O (PM = 147,02 g/mole). Pour avoir une solution à 1 mole par litre il faut donc dissoudre 147,02 g de calcium chlorure dans un litre d'eau distillée. La solution d'acide acétique 0,5 M / L + 4mL / L de CaCl₂ 1M peut être préparée à l'avance et se conserve très bien à température ambiante.

2) Solution de KOH 4M.

KOH (PM = 56,11 g/mole). Pour avoir une solution à 4 moles par litre il faut donc dissoudre $56,11 \times 4 = 224,44$ g d'hydroxyde de potassium dans un litre d'eau distillée. La solution de KOH 4M peut être préparée à l'avance et se conserve très bien à température ambiante.

3) Solution d'amyloglucosidase (Fluka 69,65 U/mg) à 250 U par mL. Soit 3,59 mg d'enzyme/mL. Préparer dans une fiole jaugée la quantité nécessaire à chaque série ; **la solution doit être préparée extemporanément et ne se conserve pas.**

Mode opératoire :

Nombre de répétition par échantillon = 2 ou 3.

1) Peser 50 ou 100 mg environ d'échantillon broyé à 0,5 mm dans un tube à vis de 50 mL. Les échantillons peuvent être lyophilisés au préalable, un vibro-broyeur à bille peut être utilisé pour les échantillons de petite taille. Si la taille de l'échantillon disponible le permet, une détermination de la matière sèche des échantillons analysés doit être réalisée simultanément.

2) Ajouter l'eau distillée dans chaque tube en procédant comme indiqué ci-dessous :

Qté d'échantillon	Qté d'eau	Mettre l'échantillon en suspension dans l'eau en agitant le tube manuellement. L'échantillon ne doit pas former de grumeau et doit se dissoudre entièrement.	Qté d'eau	Ajouter l'eau de manière à rincer les parois du tube.
50 mg	2,5 mL		2,5 mL	
100 mg	5 mL		5 mL	

3) Placer les tubes au bain marie à 100°C pendant 30 min. Compter le temps à partir du moment où l'ébullition apparaît dans les tubes. Remettre l'échantillon en suspension dans chaque tube manuellement ou au vortex toutes les 5 à 10 min. environ.

4) Refroidir les tube en les plaçant dans un bain d'eau glacée après les avoir laissé 5 min. environ à t°C ambiante (ceci permet d'éviter le choc thermique qui pourrait faire éclater les tubes).

5) Ajouter KOH 4M dans chaque tube en procédant comme indiqué ci-dessous :

Qté d'échantillon	Qté de KOH	Mettre l'échantillon en suspension dans la solution en agitant le tube manuellement.	Qté de KOH	Ajouter le KOH de manière à rincer les parois du tube.
50 mg	2,5 mL		2,5 mL	
100 mg	5 mL		5 mL	

- 6) Agiter au vortex les tubes maintenus à t°C ambiante pendant 30 min. au moins. Pour que le KOH fasse bien son effet, en particulier sur les matières premières, **il est préférable de laisser agir pendant 24 heures.**
- 7) Agiter les tubes au vortex puis laisser les tubes décanter et répartir 3 X 0,6 mL dans trois tubes à essai de 20 mL contenant 6 mL de la solution d'acide acétique + CaCl₂
- 8) Ajouter 0,75 mL de la solution d'amyloglucosidase dans 2 des 3 tubes et 0,75 mL d'eau distillée dans le troisième tube :

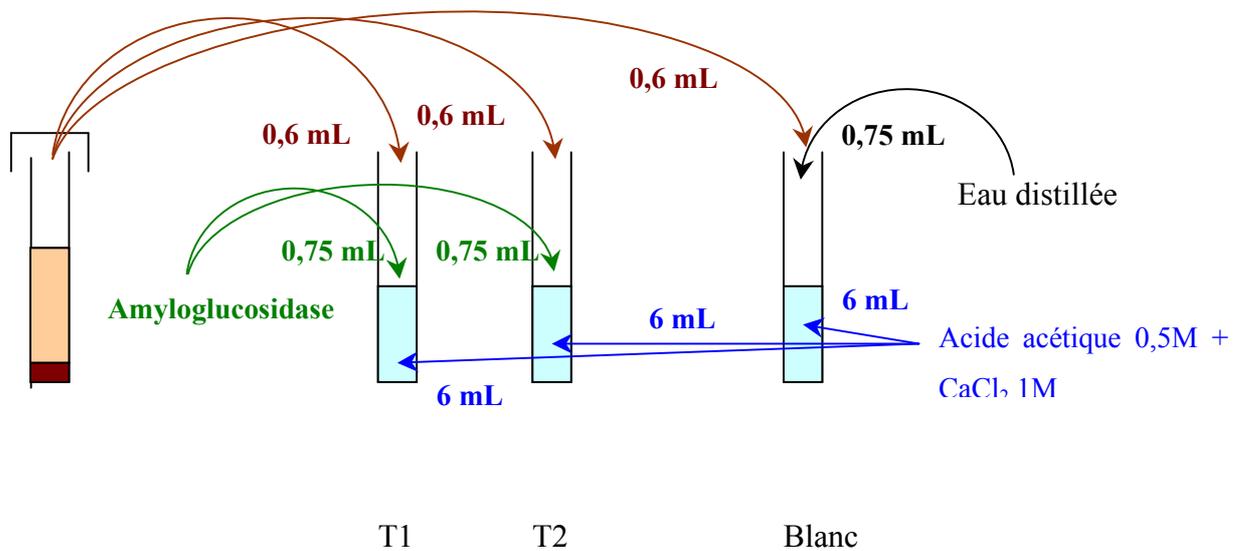


Illustration des étapes 7 et 8.

- 9) Agiter chaque tube au vortex et les placer dans un bain marie à 70°C pendant 30 min. exactement (Remarque : un précipité blanc apparaît dans les tubes contenant l'amyloglucosidase).
- 10) Placer les tubes au bain marie à 90-100°C pendant 10 min.
- 11) Faire refroidir les tubes en les plaçant dans un bain d'eau froide pendant 5 à 10 min. puis ajouter 0,4 mL de KOH 4M dans chaque tube et agiter au vortex.

Placer les tubes au frigidaire (à 4°C), pendant 24 heures (cette durée peut être augmentée à 24 heures), en attendant de doser le glucose ainsi libéré.

12) Doser le glucose selon les indications du kit D-glucose de chez Böhlinger.

- Dosage avec un spectrophotomètre fonctionnant avec des cuves jetables :

Toutes les quantités préconisées dans le kit sont être divisées par deux.

Prévoir une cuve en plastique jetable par tube à essai préparé précédemment.

Placer 0,5 mL de la solution 1 dans chaque cuve.

Ajouter 100 à 300 µL d'échantillon dans chaque tube et compléter le volume total à 1,5 mL avec de l'eau distillée.

Agiter et lire l'absorbance à 340 nm après 3 min (A1).

Ajouter 10 µL d'hexokinase dans chaque cuve.

Agiter et lire l'absorbance à 340 nm après 15 min d'incubation à t°C ambiante (A2).

Lors de chaque dosage il est conseillé de réaliser un blanc « amidon » avec un amidon connu (c.a.d. 50 mg amidon (= amidon de maïs purifié des établissements Roquette) + 10 mL H₂O + 10 mL KOH). Le tube a essai n'ayant pas reçu l'amyloglucosidase sert à doser le glucose libre éventuellement contenu dans les échantillons testés.

Calculs :

1. Dosage du glucose : (suivre les indications de la notice du kit de dosage du glucose).

$$C = \frac{V \times PM_{\text{glucose}}}{e \times d \times v \times 1000} \times (A2 - A1) = \text{g de glucose/L de solution}$$

Avec :

C : concentration en glucose

V : volume dans la cuve (par ex = 0,5 + 0,1 + 0,9 + 0,01 = 1,51 mL)

v : volume de l'échantillon (à partir de 0,1 mL jusqu'à 1 mL)

PM_{glucose} = 180,16 g/mol

A2 : absorbance lue après l'action de l'hexokinase

A1 : absorbance lue avant l'introduction de l'hexokinase

d : trajet optique en cm (pour une cuve jetable = 1cm)

e : coefficient d'absorption du NADPH à 340 nm = 6,3 L.mmol⁻¹.cm⁻¹

Si l'échantillon de départ a été dilué il faut tenir compte du facteur de dilution F.

Acide acétique + CaCl₂

Masse échantillon brut = volume

Amyloglucosidase

KOH

Volume d'échantillon prélevé pour étape 7

KOH

H₂O

$$\text{Ici : } F = \frac{(10\text{ml} + 10\text{ml} + 0,1\text{g}) \times (6\text{ml} + 0,75\text{ml} + 0,4\text{ml} + 0,6\text{ml})}{0,6\text{ml}} = \frac{20,1 \times 7,75}{0,6} = 259,63$$

Volume d'échantillon prélevé pour étape 7

2. Calcul du pourcentage de glucose contenu dans l'échantillon brut :

$$\text{Glucose (\%)} = \frac{C \times \frac{F}{1000}}{\text{Masse de l'échantillon brut}} \times 100$$

3. Calcul de la concentration en amidon :

$$\text{Amidon (\%)} = \left[\left(\frac{G_{T1} + G_{T2}}{2} \right) - G_{\text{blanc}} \right] \times \frac{PM_{\text{glucose}} - PM_{\text{eau}}}{PM_{\text{glucose}}}$$

Avec :

G_{T1} : concentration en glucose dans le tube 1

G_{T2} : concentration en glucose dans le tube 2

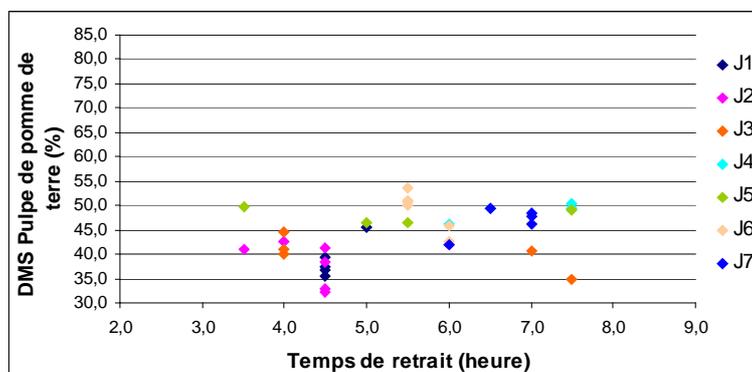
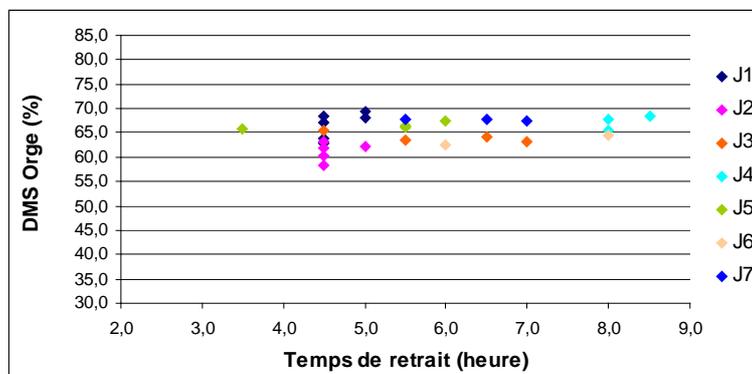
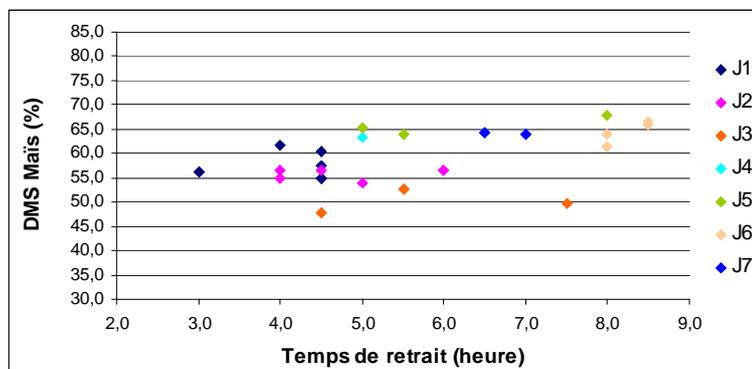
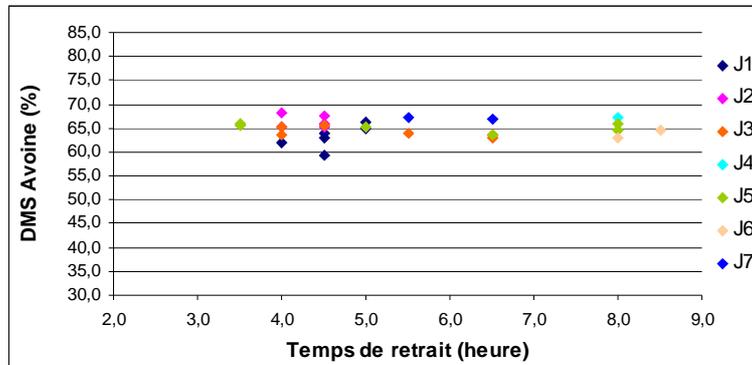
G_{blanc} : concentration en glucose dans le tube dosant le glucose libre

$\frac{PM_{\text{glucose}} - PM_{\text{eau}}}{PM_{\text{glucose}}}$: coefficient de conversion du glucose en amidon = 0,9

4. Concentration en amidon exprimée en % de matière sèche:

$$\frac{\text{Amidon (\%)} \text{ contenu dans l'échantillon}}{\% \text{ de MS de l'échantillon}} \times 100$$

DMS des substrats testés dans les sachets mobiles intubés à Appache en fonction de leur temps de retrait du cæcum



Tableaux et figures étude bibliographique :

Tableau 1 : Description de la ration alimentaire distribuée dans les écuries de course en fonction de l'activité (galop ou trot) et du pays (d'après Respondek *et al.*, 2003)

Ingestion (kg / jour)	Ecuries de galop			Ecuries de trot		
	France ¹	Australie ²	USA ³	France ¹	Australie ²	USA ³
Matière sèche	13,1	11,0	12,3	11,3	11,8	14,4
Concentrés	7,6	7,8	5,6	6,8	7,7	5,1
Foin	7,4	3,3	6,6	6,0	4,1	9,3

1 : Respondek *et al.*, 2003 ; 2 : Southwood *et al.*, 1993 ; Gallagher *et al.*, 1992a et 1992b

Tableau 2 : Estimation de la quantité d'amidon apportée par les céréales dans le rationnement des chevaux de course (trotteurs et galopeurs) en fonction du pays

Pratiques	Pays		
	France ¹	Australie ²	USA ³
Aliment du commerce			
+ Avoine seule	1940 g		
+ Avoine + orge	2000 – 2150 g		
+ Avoine + maïs + orge		2190 – 2910 g	
Sweet feed ⁴			2553 g / 3063 g
+ Avoine			2574 g / 2423 g
Céréales uniquement			
Avoine seule	2585 g		
Avoine + orge	2715 – 3070 g		
Quantité en g / 100 kg PV / j	491 g (434 – 687 g)	564 g (443 – 666 g)	537 g (416 – 690 g)

1 : Respondek *et al.*, 2003 ; 2 : Southwood *et al.*, 1993 ; 3 : Gallagher *et al.*, 1992a et 1992b

4 : Aliment commercial composé de 45 % d'avoine et de 45 % de maïs

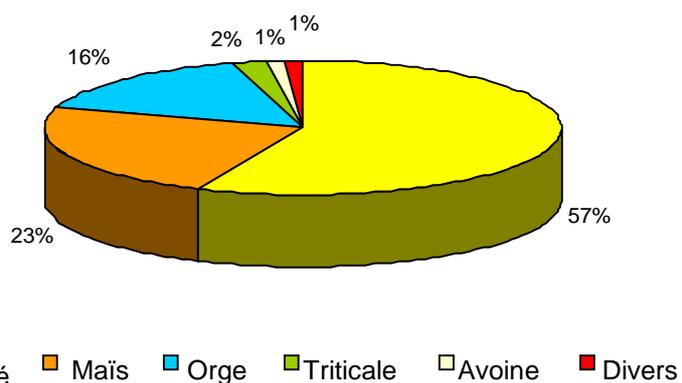


Figure 1 : Répartition de la production céréalière française en 2002 (Source : FAOSTAT)

Tableau 3 : Teneur en amidon et composition non glucidique de l'amidon de diverses graines et tubercules

	Amidon ¹ (% MB)	Composition non glucidique ² (% amidon sec)		
		Protéines	Lipides	Cendres
Avoine	36,0	0,24	1,3	-
Blé tendre	60,5	0,33	1,12	0,30
Maïs	64,1	0,30	0,61 – 0,65	0,10
Orge	52,2	0,11	1,0	-
Sorgho	64,1			
Féverole	38,3	0,16	0,06	0,07
Pois	44,6	0,19	0,18	0,05 – 0,22
Pomme de terre déshydratée	65,5	0,05	0,09	0,30
Manioc déshydraté	67,0 – 71,6	0,10	0,10	0,30

1 : d'après Sauvant *et al.*, 2002 ; 2 : d'après Duprat *et al.*, 1980.

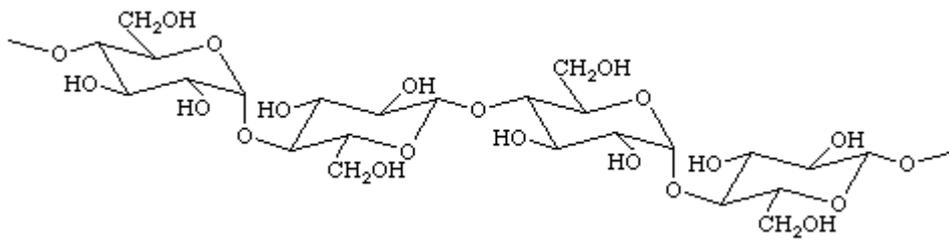


Figure 2 : La molécule d'amylose

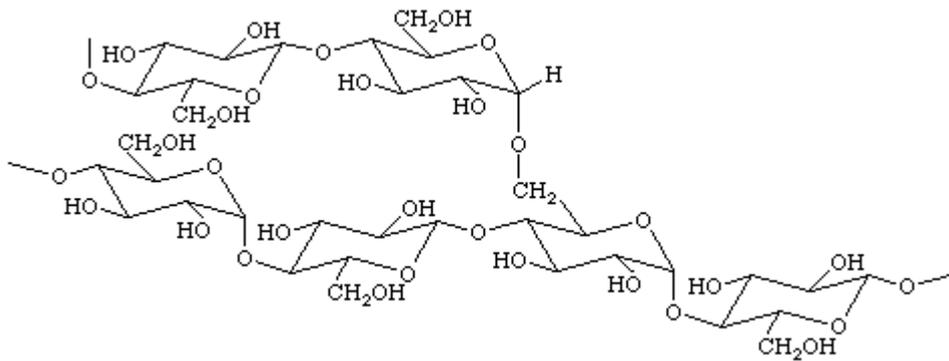


Figure 3 : La molécule d'amylopectine

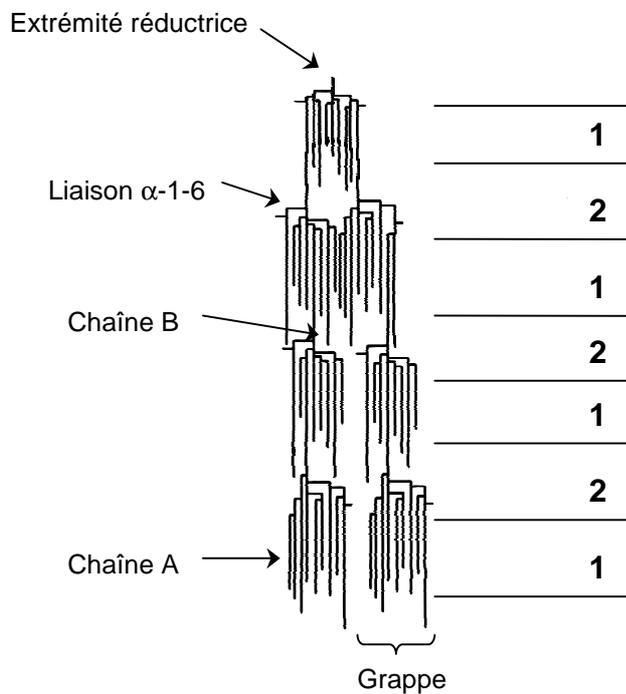
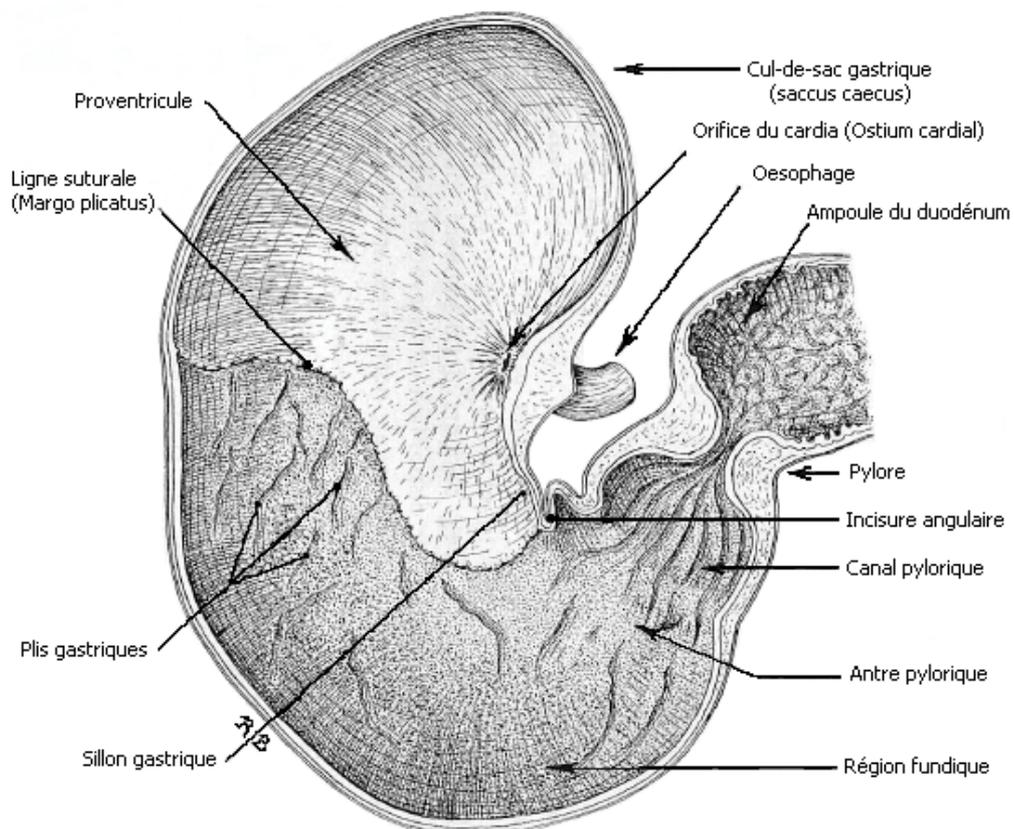
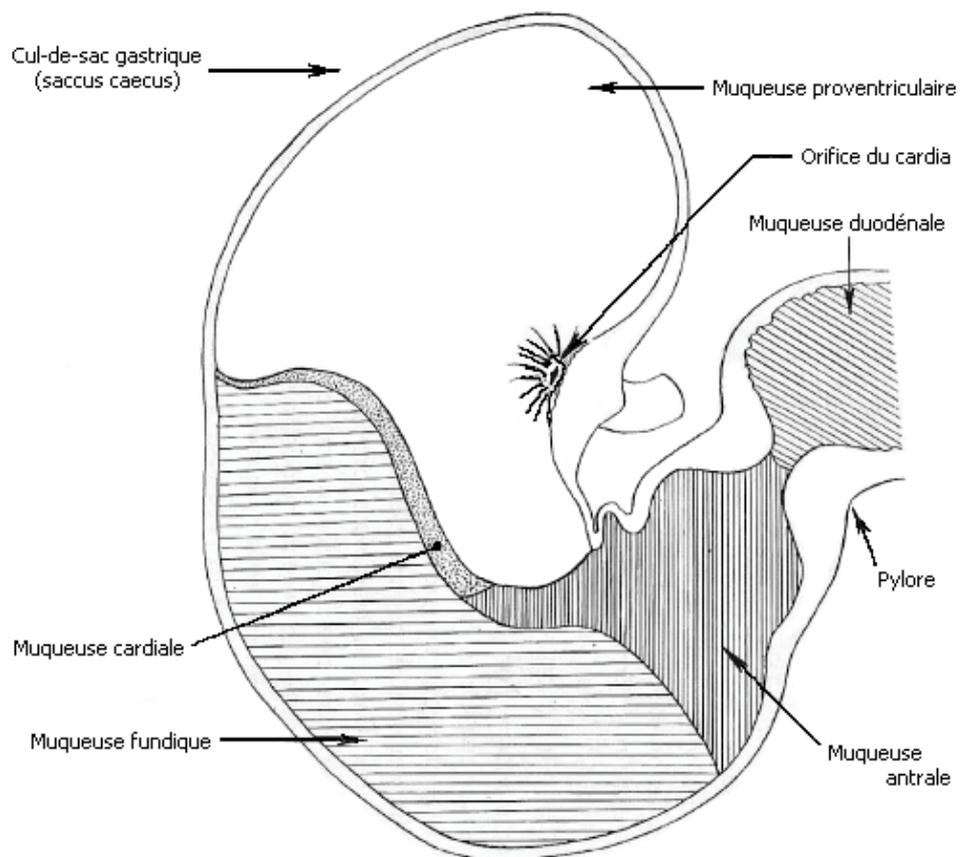


Figure 4 : Schéma de la structure primaire de l'amylopectine. 1) Couche plus dense, plus cristalline ; 2) Couche moins dense et moins organisée, riche en liaisons α -1,6



CONFORMATION INTERIEURE
ESTOMAC OUVERT SUIVANT SES COURBURES APRES FIXATION
SEGMENT ANTERIEUR DE LA COUPE, VUE POSTERIEURE



SCHEMA DE LA REPARTITION
DES DIVERS TYPES DE MUQUEUSE A L'INTERIEUR DE L'ESTOMAC

Figure 5 : Conformation de l'estomac du cheval (tiré de Barone, 1978)

Tableau 4 : Production de salive en fonction de l'aliment consommé

	Quantité de salive produite par min		Quantité de salive nécessaire à la mastication et à la déglutition	Auteur (année)
	Poney	Cheval		
Foin	83 g	147 g	4 fois le poids du repas	Colin cité par Kolb (1975)
Avoine	56 g	98 g	2 fois le poids du repas	
Fourrage vert	42 g	73 g	0,5 fois le poids du repas	
Foin		81 g	3 à 3,5 fois le poids du repas	Meyer <i>et al.</i> (1986)
Aliment granulé		100 g	1 fois le poids du repas	

Tableau 5 : Caractéristiques de la salive du cheval en fonction de la glande sécrétrice d'après Klingeberg-Kraus (2001)

Auteur (année)	Ellenberger et Hofmeister (1881)	Scheunert et Trautmann (1921)	Ellenberger et Hofmeister (1881)
Glande	Parotide	Parotide	Sous maxillaire
Eau	99,16 %	98,7 – 99,5 %	99,25 %
Poids spécifique	1,007	1,005 – 1,007	1,003
Matière sèche	0,84 %	0,5 - 1,3 g	0,75 %
Matière organique	0,24 %	azote : 0,520 - 0,610 g	0,49 %
Matière minérale	0,60 %	0,197 - 0,374 g	0,26 %

Tableau 6 : Composition chimique de la salive du cheval

Auteur (année)	Alexander et Hickson (1966)	Stick <i>et al.</i> (1981)	Eckersall (1984)	Eckersall <i>et al.</i> (1985)	Coenen (1986)
Origine de la salive	Parotide	Totale	Totale	Totale	Totale
Méthode de prélèvement	Fistule du canal parotidien	Fistule œsophagienne	Mors + bonbon citron	Mors + bonbons variés	Fistule œsophagienne
Composants (mmol / L)					
Sodium (Na)	55,0	90,0	25,0	8,9	67,0
Potassium (K)	15,0		15,0	17,5	18,2
Calcium (Ca)	14,0		11,6	6,2	3,9
Chlore (Cl)	50,0	85,0	22,0	11,9	60,0
Magnesium (Mg)			2,1	1,6	1,4
Phosphate (HPO ₄)	0,3		1,8	0,9	
HCO ₃	52,0				
Protéines (g / L)			2,5	0,7	0,6
Glucose			34,0	34,5	
pH			4,5	6,8	

Tableau 7 : Volume récolté (mL / 15 min) et concentration ionique (mEq / L) du contenu gastrique chez des chevaux à jeun dont le pylore était obstrué (B) ou non (NB) (d'après Kitchen *et al.*, 2000)

		Volume	[H ⁺]	[Na ⁺]	[K ⁺]	[Cl ⁻]
Etat basal	NB	466,1 ± 58,4	33,8 ± 6,5	101,5 ± 8,2	9,8 ± 0,9	143,4 ± 5,6
	B	251,0 ± 48,9	47,0 ± 10,2	89,6 ± 9,2	10,3 ± 1,2	151,1 ± 5,2
Infusion de pentagastrine	NB	885,8 ± 39,5	42,4 ± 3,1	88,2 ± 4,8	10,3 ± 0,5	144,0 ± 6,6
	B	523,8 ± 52,4	84,2 ± 4,9	57,7 ± 6,1	14,2 ± 0,9	154,0 ± 2,6

Tableau 8 : Volume (mL / 15 min) et concentration en électrolytes (mEq / L) du contenu duodénal chez le cheval (d'après Kitchen et al, 2000)

	Volume	[Na ⁺]	[K ⁺]	[Cl ⁻]	[HCO ₃ ⁻]
Etat basal	217,2 ± 49,5	143,1 ± 5,5	4,1 ± 0,2	99,2 ± 12,3	28,5 ± 2,7
Infusion de pentagastrine	409,0 ± 111,5	152,6 ± 5,2	3,7 ± 0,3	108,5 ± 2,7	37,2 ± 2,1

Données obtenues sur des chevaux dont le pylore était obstrué afin d'éviter la contamination par les sécrétions gastriques

Tableau 9 : Activité de l'α-amylase pancréatique dans le pancréas, au niveau de l'épithélium intestinal et dans le contenu intestinal chez différentes espèces (d'après Roberts, 1974 et Kienzle, 1993)

	Pancréas (U / g)	Site de l'intestin grêle (Unité / g de muqueuse / min)							Contenu intestinal (U / g)
		1	2	3	4	5	6	Plage de données	
Cheval	350	3,4	2,3	2,8	2,4	2,8	2,5	0 – 7,0	10 – 40
Lapin		13,5	18,2	18,0	18,9	16,9	19,4	1,5 – 27,1	
Chat	70								20 – 50
Chien	3000	55,5	74,9	46,1	45,5	46,7	15,8	0 – 175	50 – 600
Porc	3500	13,1	15,4	18,6	12,2	25,6	10,2	0 – 200	400 - 600

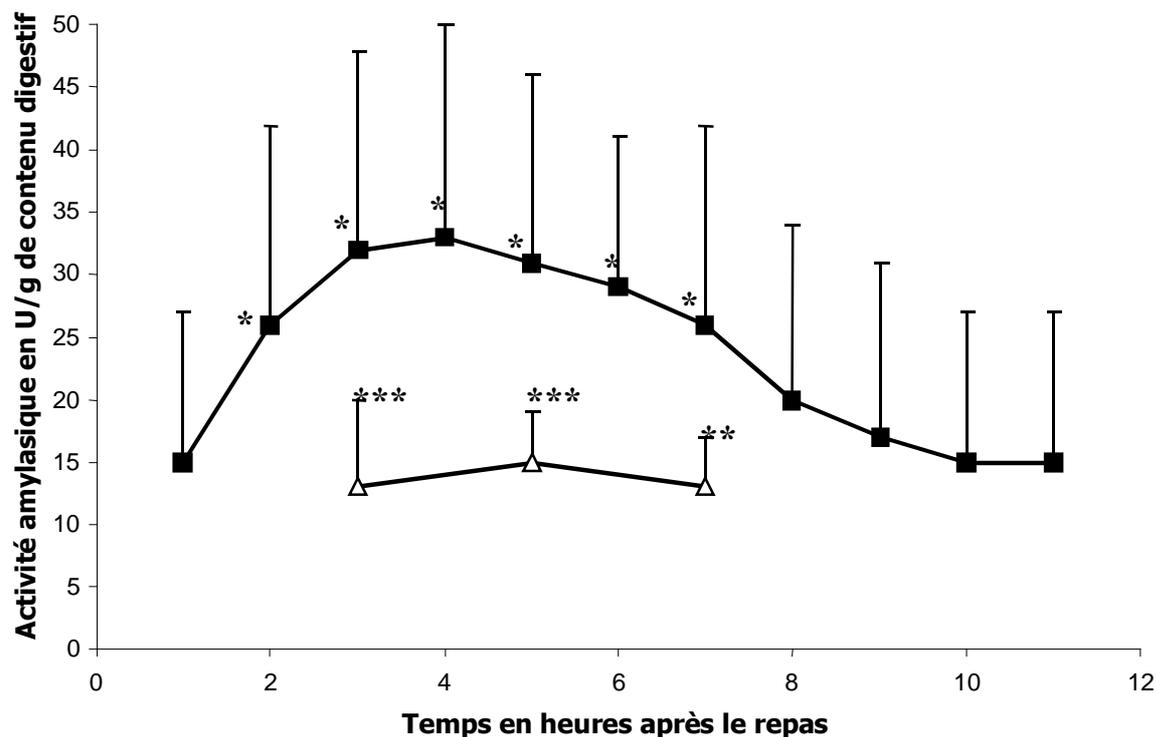


Figure 6 : Evolution post-prandiale de l'activité α -amylasique dans le chyme jéjunal en fonction de la composition de la ration (■ : céréales ; Δ : foin) (d'après Kienzle *et al.*, 1994)
 * différence significative par rapport à la première heure post prandiale ($p < 0,05$)
 ***, ** différence significative entre les céréales et le foin ($p < 0,01$ et $p < 0,001$ respectivement)

Tableau 10 : Concentration (CFU / mL) des différentes espèces bactériennes identifiées dans les compartiments antécaecaux du tractus digestif du cheval

	Estomac	Duodénum	Jéjunum	Iléon	Ref.
Bactéries anaérobies totales	$1,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^8$	$2,9 \times 10^6$	$2,9 \times 10^7$ $2,5 \times 10^6$	$3,6 \times 10^7$ $3,8 \times 10^7$ $4,0 \times 10^6$	1 2 3
Bactéries cellulolytiques	$1,0 \times 10^2 - 3,0 \times 10^2$			$7,0 \times 10^0$	1
<i>Veillonella gazogenes</i> (bactérie utilisatrice d'acide lactique)	$2,0 \times 10^8$		$2,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	4
Lactobacilles	$2,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8$		$1,5 \times 10^5$ $3,3 \times 10^8$ $1,0 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$	3 4 5 6
Streptocoques	$3,0 \times 10^8$				4

1 : Kern *et al.*, 1974 ; 2 : Mackie et Wilkins, 1988 ; 3 : Kropp, 1991 cité par Kleffken, 1993 ; 4 : Alexander et Davies, 1963 ; 5 : Kollarzick *et al.*, 1992 ; 6 : Smith, 1965.

Tableau 11 : Concentration (CFU / mL) dans le jéjunum de différentes espèces bactériennes 4 heures après le repas en fonction du régime distribué (d'après Kollarzik *et al.*, 1992)

Régime	Lactobacilles	Bactéries anaérobies strictes		Entérobactéries	Entérocoques
		Gram +	Gram -		
Foin	$6,3 \times 10^7$	$4,0 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$5,0 \times 10^6$
Orge	$6,3 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$	$3,2 \times 10^6$	$1,3 \times 10^7$	$1,6 \times 10^5$
Ensilage de maïs	$7,9 \times 10^7$	$3,2 \times 10^8$	$3,2 \times 10^7$	$2,0 \times 10^8$	$7,9 \times 10^7$
maïs moulu + luzerne déshydratée	$5,0 \times 10^8$	$7,9 \times 10^8$	$4,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$
Maïs expansé + luzerne déshydratée	$6,3 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^7$	$6,3 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$
Maïs moulu + amylase	$5,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$	$4,0 \times 10^7$	$3,2 \times 10^7$	$7,9 \times 10^6$
Maïs moulu + foin	$1,6 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$	$2,5 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$

Tableau 12 : Concentration en lactate total (mmol / L) dans les différents compartiments antécaecaux du tractus digestif du cheval en fonction du régime distribué

Régime	Hppr*	Estomac	Duodénum	Jéjunum	Iléon		Ref.
					Cranial	Caudal	
Foin		14,6		4,8	4,3	3,9	1
Herbe		11,0		11,0	6,1	5,6	
Foin	2 h	2,9				1,8	2
Foin + Céréales	4 h					20,0	3
Foin + Céréales + Fibres	4 h					10,0	
Aliment complet granulé		22,4	22,4	14,3		12,9	4
Aliment complet semi expansé		31,9	19,1	21,0		13,4	
Avoine + Foin	5 h			11,6			5
Pomme de terre	5 h			0,0			
Aliment complet	5 h		16,1	9,2		3,3	6
Avoine	5 h			10,7			7
Maïs	5 h			5,8			

* : Heure post prandiale

1 : Alexander et Davies, 1963 ; 2 : Kern *et al.*, 1974 ; 3 : Argenzio *et al.*, 1974 ; 4 : Wolter et Chaabouni, 1979 ; 5 : Illenseer, 1994 ; 6 : Eilmans, 1991 cité par Kleffken, 1993 ; 7 : Landes, 1992 cité par Kleffken, 1993.

Tableau 13 : Concentration en acides gras volatils (mmol / L) dans les différentes régions de l'estomac du cheval

	Acétate	Propionate	Iso-butyrate	Butyrate	Iso-valérate	Valérate	Ref.
Saccus caecus	1,7	0,2	<0,1	0,1			1
Fundum	17,0	1,1	0,1	10,1			1
	8,9	0,6	1,0	0,2	0,1	0,0	2
Antrum	8,3	0,1	<0,1	0,1			1
	8,6	0,6	1,6	0,2	0,3	0,02	2

1 : Morris *et al.*, 2003 ; 2 : Kern *et al.*, 1974

Tableau 14 : Evolution postprandiale de la concentration en lactate (mmol / L) dans l'intestin grêle du cheval en fonction du régime distribué

Régime	Lieu*	Heure post prandiale						Ref.
		3	4	5	6	7	8	
Aliment complet granulé	D	2,1	3,3	4,5	5,8	4,2	2,0	1
Aliment complet semi expansé	D	2,5	3,9	6,3	8,6	7,8	4,7	
Avoine	J	10,4	17,5	27,8	26,3	14,5	7,5	2
Maïs	J	6,2	11,2	16,6	11,0	6,4	3,6	
Avoine	J	0,6	3,8	6,9	15,7	21,2		3
Maïs	J	4,2	3,2	4,9	8,3	10,4		
Foin	I	0,2		0,2		0,1		4
Avoine – aliment granulé	I	23,4		21,6		28,1		
Maïs – aliment granulé	I	13,8		26,0		25,4		

* : D = duodénum ; J = jéjunum ; I = iléon

1 : Wolter *et al.*, 1980 ; 2 : Landes, 1992 cité par Kleffken, 1993 ; 3 : Radicke, 1991 cité par Kleffken, 1993 ; 4 : Radicke, 1990 cité par Kleffken, 1993.

Tableau 15 : Concentration en acides gras volatils (mmol / L) et proportion en acétate (% C2), propionate (% C3) et butyrate (% C4) dans l'intestin grêle du cheval en fonction du régime consommé

Régime	Hppr*	Lieu#	Total	% C2	% C3	% C4	Ref.
Foin	8 h	D	10,7	81	18	1	1
		J	26,1	77	16	7	
		I	16,7	76	23	0,6	
Foin + Céréales		D	3,9	69	18	13	
		J	4,0	75	23	3	
		I	10,3	73	25	2	
Foin	5 h	D	18,6	62	27	11	2
		J	15,1	65	23	9	
		I	8,2	67	21	8	
Foin + Concentré		D	23,4	67	25	5	
		J	13,5	62	30	5	
		I	30,3	50	38	5	
Aliment complet granulé	5 h	D	10,8	32	64	4	3
Aliment complet semi expansé			12,8	31	65	4	
Avoine entière	5 h	J	7,5	57	36	4	4
Avoine aplatie			8,7	67	22	4	
Maïs entier			5,7	69	26	2	
Maïs concassé			4,3	68	27	2	
Avoine	5 h	J	16,9	71	16	6	5
Avoine + Foin			4,6	63	31	6	
Pomme de terre			5,6	64	30	6	
Manioc			10,0	60	38	2	
Foin	2 h	I	6,6	65	10	6	6
Maïs – Aliment granulé	5 h	I	37,9	64	33	3	7
Avoine – Aliment granulé			39,1	72	25	4	

* : Heure post prandiale ; # : D = duodénum ; J = jéjunum ; I = iléon

1 : Stillions *et al.*, 1970 cité par Kleffken, 1993 ; 2 : Radicke, 1993 cité par Kleffken, 1993 ; 3 : Wolter *et al.*, 1980 ; 4 : Landes, 1992 cité par Kleffken, 1993 ; 5 : Illenseer, 1994 ; 6 : Kern *et al.*, 1974 ; 7 : Radicke, 1990 cité par Kleffken, 1993.

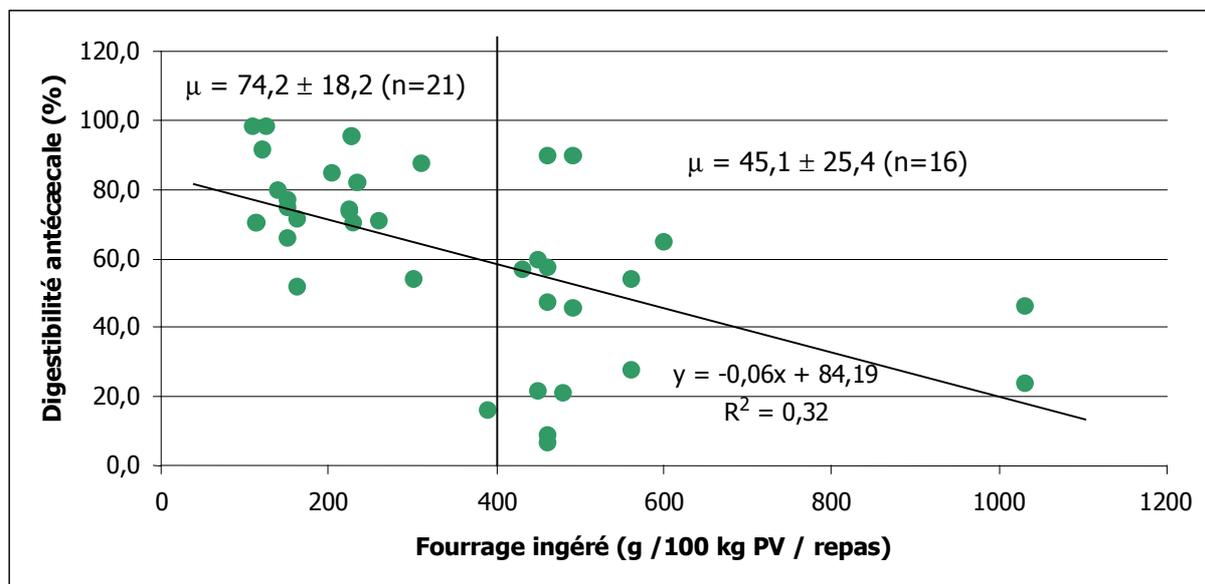


Figure 7 : Effet de la quantité de fourrage ingéré sur la digestibilité antécæcale de l'amidon (d'après Hintz *et al.*, 1971b; Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995)

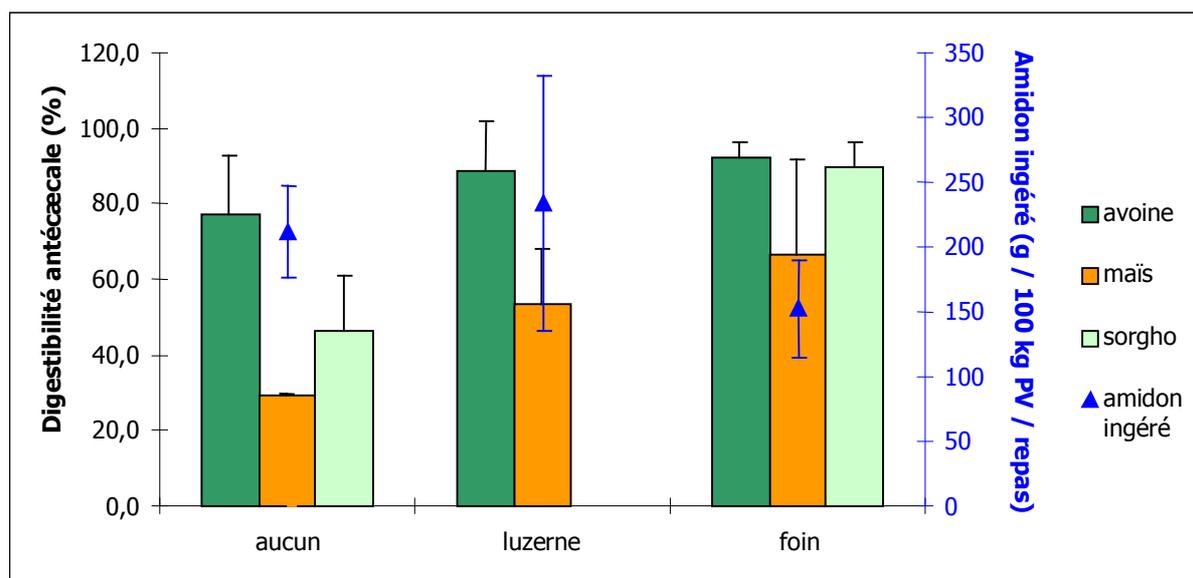


Figure 8 : Effet de la distribution de fourrage, et du type de fourrage choisi sur la digestibilité antécæcale de l'amidon de l'avoine, du maïs et du sorgho ; pour chaque modalité, la quantité d'amidon ingérée est indiquée quelle que soit la céréale (d'après Hintz *et al.*, 1971b; Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995)

Tableau 16 : Effet de la forme de présentation du foin sur la digestibilité antécæcale de l'avoine et du maïs

	brins longs	haché	broyé
Avoine	87,4 (-)	91,4 (± 0,4)	98,1 (-)
Maïs	16,4 (-)	80,2 (± 2,8)	70,8 (± 19,7)

D'après Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995.

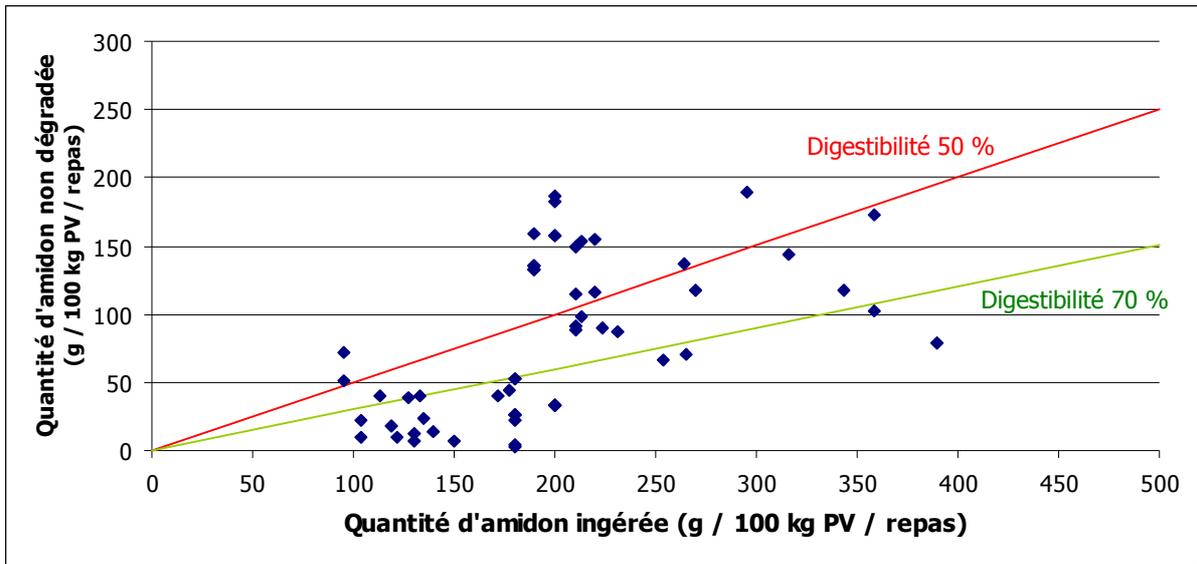


Figure 9 : Effet de la quantité d'amidon ingérée sur la quantité d'amidon non dégradée en antécæcal (d'après Hintz *et al.*, 1971b; Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Massey *et al.*, 1985; Brown, 1987; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995)

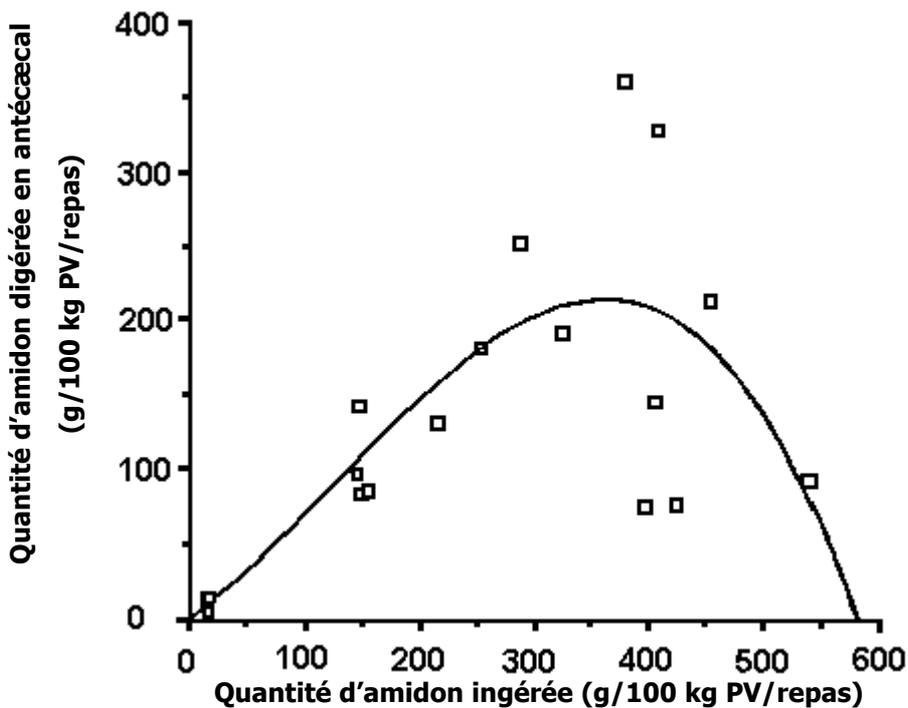


Figure 10 : Quantité d'amidon digérée dans l'intestin grêle en fonction de la quantité d'amidon ingérée (d'après Potter *et al.*, 1992)

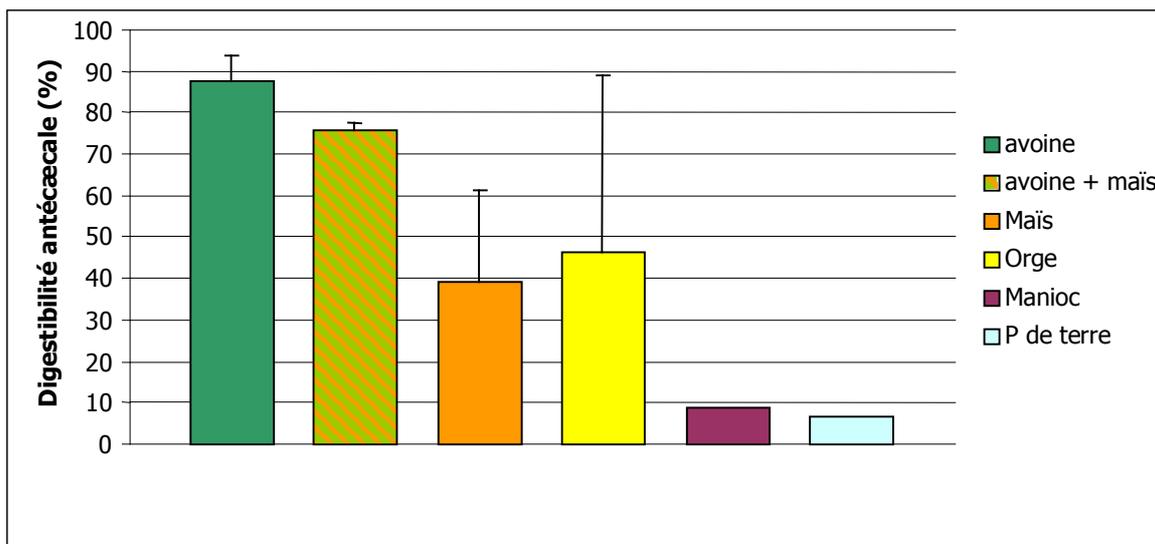


Figure 11 : Digestibilité antécæcale de l'amidon en fonction de son origine botanique pour une quantité d'amidon ingérée comprise entre 150 et 200 g / 100 kg PV / repas (d'après Arnold, 1982; Massey *et al.*, 1985; Brown, 1987; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993; Meyer *et al.*, 1995)

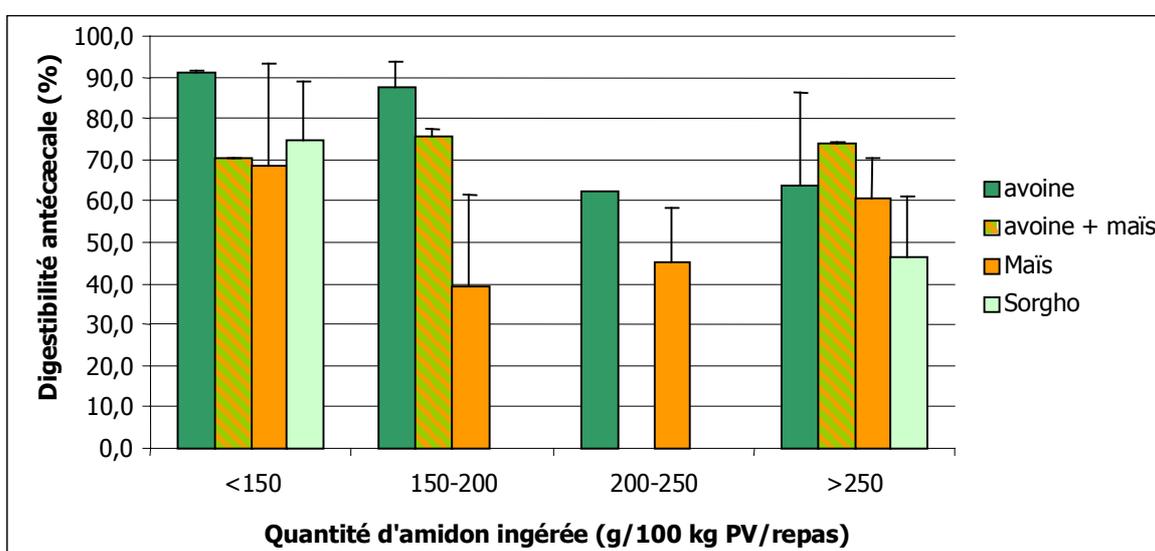


Figure 12 : Digestibilité antécæcale de l'amidon en fonction de son origine botanique et de la quantité d'amidon ingérée par repas (d'après Hintz *et al.*, 1971b; Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Massey *et al.*, 1985; Brown, 1987; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995)

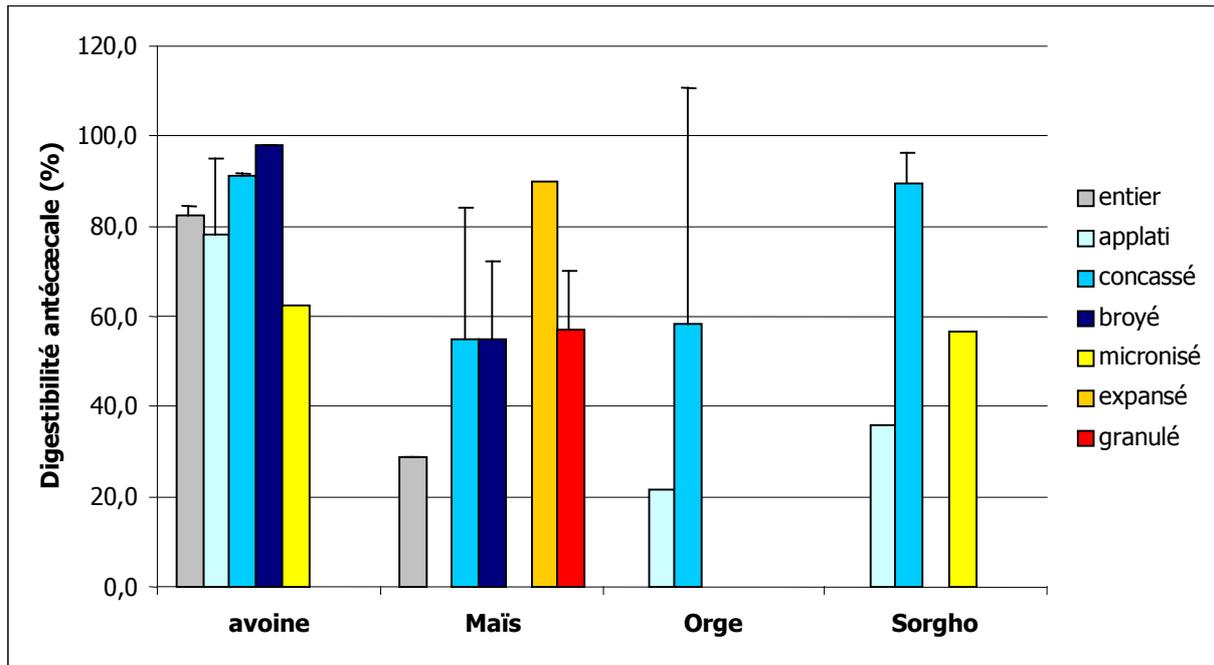


Figure 13 : Digestibilité antécæcale de l'amidon d'avoine, de maïs, d'orge et de sorgho en fonction du traitement technologique appliqué au grain (d'après Hintz *et al.*, 1971b; Householder, 1978; Arnold *et al.*, 1981; Arnold, 1982; Hinckle *et al.*, 1983; Radicke *et al.*, 1991; Kienzle *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1993 et 1995)

Tableau 17 : Effet du traitement technologique du grain de maïs sur la structure de l'amidon dans l'aliment et sur la digestibilité antécœcale de l'amidon (d'après Kienzle *et al.*, 1997)

Aliment	Digestibilité apparente (%)	Connexion entre les granules d'amidon	Structure des granules
Maïs entier ou concassé	29	Granules étroitement collées, s'assemblant en mosaïque	Taille identique (10 – 20 µm), forme polyédrique, surface lisse
Maïs broyé (broyeur industriel moderne)	47	Particules constituées de plusieurs granules, toutes les particules sont de taille identique	Granules plus ou moins inchangées
Maïs broyé (broyeur d'exploitation agricole)	71	Plusieurs granules isolées et quelques plus grosses particules constituées de plusieurs granules	Quelques granules endommagées ou détruites
Maïs expansé	90	Connexion entre granules partiellement ou totalement détruites	Granules déformées comme si elles avaient fondu, taille non modifiée, présence de structures amorphes partielles

Tableau 18 : Fractions de l'amidon natif et extrudé (à haute - HT - ou basse - LT - température) de différentes céréales et de pomme de terre (d'après Murray *et al.*, 2001)

	% RDS ^a	% SDS ^b	% RS ^c	TS ^d
Orge	23,2	11,4	17,0	51,6
Orge LT ^f	30,3	13,5	4,8	48,6
Orge HT ^g	47,8	4,4	6,0	58,2
Maïs	34,6	14,6	23,6	72,8
Maïs LT	54,2	13,1	6,4	73,7
Maïs HT	65,0	7,8	1,4	74,2
Blé	15,5	33,6	13,0	62,1
Blé LT	54,6	6,0	6,1	66,7
Blé HT	65,5	5,2	0,6	71,3
Sorgho	27,3	13,0	33,8	74,1
Sorgho LT	49,1	10,9	15,4	75,4
Sorgho HT	70,0	5,4	2,1	77,5
Pomme de terre	24,4	2,6	60,0	86,9
Pomme de terre LT	65,4	27,0	2,2	94,6
Pomme de terre HT	-	-	-	-

a : amidon rapidement digestible ; b : amidon lentement digestible ; c : amidon résistant ;

d : amidon total = RDS + SDS + RS ;

f : amidon extrudé à basse température (orge et maïs, 83°C ; blé, 86°C ; sorgho, 84°C ; pomme de terre, 94°C) ;

g : amidon extrudé à haute température (orge, 135°C ; maïs, 140°C ; blé, 143°C ; sorgho, 145°C).

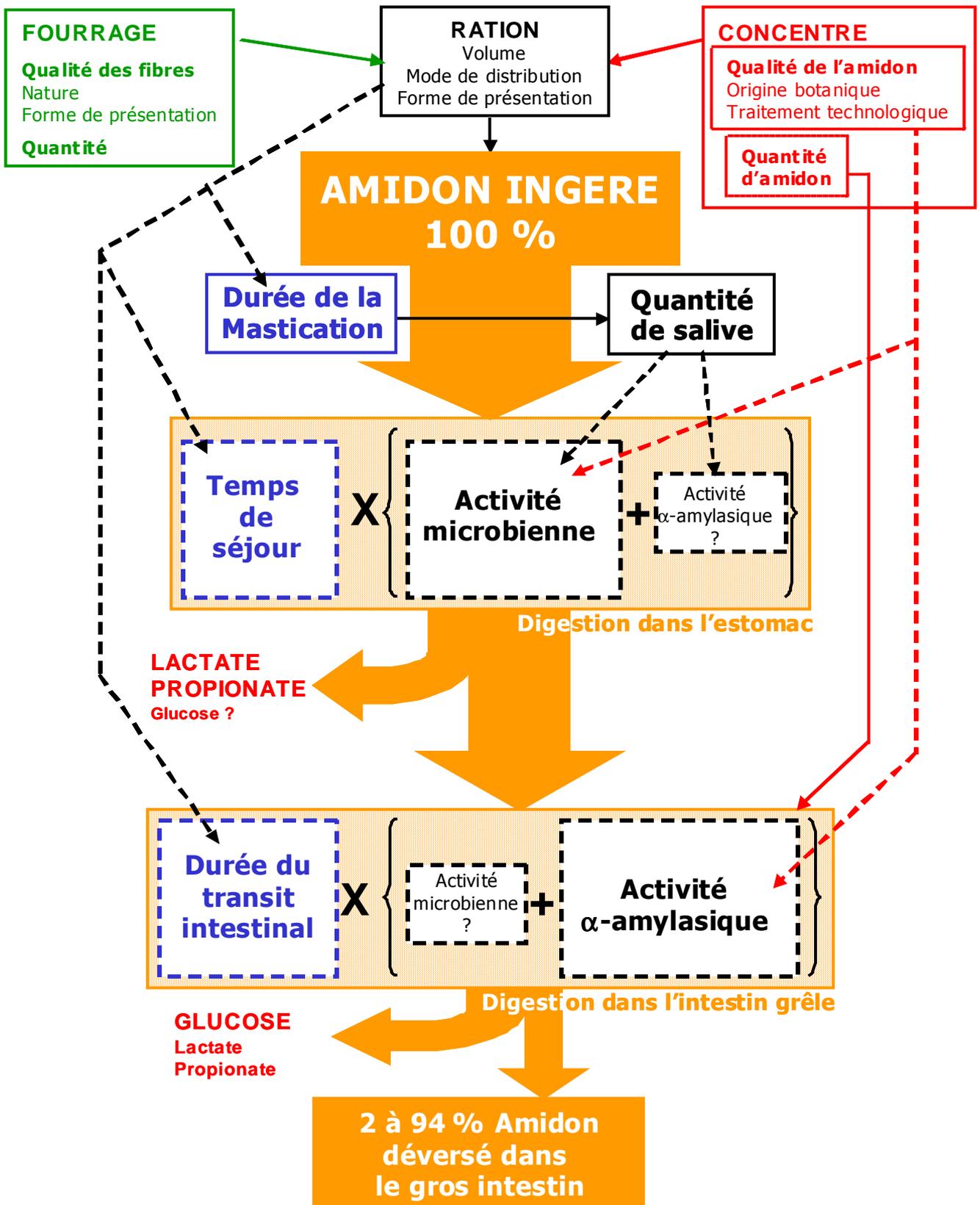


Figure 14 : Mécanismes impliqués dans la digestion antécœcale de l'amidon chez le cheval et substrats énergétiques formés disponibles pour l'animal. Identification du mode d'action des principaux facteurs de variation conditionnant la digestibilité antécœcale de l'amidon

Tableaux et Figures partie expérimentale

Table 19 : Description of diets fed

Item	Diet 1			Diet 2		
	Pelleted feed (P1)	Straw	Mean total composition	Pelleted feed (P2)	Hay	Mean total composition
Main constituents of pellets (% DM)						
Cereals	38.9			78.0		
Forage	45.6			6.0		
Chemical composition, DM basis						
Starch, %	21.1	ND	14.2	41.6	ND	23.3
Crude protein, %	12.0	5.1	9.8	13.4	8.5	11.2
Ash, %	6.6	4.7	6.0	6.1	9.1	7.4
Neutral detergent fibre (NDF), %	40.4	78.6	52.8	22.9	64.3	42.8
Acid detergent fibre (ADF), %	24.2	49.0	32.3	10.8	37.3	23.6
Acid detergent lignin (ADL), %	4.4	5.8	4.9	2.2	5.2	4.4
NDF / Starch	1.82		3.71	0.55		1.84
NDF-ADF (hemicellulose)			20.5			19.2
ADF-ADL (cellulose)			274			19.2

ND: non determined

Table 20 : Daily feeding program of each diet tested

Schedule	Diet 1 [†]	Diet 2 [†]
08:00 h.	393 g of pellet	750 g of pellet
10:00 h.	278 g of straw	—
12:00 h.	393 g of pellet	1000 g of meadow hay
16:00 h.	278 g of straw	—
18:00 h.	393 g of pellet	430 g of pellet
Daily pellet intake (DM basis)	1050 g / 100 kg BW	1082 g / 100 kg BW
Daily forage intake (DM basis)	506 g / 100 kg BW	848 g / 100 kg BW
Morning starch intake (DM basis)	74 g / 100 kg BW	286 g / 100 kg BW

[†] Amount as-fed / 100 kg BW

Table 21 : Mean time (hours) elapsed between the ingestion of morning meal (M), inducing of anaesthesia (A) and collection (C) of the digestive tract anatomic part from two groups of horses

	Group 1 (n=3 horses)		Group 2 (n=4 horses)	
	M / C	A / C	M / C	A / C
Stomach	4:30	2:05	4:52	2:20
Duodenum	4:12	2:02	4:42	2:10
Jejunum	3:47	1:36	4:04	1:32
Ileum	3:48	1:23	4:05	1:33
Cecum	4:09	1:59	4:41	2:09
Right ventral colon	4:15	1:55	4:42	2:10
Left ventral colon	3:13	0:48	3:43	1:11
Left dorsal colon	3:12	0:46	3:43	1:11
Right dorsal colon	4:15	1:55	4:46	2:14
Small colon	3:32	1:06	4:04	1:31

Table 22 : Microbial concentration in the different parts of the digestive tract of horses fed two distinct diets

Item	Anatomic part of the digestive tract ^A							SEM	Significance ^B		
	STO	JEJ	ILE	CEC	RVC	LDC	FAE		D	P	D×P
Total anaerobic bacteria (Log ₁₀ CFU / ml)											
Diet 1 (n = 3) ^C	9.1 ^{†; d,e}	8.7 ^{†; c,d}	7.9 ^{†; a,b}	7.6 ^{†; a}	8.1 ^{†; b}	9.1 ^{†; e}	8.6 ^{†; c}	0.43	***	***	
Diet 2 (n = 4) ^C	9.0 ^{†; d}	8.6 ^{†; c,e}	8.8 ^{†; d,c}	7.7 ^{†; a}	8.9 ^{†; d,c}	8.1 ^{†; b}	8.3 ^{†; b,e}				
Cellulolytic bacteria (Log ₁₀ MPN / ml)											
Diet 1 (n = 3)	1.4 ^{†; a}	1.8 ^{†; a}	1.7 ^{†; a}	6.0 ^{†; b}	6.0 ^{†; b}	5.6 ^{†; b}	5.2 ^{†; b}	0.50	**	***	
Diet 2 (n = 4)	1.0 ^{†; a}	0.9 ^{†; a}	1.0 ^{†; a}	5.0 ^{†; b,c}	5.5 ^{†; c}	4.7 ^{†; b}	5.0 ^{†; b,c}				
Lactobacilli (Log ₁₀ CFU / ml)											
Diet 1 (n = 3)	7.8 ^{†; b}	6.5 ^{†; a}	6.4 ^{†; a}	6.2 ^{†; a}	6.5 ^{†; a}	7.4 ^{†; b}	7.5 ^{†; b}	0.49	***	***	**
Diet 2 (n = 4)	8.4 ^{†; d}	6.8 ^{†; b}	7.2 ^{†; b,c}	6.1 ^{†; a}	7.0 ^{†; b}	7.0 ^{†; b}	7.4 ^{†; c}				
Streptococci (Log ₁₀ CFU / ml)											
Diet 1 (n = 3)	7.3 ^{†; b}	8.1 ^{†; c}	7.4 ^{†; b,c}	6.2 ^{†; a}	7.1 ^{†; b}	7.4 ^{†; b}	7.4 ^{†; b}	0.60	***	***	*
Diet 2 (n = 4)	7.5 ^{†; c}	7.5 ^{†; c,d}	8.0 ^{†; d}	6.3 ^{†; a}	7.6 ^{†; c,d}	6.9 ^{†; b}	7.8 ^{†; c,d}				
Lactate-utilising bacteria (Log ₁₀ CFU / ml)											
Diet 1 (n = 3)	6.8 ^{†; c}	6.7 ^{†; c,b}	6.5 ^{†; b,c,d}	6.1 ^{†; a,d}	5.8 ^{†; a}	6.5 ^{†; b,c,d}	6.3 ^{†; b,d}	0.53	***	***	***
Diet 2 (n = 4)	7.6 ^{†; e}	6.5 ^{†; c}	7.2 ^{†; d}	5.6 ^{†; a}	6.0 ^{†; b}	5.9 ^{†; a,b}	6.2 ^{†; b,c}				

^A Values are least square means. STO = Stomach; JEJ = Jejunum; ILE = Ileum; CEC = Caecum; RVC = Right Ventral Colon; LDC = Left Dorsal Colon; FAE = Faeces

^B Significance = Effects of the diet (D), the anatomic part of the digestive tract (P) and of the diet × anatomic-part-of-the-digestive-tract interaction (D×P)

^C n = number of animals in each diet

^{†,‡} Values within an item and a column are different if superscript differ ($P < 0.05$)

^{a,b,c,d,e} Values within a row are different if superscript differ ($P < 0.05$)

Table 23 : pH and D- / L-Lactate concentrations in the different parts of the digestive tract of horses fed two distinct diets

Item	Anatomic part of the digestive tract ^A										SEM	Significance ^B		
	STO	DUO	JEJ	ILE	CEC	RVC	LVC	LDC	RDC	SMC		D	P	D×P
pH														
Diet 1 (n = 3) ^C	4.5 [†] ; a	5.9 [†] ; b	6.9 [†] ; d	7.2 [†] ; e	6.2 [†] ; b	6.2 [†] ; b	6.6 [†] ; c,d	6.6 [†] ; c	6.2 [†] ; b	6.2 [†] ; b	0.3	***	***	
Diet 2 (n = 4) ^C	5.1 [†] ; a	6.6 [†] ; c	7.2 [†] ; d	7.4 [†] ; d	6.4 [†] ; c	6.5 [†] ; c	6.4 [†] ; c	6.4 [†] ; c	6.1 [†] ; c,b	5.8 [†] ; b				
D-Lactate (mmol / l)														
Diet 1 (n=3)	1.5 [†] ; b	0.4 [†] ; a,c	0.0 [†] ; a	0.0 [†] ; a	0.2 [†] ; a	0.2 [†] ; a,c	0.3 [†] ; a,c	1.3 [†] ; b,d	0.9 [†] ; b,c,d	0.5 [†] ; a,d	0.5	***	***	
Diet 2 (n=4)	0.5 [†] ; a,b	0.2 [†] ; a	0.0 [†] ; a	0.0 [†] ; a	0.1 [†] ; a	0.1 [†] ; a	0.0 [†] ; a	1.4 [†] ; c	1.0 [†] ; b,c	2.7 [†] ; d				
L-Lactate (mmol / l)														
Diet 1 (n=3)	3.0 [†] ; c	0.8 [†] ; b	0.5 [†] ; a,b	0.5 [†] ; b,c	0.1 [†] ; a	0.1 [†] ; a,c	0.2 [†] ; a,c	0.7 [†] ; b,d	0.6 [†] ; b,d	0.4 [†] ; a,d	0.2	***	***	
Diet 2 (n=4)	0.7 [†] ; b	0.4 [†] ; b	0.4 [†] ; a,b	0.5 [†] ; b	0.1 [†] ; a	0.0 [†] ; a	0.0 [†] ; a	0.7 [†] ; b	0.5 [†] ; b	1.2 [†] ; c				
Ratio L / D														
Diet 1 (n=3)	4.2 [†] ; b,c	6.7 [†] ; c	14.2 [†] ; d	12.3 [†] ; d	0.6 [†] ; a	0.7 [†] ; a,b	0.5 [†] ; a,b	0.6 [†] ; a,b	0.6 [†] ; a,b	0.7 [†] ; a,b	2.4	***		
Diet 2 (n=4)	2.2 [†] ; a	6.1 [†] ; b	10.4 [†] ; c	9.3 [†] ; b,c	0.8 [†] ; a	0.5 [†] ; a	0.7 [†] ; a	0.5 [†] ; a	0.5 [†] ; a	0.3 [†] ; a				

^A Values are least square means. STO = Stomach; DUO = Duodenum; JEJ = Jejunum; ILE = Ileum; CEC = Cecum; RVC = Right Ventral colon; LVC = Left Ventral Colon; LDC = Left Dorsal Colon; RDC = Right Dorsal Colon; SMC = Small Colon

^B Significance = Effects of the diet (D), the anatomic part of the digestive tract (P) and of the diet × anatomic-part-of-the-digestive-tract interaction (D×P)

^C n = number of animals in each diet

^{†, ‡} Values within an item and a column are different if superscript differ ($P < 0.05$)

^{a, b, c, d, e} Values within a row are different if superscript differ ($P < 0.05$)

Table 24 : Volatile fatty acids (VFA) concentrations in the different parts of the digestive tract of horses fed two distinct diets

Item	Anatomic part of the digestive tract ^A										SEM	Significance ^B		
	STO	DUO	JEJ	ILE	CEC	RVC	LVC	LDC	RDC	SMC		D	P	D×P
Total VFA (mmol/L)														
Diet 1 (n = 3) ^C	10.1 ^{†; a}	4.9 ^{†; a}	3.6 ^{†; a}	4.5 ^{†; a}	82.6 ^{†; d}	89.1 ^{†; d}	75.5 ^{†; c,d}	56.5 ^{†; c}	73.4 ^{†; c,d}	34.5 ^{†; b}	12.9	***	***	***
Diet 2 (n = 4) ^C	19.5 ^{†; a}	6.8 ^{†; a}	9.0 ^{†; a}	9.2 ^{†; a}	121.8 ^{†; c}	122.8 ^{†; b,c}	117.4 ^{†; b,c}	103.3 ^{†; b}	121.7 ^{†; c}	117.1 ^{†; b,c}				
Acetate (mmol/L)														
Diet 1 (n=3)	9.7 ^{†; a}	4.6 ^{†; a}	3.4 ^{†; a}	3.5 ^{†; a}	54.1 ^{†; d}	56.7 ^{†; d}	50.0 ^{†; c,d}	40.6 ^{†; c}	55.3 ^{†; c,d}	25.3 ^{†; b}	9.0	***	***	***
Diet 2 (n=4)	15.7 ^{†; a}	5.4 ^{†; a}	6.1 ^{†; a}	6.4 ^{†; a}	81.3 ^{†; b,c}	79.4 ^{†; b,c}	77.9 ^{†; b,c}	75.8 ^{†; b}	90.1 ^{†; c}	87.7 ^{†; b,c}				
Propionate (mmol/l)														
Diet 1 (n=3)	0.1 ^{†; a}	0.1 ^{†; a}	0.1 ^{†; a}	0.5 ^{†; a,b}	19.7 ^{†; e}	18.3 ^{†; e}	15.3 ^{†; d,e}	9.1 ^{†; c}	10.5 ^{†; c,d}	6.0 ^{†; b}	3.3	*	***	
Diet 2 (n=4)	1.5 ^{†; a}	0.5 ^{†; a}	0.9 ^{†; a}	1.1 ^{†; a}	28.4 ^{†; c}	25.2 ^{†; c}	23.8 ^{†; c}	14.6 ^{†; b}	16.1 ^{†; b}	15.0 ^{†; b}				
Iso-Butyrate (mmol/l)														
Diet 1 (n=3)	0.1 ^{†; a,b}	0.1 ^{†; a}	0.0 ^{†; a}	0.0 ^{†; a}	0.5 ^{†; b}	1.3 ^{†; c}	1.3 ^{†; c}	1.4 ^{†; c}	1.5 ^{†; c}	0.6 ^{†; b}	0.3	**	***	***
Diet 2 (n=4)	0.7 ^{†; b}	0.1 ^{†; a}	0.4 ^{†; a,b}	0.2 ^{†; a}	0.7 ^{†; b}	2.6 ^{†; c,d}	2.3 ^{†; c}	2.3 ^{†; c}	2.8 ^{†; d}	2.9 ^{†; d}				
Butyrate (mmol/l)														
Diet 1 (n=3)	0.1 ^{†; a}	0.1 ^{†; a}	0.1 ^{†; a}	0.4 ^{†; a}	7.3 ^{†; c}	10.6 ^{†; d}	7.1 ^{†; c}	3.3 ^{†; b}	3.8 ^{†; b}	1.7 ^{†; a,b}	1.5	*	***	
Diet 2 (n=4)	1.2 ^{†; a}	0.5 ^{†; a}	1.2 ^{†; a}	0.9 ^{†; a}	9.4 ^{†; c,d}	12.1 ^{†; e}	10.5 ^{†; d,e}	6.7 ^{†; b}	8.1 ^{†; b,c}	6.7 ^{†; b}				
Iso-Valerate (mmol/l)														
Diet 1 (n=3)	0.0 ^{†; a}	0.0 ^{†; a}	0.0 ^{†; a}	0.0 ^{†; a}	0.5 ^{†; a}	1.4 ^{†; b}	1.3 ^{†; b,c}	1.4 ^{†; b}	1.7 ^{†; b}	0.6 ^{†; a,c}	0.5	*	***	***
Diet 2 (n=4)	0.2 ^{†; a}	0.3 ^{†; a}	0.3 ^{†; a}	0.4 ^{†; a}	1.1 ^{†; b}	2.3 ^{†; c,d}	1.8 ^{†; c}	2.8 ^{†; d,e}	3.2 ^{†; e}	3.6 ^{†; e}				
Valerate (mmol/l)														
Diet 1 (n=3)	0.0 ^{†; a}	0.0 ^{†; a,b}	0.0 ^{†; a,b}	0.0 ^{†; a,b}	0.5 ^{†; b,c}	0.8 ^{†; d}	0.7 ^{†; c,d}	0.6 ^{†; c,d}	0.7 ^{†; d}	0.3 ^{†; b}	0.2	*	***	**
Diet 2 (n=4)	0.2 ^{†; a}	0.1 ^{†; a}	0.1 ^{†; a}	0.2 ^{†; a}	0.8 ^{†; b}	1.3 ^{†; d,e}	1.0 ^{†; b,c,e}	1.0 ^{†; c}	1.4 ^{†; d}	1.2 ^{†; c,d}				
(C2 + C4) / C3														
Diet 1 (n=3)	85.1 ^{†; a}	48.3 ^{†; b}	40.5 ^{†; b}	22.3 ^{†; b,c}	3.3 ^{†; c}	3.7 ^{†; c}	3.8 ^{†; c}	5.0 ^{†; c}	5.7 ^{†; c}	4.4 ^{†; c}	15.7		***	**
Diet 2 (n=4)	14.4 ^{†; a,b}	25.7 ^{†; a}	11.9 ^{†; a,b}	14.1 ^{†; a,b}	3.2 ^{†; b}	4.4 ^{†; a,b}	4.4 ^{†; a,b}	5.9 ^{†; a,b}	6.1 ^{†; a,b}	8.5 ^{†; a,b}				

^A Values are least square means. STO = Stomach; DUO = Duodenum; JEJ = Jejunum; ILE = Ileum; CEC = Cecum; RVC = Right Ventral colon; LVC = Left Ventral Colon; LDC = Left Dorsal Colon; RDC = Right Dorsal Colon; SMC = Small Colon

^B Significance = Effects of the diet (D), the anatomic part of the digestive tract (P) and of the diet × anatomic-part-of-the-digestive-tract interaction (D×P)

^C n = number of animals in each diet

^{†, ‡} Values within an item and a column are different if superscript differ ($P < 0.05$)

^{a, b, c, d, e} Values within a row are different if superscript differ ($P < 0.05$)

Table 25 : Chemical composition and description of the high fibre diet (D1) and of the high starch diet (D2) given to horses

Item	Diet 1			Diet 2		
	Pelleted feed (P1)	Straw	Mean total composition	Pelleted feed (P2)	Hay	Mean total composition
% DM	88.6	91.0		91.7	84.8	
Main constituents of pellets (% DM)						
Cereals	38.9			78.0		
Forage	45.6			6.0		
Chemical composition (% DM)						
Starch	21.1	nd	14.2	41.6	nd	23.3
Crude protein	12.0	5.1	9.8	13.4	8.5	11.2
Ash	6.6	4.7	6.0	6.1	9.1	7.2
NDF	40.4	78.6	52.8	22.9	64.3	42.8
ADF	24.2	49.0	32.3	10.8	37.3	23.6
ADL	4.4	5.8	4.9	2.2	5.2	4.4
AIA	1.9	4.5	2.7	0.4	3.1	1.6
Ratios						
NDF / Starch	1.82		3.71	0.55		1.84
NDF-ADF (hemicellulose)			20.5			19.2
ADF-ADL (cellulose)			27.4			19.2

nd = non determined.

Table 26 : Distribution patterns of the high fibre diet (D1) and the high starch diet (D2) given to horses

Hours	Diet 1		Diet 2	
	Pelleted feed (P1) g / 100 kg BW	Straw g / 100 kg BW	Pelleted feed (P2) g / 100 kg BW	Hay g / 100 kg BW
08:00	393		750	
10:00		278		
12:00	393			1000
16:00		278		
18:00	393		400	
TOTAL	1179	555	1150	1000

Table 27 : Mean time (hours) elapsed between the ingestion of morning meal (M), the anaesthesia induction (A) and the digesta collection (C) from horses given a high fiber (D1) or a high starch (D2) diet

Compartment ^A	LVC		LDC		SMC		JEI		CEC		RVC		RDC		STO		
	M/A	A/C	M/C														
D 1 (n = 3)																	
Mean	2:25	0:48	3:13	0:46	3:12	1:06	3:32	1:28	3:54	1:59	4:09	1:55	4:15	1:55	4:15	2:05	4:30
sd		0:01	0:14	0:01	0:14	0:16	0:03	0:21	0:41	0:16	0:30	nd	nd	nd	nd	0:08	0:31
D 2 (n = 4)																	
Mean	2:32	1:11	3:43	1:11	3:43	1:31	4:04	1:33	4:05	2:09	4:41	2:10	4:42	2:14	4:46	2:20	4:52
sd		0:26	0:25	0:13	0:15	0:53	0:53	0:14	0:15	0:23	0:27	0:20	0:22	0:15	0:18	0:33	0:33
All horses																	
Mean	2:29	0:59	3:28	0:58	3:27	1:18	3:48	1:31	4:00	2:04	4:25	2:02	4:28	2:10	4:40	2:13	4:42
sd		0:24	0:32	0:12	0:24	0:42	0:42	0:16	0:26	0:20	0:29	0:18	0:22	0:16	0:21	0:25	0:32

^A LVC = Left ventral colon; LDC = Left dorsal colon; JEI = Jejunum-ileum; SMC = Small colon; CEC = Caecum; RDC = Right dorsal colon; RVC = Right ventral colon; STO = Stomach. nd: non determined.

Table 28 : Organ length, volume and dry matter content of digesta collected in the digestive tract of horses given a high fiber (D1) or a high starch (D2) diet

	STO ^A	DUO	JEI	CEC	RVC	LVC	LDC	RDC	SMC	FAE
Organ length (cm)										
D 1 (n=3)	-	104	1124	76	73	62	54	77	215	-
D 2 (n=4)	-	142	1485	105	69	81	55	86	195	-
Volume of digesta (ml)										
D 1 (n=3)	2623	133	3327	5960	3217	6733	1817	3000	2433	-
D 2 (n=4)	5450	220	4528	5225	2888	3863	638	3600	2588	-
DM content (%)										
D 1 (n=3)	19.8	13.1	7.4	9.9	15.6	15.1	14.9	17.9	21.0	25.5
D 2 (n=4)	22.2	5.0	7.1	8.6	15.9	15.7	15.0	17.4	20.1	21.2

^ASTO = Stomach; DUO = Duodenum; JEI = Jejunum-ileum; CEC = Caecum; RVC = Right ventral colon; LVC = Left ventral colon; LDC = Left dorsal colon; RDC = Right dorsal colon; SMC = Small colon; FAE = Faeces.

Figure 15 : Postprandial effect of the marker (● ADL and ▲ AIA) on dietary components digestibilities in the digestive tract (STO = Stomach; JEI = Jejunum-ileum; CEC = Caecum; RVC = Right ventral colon; LVC = Left ventral colon; LDC = Left dorsal colon; RDC = Right dorsal colon; SMC = Small colon; FAE = Faeces) of horses fed a low starch diet (D1)

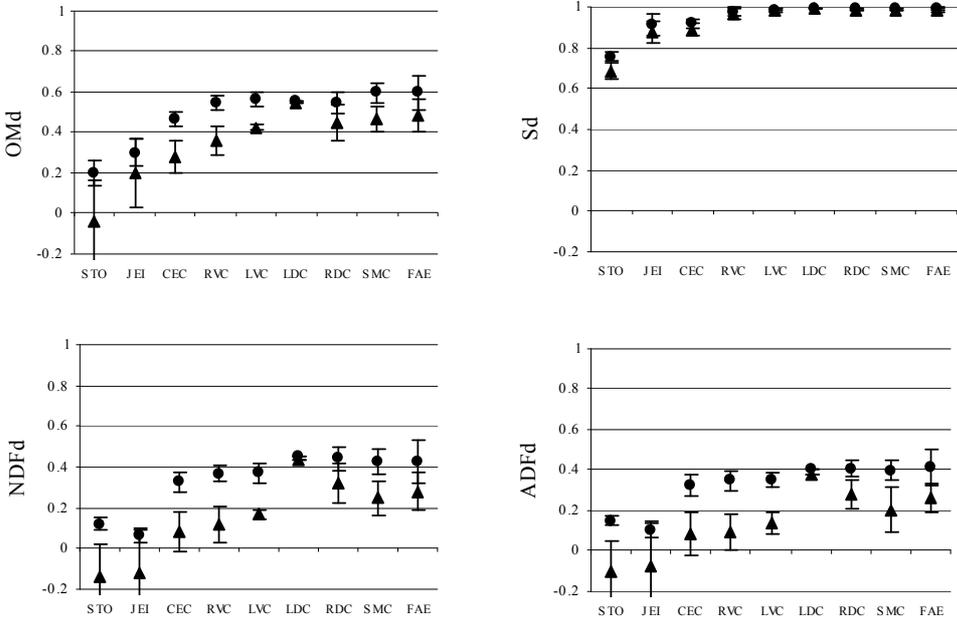


Figure 16 : Postprandial effect of the marker (● ADL and ▲ AIA) on dietary components digestibilities in the digestive tract (STO = Stomach; JEI = Jejunum-ileum; CEC = Caecum; RVC = Right ventral colon; LVC = Left ventral colon; LDC = Left dorsal colon; RDC = Right dorsal colon; SMC = Small colon; FAE = Faeces) of horses fed a high starch diet (D2)

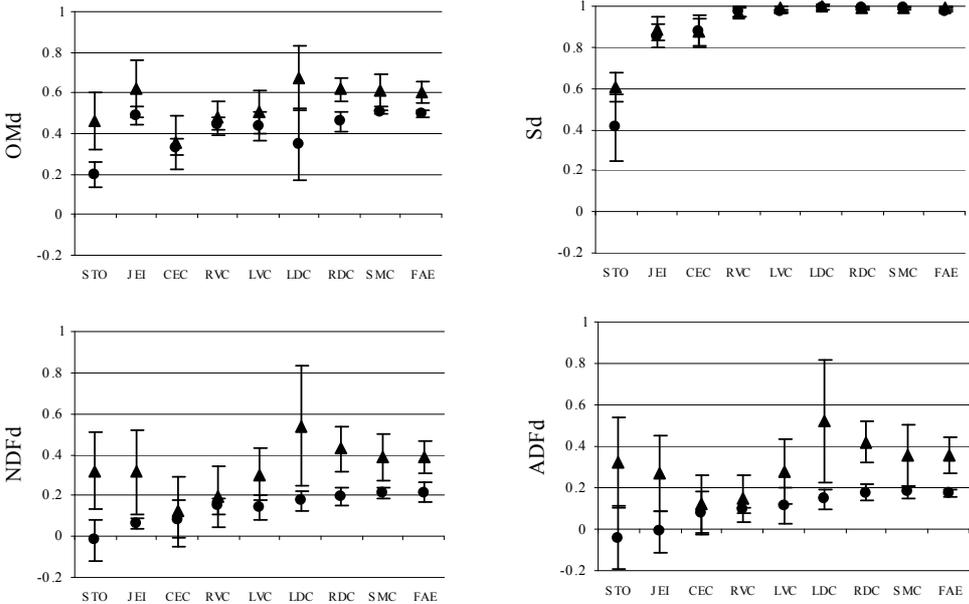


Table 29 : Apparent digestibility of organic matter and dietary carbohydrates, using acid insoluble ash (AIA) as indigestible internal marker, along the digestive tract of horses given a high fiber (D1) or a high starch (D2) diet

	STO ^A	JEI	CEC	RVC	LVC	LDC	RDC	SMC	FAE	Significance		
										S	D	SxD
Omd ^C												
D 1 (n=3) ^D	-0.042 ^{a, †}	0.202 ^{a, †}	0.278 ^{a, b, †}	0.362 ^{a, b, †}	0.426 ^{a, b, †}	0.548 ^{b, †}	0.446 ^{b, †}	0.467 ^{b, †}	0.486 ^{b, †}	*	***	
D 2 (n=4) ^D	0.460 ^{a, †}	0.620 ^{a, b, ‡}	0.357 ^{a, †}	0.479 ^{a, b, †}	0.507 ^{a, b, †}	0.673 ^{b, †}	0.618 ^{a, b, †}	0.609 ^{a, b, †}	0.606 ^{a, b, †}			
Sd												
D 1 (n=3)	0.686 ^{a, †}	0.876 ^{b, †}	0.889 ^{b, †}	0.966 ^{c, †}	0.986 ^{c, †}	0.994 ^{c, †}	0.986 ^{c, †}	0.985 ^{c, †}	0.981 ^{c, †}	***		
D 2 (n=4)	0.604 ^{a, †}	0.889 ^{b, †}	0.877 ^{b, †}	0.967 ^{c, †}	0.991 ^{c, †}	0.100 ^{c, †}	0.990 ^{c, †}	0.994 ^{c, †}	0.994 ^{c, †}			
NDFd												
D 1 (n=3)	-0.142 ^{a, †}	-0.117 ^{a, †}	0.085 ^{a, †}	0.117 ^{a, †}	0.168 ^{a, †}	0.435 ^{a, †}	0.318 ^{a, †}	0.246 ^{a, †}	0.280 ^{a, †}	**	**	
D 2 (n=4)	0.321 ^{a, b, ‡}	0.314 ^{a, b, ‡}	0.121 ^{a, †}	0.195 ^{a, †}	0.303 ^{a, b, †}	0.539 ^{b, †}	0.428 ^{b, †}	0.384 ^{b, †}	0.389 ^{b, †}			
ADFd												
D 1 (n=3)	-0.103 ^{a, †}	-7.2 ^{a, †}	0.081 ^{a, †}	0.092 ^{a, †}	0.137 ^{a, †}	0.380 ^{a, †}	0.276 ^{a, †}	0.203 ^{a, †}	0.262 ^{a, †}		*	
D 2 (n=4)	0.319 ^{a, b, †}	26.9 ^{a, b, †}	0.123 ^{a, †}	0.149 ^{a, †}	0.278 ^{a, b, †}	0.524 ^{b, †}	0.421 ^{a, †}	0.356 ^{a, †}	0.355 ^{a, †}			

^ASTO = Stomach; JEI = Jejunum-ileum; CEC = Caecum; RVC = Right ventral colon; LVC = Left ventral colon; LDC = Left dorsal colon; RDC = Right dorsal colon; SMC = Small colon; FAE = Faeces.

^B Significance = Effects of the digestive segment (S), the diet (D) and of the digestive-segment × diet interaction (SxD)

^C Omd = Organic Matter digestibility; Sd = Starch and sugars digestibility; NDFd = Neutral Detergent Fibre digestibility; ADFd = Acid Detergent Fibre digestibility.

^D n = number of animals in each diet

^{†, ‡} † means within an item and a column are different if superscript differ ($P < 0.05$).

^{a, b, c, d, e} ‡ means within a row are different if superscript differ ($P < 0.05$).

Table 30 : Apparent digestibility of organic matter and dietary carbohydrates, using acid detergent lignin (ADL) as indigestible internal marker, along the digestive tract of horses given a high fiber (D1) or a high starch (D2) diet

	STO ^A	JEI	CEC	RVC	LVC	LDC	RDC	SMC	FAE	Significance		
										S	D	S×D
Omd ^C												
D 1 (n=3) ^D	0.201 ^{a, †}	0.300 ^{a, †}	0.469 ^{b, †}	0.543 ^{b, †}	0.564 ^{b, †}	0.560 ^{b, †}	0.547 ^{b, †}	0.596 ^{b, †}	0.598 ^{b, †}	***	**	*
D 2 (n=4) ^D	0.197 ^{a, †}	0.488 ^{b, †}	0.332 ^{c, †}	0.448 ^{c, b, †}	0.438 ^{c, b, †}	0.349 ^{c, †}	0.458 ^{b, †}	0.506 ^{b, †}	0.498 ^{b, †}			
Sd												
D 1 (n=3)	0.757 ^{a, †}	0.910 ^{b, †}	0.919 ^{b, †}	0.977 ^{c, †}	0.985 ^{c, †}	0.987 ^{c, †}	0.988 ^{c, †}	0.988 ^{c, †}	0.988 ^{c, †}	***	**	**
D 2 (n=4)	0.410 ^{a, †}	0.854 ^{b, †}	0.875 ^{b, †}	0.972 ^{c, †}	0.970 ^{c, †}	0.994 ^{c, †}	0.988 ^{c, †}	0.989 ^{c, †}	0.977 ^{c, †}			
NDFd												
D 1 (n=3)	0.120 ^{a, †}	0.068 ^{a, †}	0.326 ^{b, †}	0.366 ^{b, †}	0.370 ^{b, †}	0.452 ^{b, †}	0.442 ^{b, †}	0.429 ^{b, †}	0.430 ^{b, †}	***	***	
D 2 (n=4)	-0.020 ^{a, †}	0.063 ^{b, †}	0.083 ^{b, c, †}	0.146 ^{c, d, †}	0.140 ^{c, d, †}	0.174 ^{c, d, †}	0.192 ^{c, d, †}	0.214 ^{d, †}	0.216 ^{d, †}			
ADFd												
D 1 (n=3)	0.151 ^{a, †}	0.104 ^{a, †}	0.324 ^{b, †}	0.348 ^{b, †}	0.350 ^{b, †}	0.407 ^{b, †}	0.407 ^{b, †}	0.399 ^{b, †}	0.416 ^{b, †}	***	***	
D 2 (n=4)	-0.040 ^{a, †}	-0.012 ^{a, †}	0.079 ^{a, b, †}	0.093 ^{a, b, †}	0.112 ^{a, b, †}	0.144 ^{b, †}	0.178 ^{b, †}	0.179 ^{b, †}	0.177 ^{b, †}			

^ASTO = Stomach; JEI = Jejuno-ileum; CEC = Caecum; RVC = Right ventral colon; LVC = Left ventral colon; LDC = Left dorsal colon; RDC = Right dorsal colon; SMC = Small colon; FAE = Faeces.

^BSignificance = Effects of the digestive segment (S), the diet (D) and of the digestive-segment × diet interaction (S×D)

^COMd = Organic Matter digestibility; Sd = Starch and sugars digestibility; NDFd = Neutral Detergent Fibre digestibility; ADFd = Acid Detergent Fibre digestibility.

^Dn = number of animals in each diet

^{†, ‡} means within an item and a column are different if superscript differ ($P < 0.05$).

^{a, b, c, d, l} means within a row are different if superscript differ ($P < 0.05$).

Table 31 : Mean (s.e.) Dry Matter (DMD) and Starch (SD) Disappearance from nylon bags containing either oats, barley or corn collected in the stomach or the small intestine of horses fed two distinct pellets.

	Oats		Corn		Barley	
	Stomach	Small intestine	Stomach	Small intestine	Stomach	Small intestine
DMD(%)						
Pellet 1	57.9 (1.38) ^{A; c,d}	60.5 (1.07) ^{A; d}	23.7 (1.83) ^{A; a}	58.8 (0.67) ^{A; c,d}	47.4 (1.75) ^{A; b}	57.9 (0.60) ^{A; c}
Pellet 2	60.7 (0.30) ^{B; c}	64.2 (0.33) ^{A; c}	21.4 (1.30) ^{A; a}	52.6 (1.30) ^{B; b}	51.7 (0.60) ^{B; b}	54.7 (1.21) ^{B; b}
SD (%)						
Pellet 1	95.9 (0.53) ^{A; d}	99.3 (0.09) ^{A; d}	27.7 (2.14) ^{A; a}	70.8 (1.15) ^{A; b}	65.6 (2.32) ^{A; b}	79.0 (0.94) ^{A; c}
Pellet 2	97.9 (0.16) ^{B; d}	99.2 (0.10) ^{A; d}	23.9 (1.51) ^{B; a}	61.8 (1.44) ^{B; b}	70.7 (0.65) ^{B; c}	69.3 (0.42) ^{B; c}

A,B : For each variable, means within an anatomical part are different if superscript differ (P <0.05)

a,b,c,d : For each variable, means within a diet are different if superscript differ (P <0.05)



Figure 17 : Paddock utilisé pour la sortie bi-hebdomadaire des chevaux

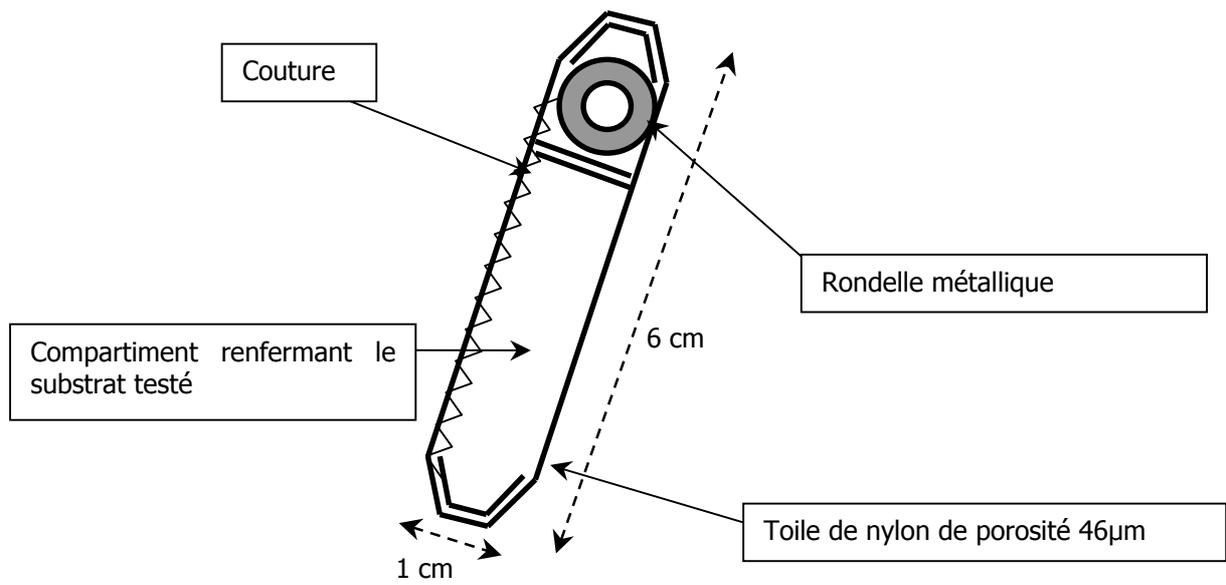
Tableau 32 : Composition de l'aliment granulé distribué lors de la mise en place de la technique des sachets mobiles

Composant	Pourcentage	Apport d'amidon (% de l'amidon total)
Avoine	25,0	25,0
Blé	16,4	25,0
Orge	19,0	25,0
Maïs	15,5	25,0
Luzerne	6,0	—
Tourteau de soja	1,0	—
Tourteau de tournesol	10,0	—
Carbonate de calcium	1,2	—
Dicalcium phosphate	0,1	—
Sel	0,6	—
Mélasse de cane	3,0	—
Premix	2,2	—

Tableau 33 : Composition analytique du foin distribué lors de la mise en place de la technique des sachets mobiles

Composant	Pourcentage
MS (%)	84,8
MO (% de MS)	91,1
MM (% de MS)	8,9
MAT (% de MS)	7,4
NDF (% de MS)	59,4
ADF (% de MS)	33,5
ADL (% de MS)	4,4

A.



B.

Figure 18 : Représentation schématique des sachets mobiles fabriqués (A), Etapes de la fabrication des sachets mobiles (B)

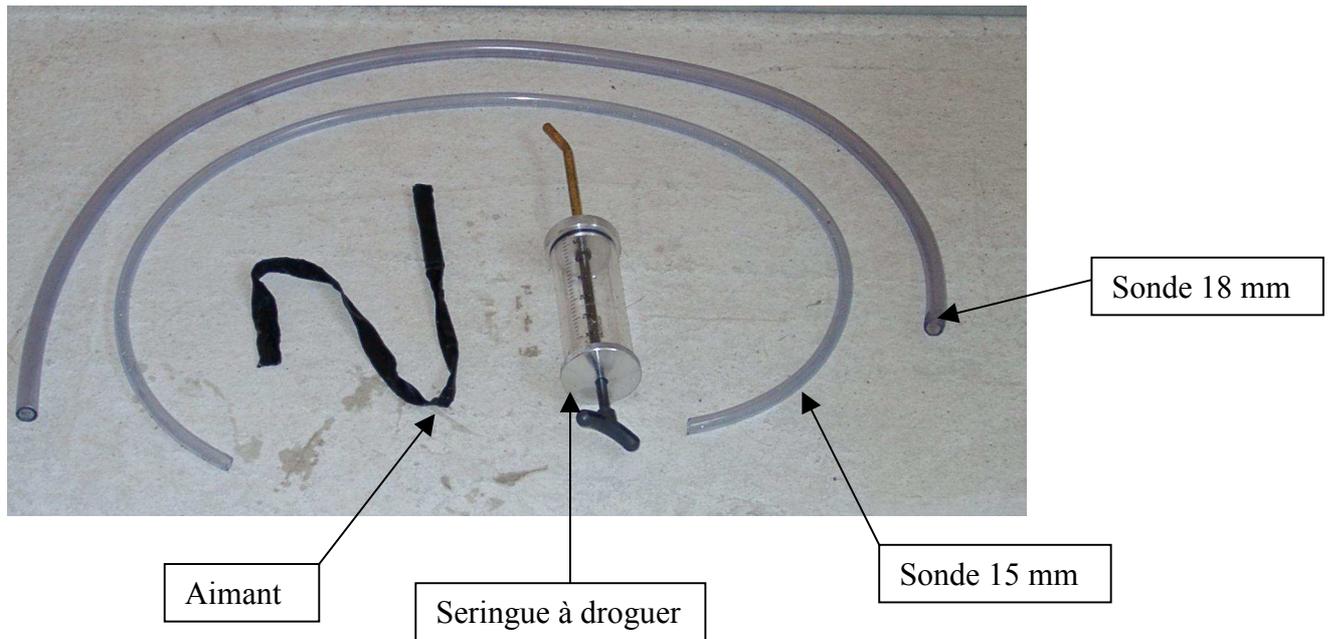


Figure 19 : Matériel utilisé pour l'intubation des sachets par voie naso-œsophagienne et leur récupération dans le cœcum



A.



B.

Figure 20 : Intubation des sachets de nylon par voie naso-œsophagienne. Dix sachets sont placés dans la sonde (A) – Les sachets sont chassés dans l'œsophage avec une seringue à droguer contenant de l'eau (B)

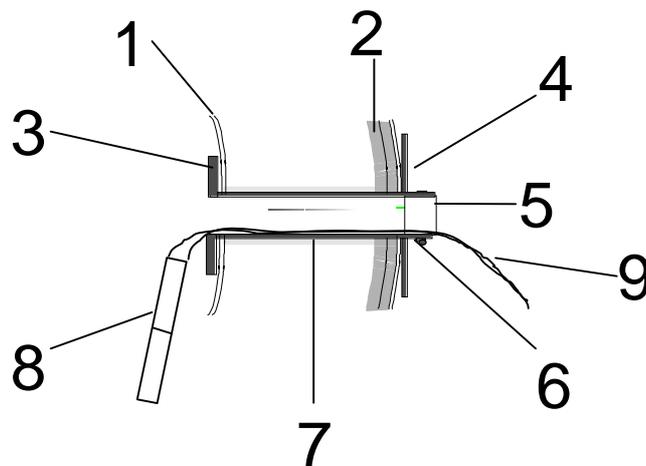


Figure 21 : Représentation schématique de la canule cœcale et positionnement de l'aimant utilisé pour capter les sachets mobiles

1. Paroi intestinale
2. Paroi abdominale (peau, plans musculaires et péritoine)
3. Pavillon interne de la canule
4. Rondelle externe en alkathène
5. Bouchon en Bakélite maintenu dans la canule par une bague de serrage
6. Bague de serrage empêchant la rondelle de glisser et la canule de pénétrer plus avant dans le compartiment digestif
7. Gangue de tissu cicatriciel
8. Deux barreaux aimantés superposés dans un sac de nylon
9. Extrémité externe du sac de nylon renfermant les aimants ; le bouchon de la canule (5) fixe le sac et empêche les aimants de plonger au fond du cæcum

Tableau 34 : Composition de la salive artificielle du cheval à pH 7,56

pour 1 litre	Composant
1,3361 g	$\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12 \text{ H}_2\text{O}$
6,0164 g	NaHCO_3
1,1011 g	NaCl
6,7156 g	Na_2CO_3
2,2743 g	KCl
5,7137 g	$\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$
3,0615 g	$\text{MgCl}_2, 6\text{H}_2\text{O}$
15,2 ml	$\text{HCl } 3\text{N}$
984,8 ml	H_2O



Figure 24 : Vibroboyeur oscillant utilisé pour broyer le substrat résiduel récolté dans les sachets mobiles

Tableau 35 : Modèles statistiques utilisés pour chaque variable

	Taux de récupération brut	Temps de rétention moyen	DMS	Damidon
Modèle	Individu Jour Substrat Individu * Jour Individu * Substrat	Individu Jour	Individu Jour Substrat Substrat * Jour Tranche horaire Substrat * Tranche horaire	Individu Jour Substrat Substrat * Jour
DDL	19	7	36	28
Effectif	56	14	260	73

Tableau 36 : Etude du taux de récupération brut (TRB) des sachets mobiles pour chaque cheval

	TRB moyen \pm écart-type (%)	TRB minimum (%)	TRB maximum (%)
Appache	64,8 \pm 21,3	32,1	89,3
Dupe	85,7 \pm 13,7	60,7	100,0

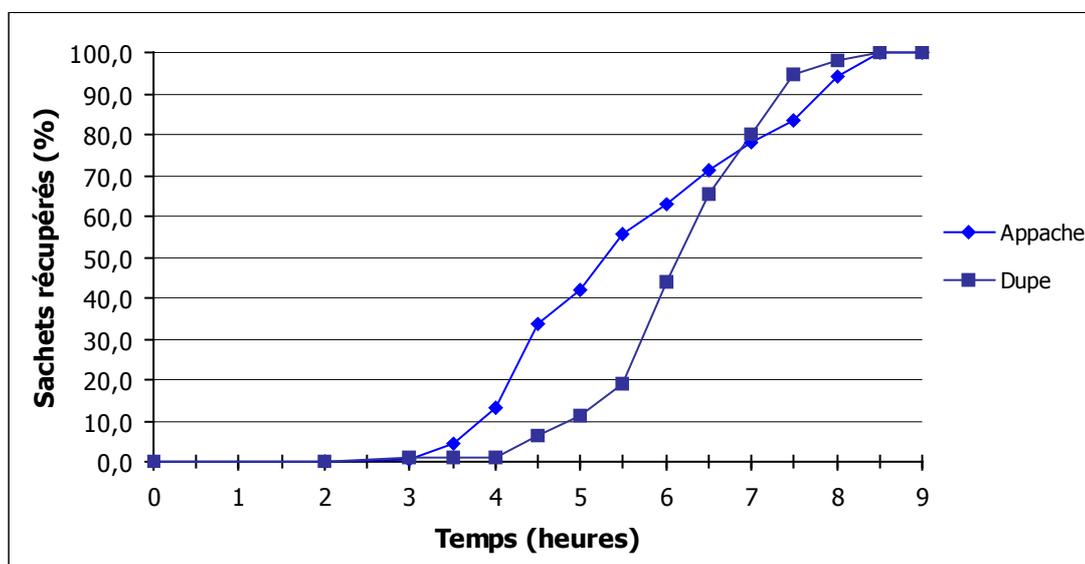


Figure 25 : Cinétique de récupération des sachets mobiles pour chaque cheval

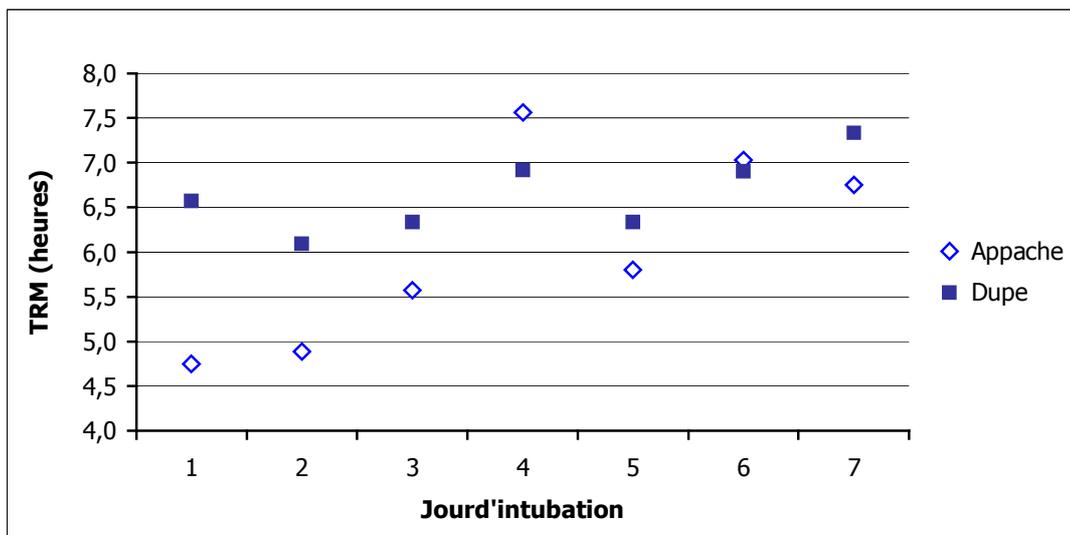


Figure 26 : Temps de rétention moyen (TRM) des sachets dans la partie antécœcale du tube digestif pour chaque jour d'intubation effectué et pour chaque cheval testé

Tableau 37 : Effet des différents facteurs de variation sur la disparition de matière sèche (DMS)

	DMS
Modèle :	***
R ²	0,92
Root MSE	3,0
Jour	***
Individu	NS
Substrat	***
Tranche horaire	NS
Substrat * Tranche horaire	NS
Substrat * Jour	***

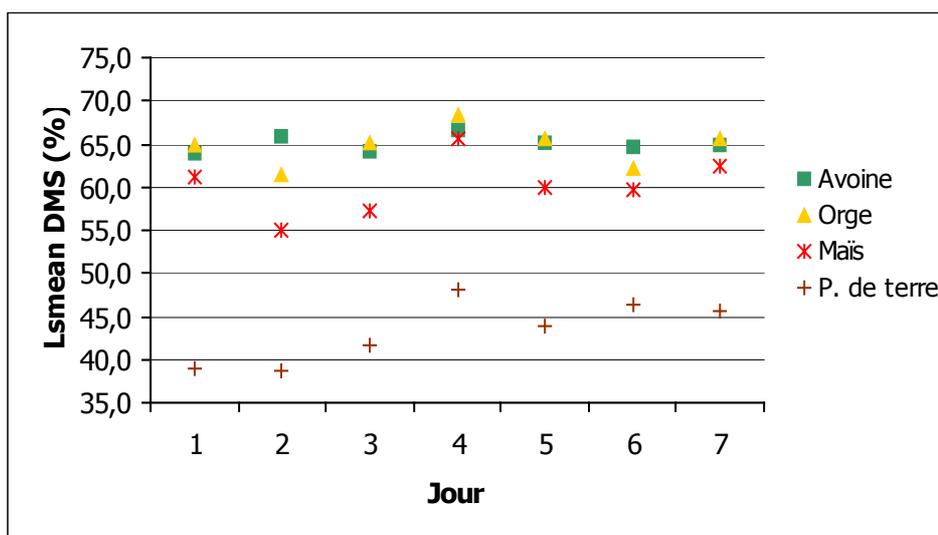


Figure 27 : DMS antécœcale de l'avoine, de l'orge, du maïs et de la pulpe de pomme de terre en fonction du jour de mesure

Tableau 38 : Effet des différents facteurs de variation sur la disparition d'amidon (Damidon)

	Damidon
Modèle :	
R ²	0,88
Root MSE	5,9
Individu	NS
Substrat	***
Jour	***
Substrat * Jour	NS

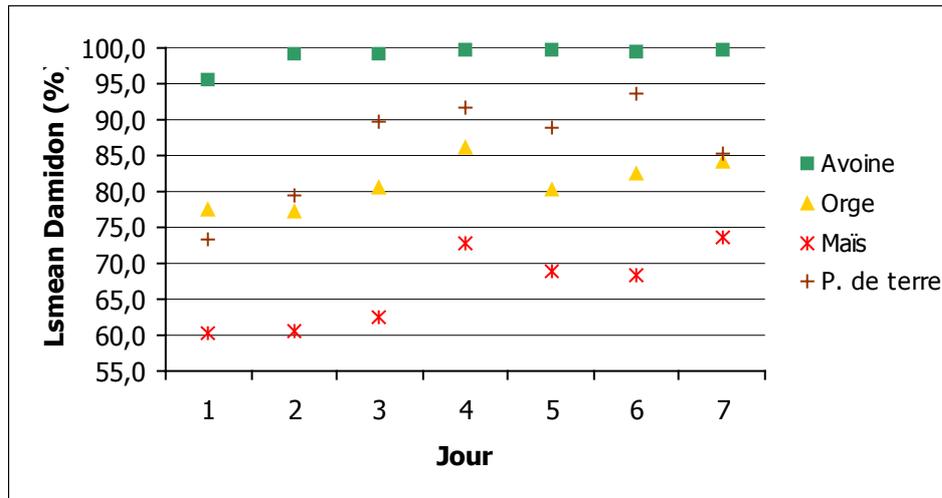


Figure 28 : Damidon antécæcale de l'avoine, de l'orge, du maïs et de la pulpe de pomme de terre mesurée par la technique des sachets mobiles en fonction du jour de mesure

Tableau 39 : Disparition de matière sèche des sachets lors de la mesure des pertes particulières en fonction de la solution utilisée (moyenne ± écart-type)

	Avoine	Blé	Féverole	Maïs	Orge	Pomme de terre
Eau	4,68 ^a ± 0,65	7,55 ^a ± 0,68	13,53 ^a ± 0,94	5,22 ^a ± 0,26	8,88 ^a ± 0,68	20,43 ^A ± 1,16
Tampon pH 5,5	4,33 ^a ± 0,48	6,61 ^a ± 2,34	12,67 ^a ± 1,30	4,25 ^a ± 0,84	6,68 ^b ± 0,71	15,01 ^B ± 0,77

^{a, b} : pour un même substrat, les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,01$)

^{A, B} : pour un même substrat, les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,001$)

Tableau 40 : Teneur en amidon des substrats introduits dans les sachets et de la fraction perdue pour chaque substrat testé lors de la mesure des pertes particulières

	Avoine	Blé	Féverole	Maïs	Orge	Pomme de terre
Substrat natif	37,0 %	61,5 %	37,3 %	67,4 %	51,9 %	67,1 %
Fraction particulaire ¹ ou solubilisée	0,00 %	44,5 %	13,4 %	100,0 %	10,8 %	26,9 %

¹ : fraction du substrat broyé à 3mm dont la taille des particules est inférieure à 46 µm.

Tableau 41 : Disparition d'amidon des sachets de nylon lors de la mesure des pertes particulières en fonction de la solution utilisée et du substrat testé (moyenne \pm écart-type)

	Avoine	Blé	Féverole	Maïs	Orge	Pomme de terre
Eau	-4,34 ^a \pm 0,71	5,09 ^a \pm 0,70	5,20 ^a \pm 1,03	7,82 ^a \pm 0,26	1,73 ^a \pm 0,74	9,73 ^a \pm 1,32
Tampon pH 5,5	-5,48 ^a \pm 0,53	5,40 ^a \pm 2,27	4,45 ^a \pm 1,42	8,94 ^a \pm 0,80	1,50 ^a \pm 0,75	5,39 ^b \pm 0,84

^{a, b} : pour un même substrat, les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,001$)

Table 42 : Description and analytical composition of feeds used

Item component	Pelleted feed HF ^a	Pelleted feed HS ^b	Meadow hay
Main constituents of pellets, % DM			
Cereals	38.9	78.0	
Forage	45.6	6.0	
Chemical composition, DM basis			
Starch, %	21.1	41.6	-
Crude protein, %	12.0	13.4	8.5
Ash, %	6.6	5.7	9.1
NDF, %	40.4	22.9	64.3
ADF, %	24.2	10.8	37.3
ADL, %	4.4	2.2	5.2
NDF / Starch	1.82	0.55	

^a: HF = high fiber; ^b: HS = high starch

Table 43 : Daily feeding patterns of diet tested

Time	Feeding pattern ^a	
	5 meals	3 meals
08:00	3.93 g·kg BW ⁻¹ of pellets	7.50 g·kg BW ⁻¹ of pellets
10:00	5.00 g·kg BW ⁻¹ of meadow hay	-
12:00	3.93 g·kg BW ⁻¹ of pellets	10.00 g·kg BW ⁻¹ of meadow hay
16:00	5.00 g·kg BW ⁻¹ of meadow hay	-
18:00	3.93 g·kg BW ⁻¹ of pellets	4.30 g·kg BW ⁻¹ of pellets

^a Amount as-fed g·kg BW⁻¹

Table 44 : Chemical composition (DM basis) and proportion of particles smaller than 48 µm of starch sources (ground at 3 mm) tested in mobile bags

Item	Starch sources					
	Oats	Wheat	Horse bean	Corn	Barley	Potato
Composition						
Starch, %	37.0	61.5	37.3	67.4	51.9	67.1
CP, %	8.3	10.5	28.9	8.7	10.4	10.1
Ash, %	2.4	1.5	3.6	1.5	2.5	4.2
NDF, %	37.9	14.7	19.8	12.1	23.2	9.4
ADF, %	17.9	3.0	10.4	3.0	6.7	2.1
ADL, %	3.9	0.9	1.4	0.7	1.1	0.0
Particle size ^a						
< 48 µm, %	6.9	6.9	12.4	9.3	7.1	20.1

^a Diameter of the theoretical sphere determined with laser light diffraction in dry conditions according to Melcion (2000)

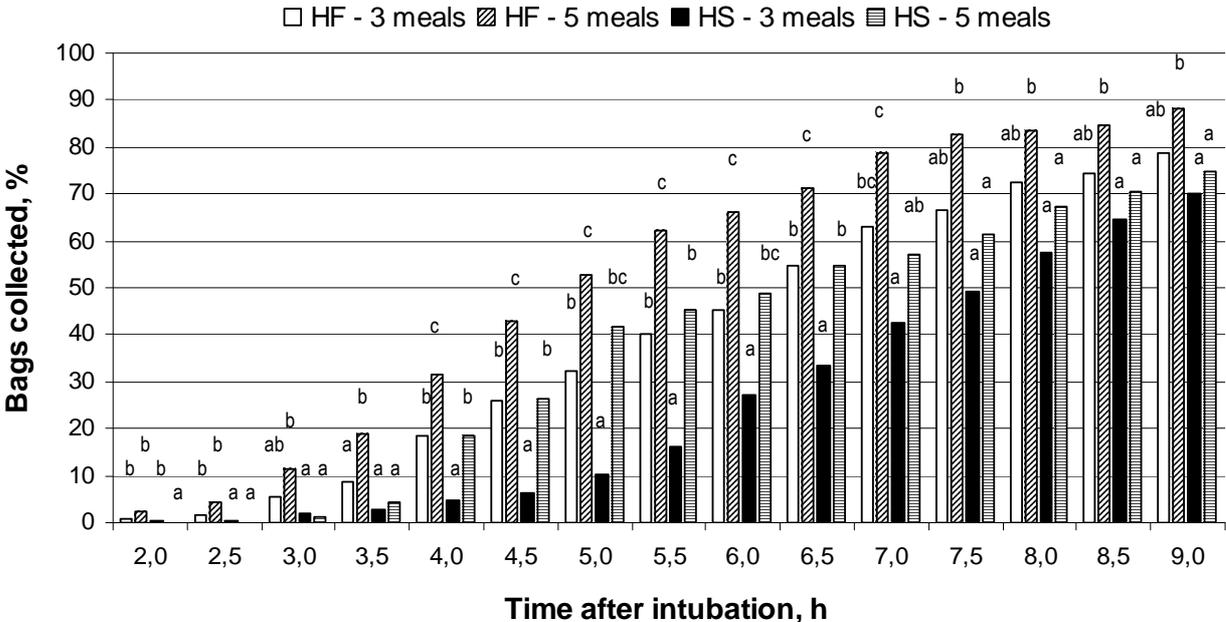


Figure 29 : Cumulated collection of mobile nylon bag in the cecum of horses fed a diet composed of either a high fibre (HF) or a high starch (HS) pellet and hay, distributed in 3 (2 meals of pellets + 1 meal of hay) or 5 (3 meals of pellets + 2 meals of hay) daily meals. ^{a,b,c} Within a time of collection, bars without a common superscript letter differ ($P < 0.05$)

Table 45 : Mean retention time (MRT) of bags in the prececal part of the digestive tract in horses fed a high fibre (HF) or a high starch (HS) pellet, and hay, in 3 or 5 daily meals

Diet	HF – 3 meals	HF – 5 meals	HS – 3 meals	HS – 5 meals	SEM
MRT, h (n=74)	6.2 ^b	5.6 ^a	7.0 ^c	6.2 ^b	0.9

^{a,b,c}: Least square means without a common superscript letter differ ($P < 0.05$)

Table 46 : Dry matter (DMD_p) and starch (StarchD_p) disappearance from mobile bags for each starch source tested after either 1h incubation in artificial gastric content at pH 5.5 (Incubation procedure) or 3 consecutive washings in demineralized water in a domestic washing machine (Washing procedure)

Procedure Response	Starch source						SEM
	Oats	Wheat	Horse bean	Corn	Barley	Potato	
Incubation (n=30)							
DMD _p , %	4.3 ^a	6.6 ^b	12.7 ^c	4.3 ^a	6.7 ^b	15.0 ^d	1.4
StarchD _p , %	-5.5 ^a	5.4 ^c	4.4 ^c	8.9 ^d	1.5 ^b	5.4 ^c	1.4
Washing (n=30)							
DMD _p , %	30.4 ^c	19.3 ^a	24.9 ^b	20.5 ^a	19.3 ^a	21.0 ^a	2.1
StarchD _p , %	42.0 ^d	20.5 ^b	23.6 ^c	22.2 ^{b,c}	20.3 ^b	14.1 ^a	2.2

^{a,b,c,d} Least square means within an item and a line, without a common superscript letter differ ($P < 0.05$)

Table 47: Prececal DM disappearance (DMD_c) and starch disappearance (StarchD_c) (corrected with losses occurred during incubation of substrate in artificial gastric content) from substrates tested with the mobile bag technique in horses fed a high fiber (HF) or high starch (HS) pellet

Item and Pellet	Starch source						SEM
	Oats	Wheat	Horse bean	Corn	Barley	Potato	
DMD _c (n=1768)							
HF	63.9 ^{C;y}	85.7 ^{F;y}	57.2 ^{B;y}	76.7 ^{E;y}	66.9 ^{D;y}	32.3 ^{A;y}	5.9
HS	63.7 ^{C;y}	86.6 ^{F;y}	57.0 ^{B;y}	80.5 ^{E;z}	68.5 ^{D;z}	34.6 ^{A;z}	
StarchD _c (n=435)							
HF	99.7 ^{e;y}	98.7 ^{e;y}	71.4 ^{b;y}	88.0 ^{d;y}	85.9 ^{c;y}	35.2 ^{a;y}	3.8
HS	99.8 ^{E;y}	99.3 ^{E;y}	70.9 ^{B;y}	90.5 ^{D;z}	87.4 ^{C;y}	37.1 ^{A;z}	

^{A,B,C,D,E,F} Least square means within an item and a line, without a common superscript letter differ ($P < 0.001$);

^{a,b,c,d,e,f} Least square means within an item and a line, without a common superscript letter differ ($P < 0.05$)

^{y,z} Least square means within an item and a column without a common superscript letter differ ($P < 0.05$)

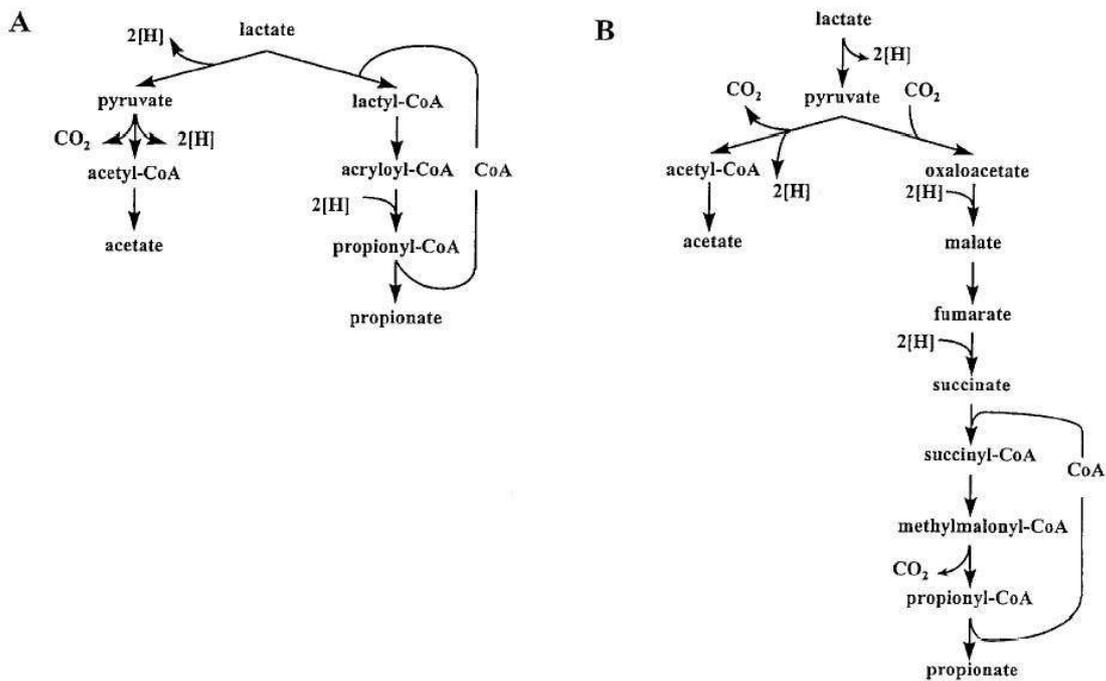


Figure 1. Lactate fermentation to propionate and acetate via the acryloyl-CoA (A) and the methylmalonyl-CoA (B) pathway.

Figure 30 : Fermentation du lactate en acétate et en propionate selon la voie acrylique (acryloyl-CoA ; A) et la voie succinique (methylmalonyl-CoA ; B), d'après Stams *et al.*, 1998.

Tableau 48 : Quantité d'amidon dégradée dans l'estomac entre l'arrêt du transit et le prélèvement du chyme gastrique en fonction de la composition du repas

	Granulé HF	Granulé HS
Quantité d'amidon ingérée (g / 100 kg PV)	73,5	286,1
Proportion du repas restant lors de l'arrêt du transit	45 %	59 %
Quantité d'amidon théorique présente lors de l'arrêt du transit (g / 100 kg PV)	33,1	168,8
Digestibilité apparente de l'amidon	68,6 %	60,4 %
Temps écoulé entre l'arrêt du transit et le prélèvement (heure)	2:05	2:20
Quantité d'amidon dégradée (g / 100 kg PV)	22,7	101,9

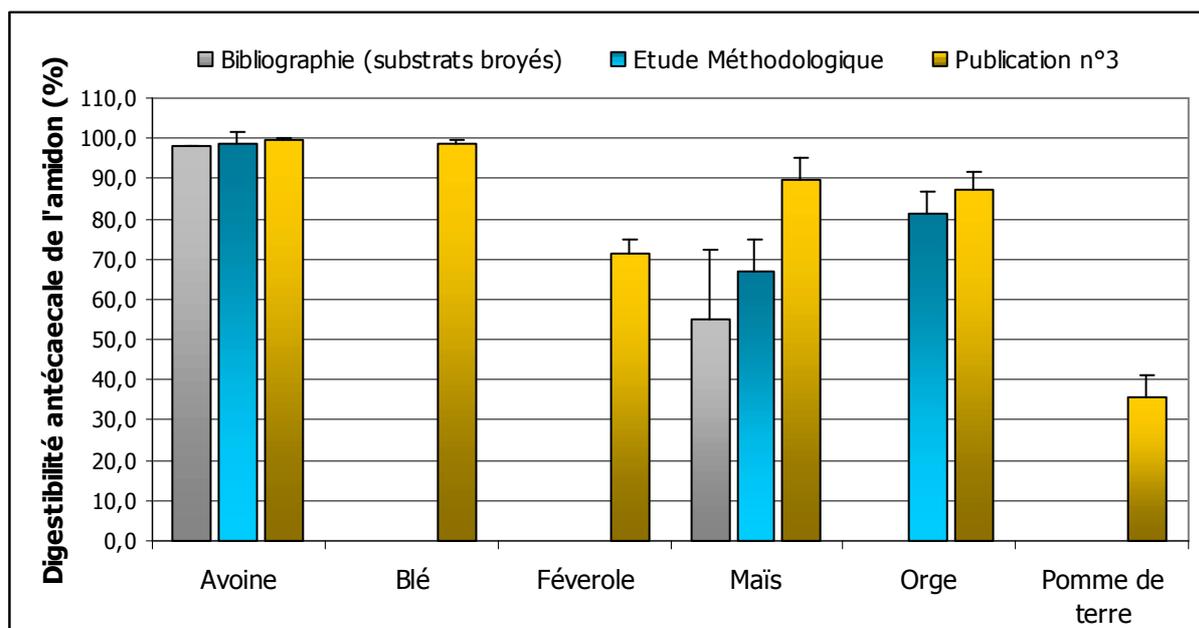


Figure 31 : Confrontation des digestibilités antécœcales de l'amidon en fonction de son origine botanique mesurées dans la littérature, lors de la mise en place de la technique des sachets mobiles et dans la publication n°3

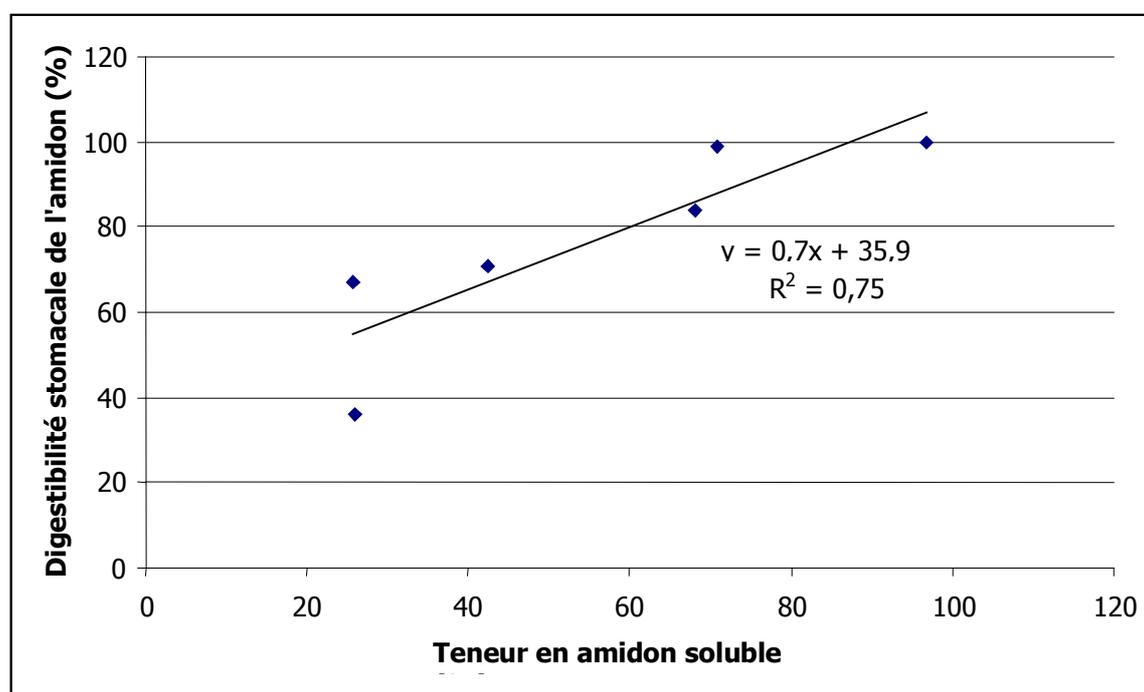


Figure 32 : Digestion stomacale (en % de la digestibilité antécœcale) de l'amidon en fonction de la teneur en amidon soluble déterminée *in sacco* ou d'après la fraction « a » définie chez le ruminant

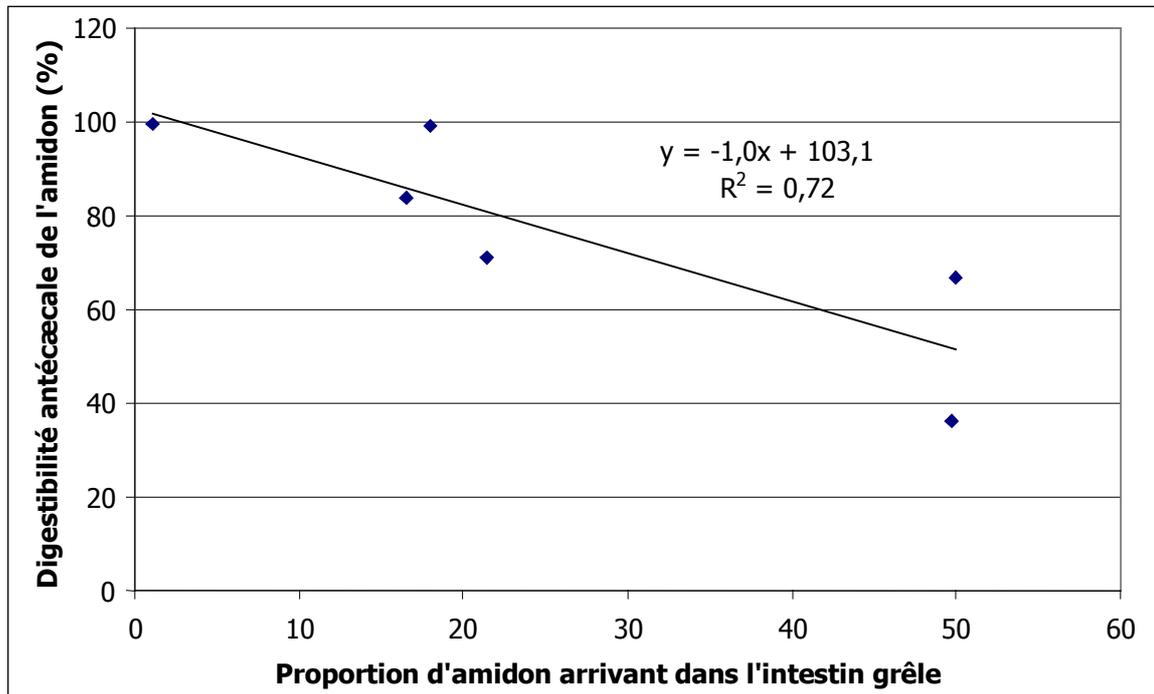


Figure 33 : Digestibilité antécæcale de l'amidon en fonction de la proportion d'amidon arrivant dans l'intestin grêle