

UTILISATION DU PHOSPHATE MONOAMMONIQUE CHEZ LE MOUTON

II. — INFLUENCE SUR LE MÉTABOLISME AZOTÉ DE LA MICROFLORE DU RUMEN

Michelle DURAND, R. FORET, Christiane DUMAY et L. GUÉGUEN
avec la collaboration de Ph. BEAUMATIN et F. LE DESCHAULT de MONTREDON

*Station de Recherches de Nutrition,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78350 Jouy en Josas*

RÉSUMÉ

La valeur du phosphate monoammonique (MAP) pour la protéosynthèse microbienne et l'influence de ce produit sur l'activité de la microflore du rumen ont été d'abord étudiés *in vitro* comparativement à l'urée. On a fait varier les facteurs suivants : proportion de l'azote non protéique apportée par le phosphate monoammonique ; pouvoir tampon du milieu de dilution et teneur en phosphore du milieu.

Lorsque l'azote du phosphate monoammonique était substitué en totalité à l'azote de l'urée, l'utilisation de l'azote par la microflore du rumen était inférieure à celle obtenue avec l'urée. La production d'acides gras volatils était également réduite, mais dans une moindre mesure. Cet effet dépressif du MAP était d'autant plus important que le milieu était moins tamponné et que les pH de fin d'incubation étaient plus bas. Lorsque le phosphate monoammonique n'apportait qu'une fraction de l'azote non protéique (33,3 ou 11 p. 100), son effet inhibiteur n'était plus retrouvé et au contraire ce produit pouvait exercer une influence favorable sur la protéosynthèse microbienne.

Des essais complémentaires effectués *in vivo* sur moutons adultes portant des canules de rumen ont montré que le phosphate monoammonique introduit à raison de 4 p. 100 de la ration totale limitait nettement l'appétibilité du régime. A des doses plus faibles (1,2 p. 100 de la ration soit 11 p. 100 du N non protéique total) le produit, bien accepté, n'a pas sensiblement modifié l'ammoniogenèse au niveau du rumen, l'urémie ou l'ammoniémie.

On peut ainsi admettre que lorsque le phosphate monoammonique est introduit en quantité limitée dans le régime dans le seul but de fournir un supplément de phosphore de bonne qualité, il ne risque pas d'exercer d'effet dépressif sur l'activité de la microflore du rumen.

INTRODUCTION

Il est généralement reconnu que les risques de toxicité que l'on rencontre avec une distribution brutale et massive d'urée aux ruminants sont réduits lorsque l'urée est remplacée par une quantité isoazotée de phosphate diammonique. Ce

produit (RUSSELL *et al.*, 1962), limiterait l'absorption d'ammoniac à travers la paroi du rumen comme en témoignent les valeurs plus faibles d'ammoniémie observées par ces auteurs.

Cependant, les travaux effectués sur l'effet des phosphates mono et diammoniques sur le métabolisme azoté de l'animal ont souvent conduit à des résultats contradictoires. Lorsqu'une forte proportion de l'azote du régime est apportée par du phosphate diammonique la rétention azotée chez des agneaux ou des taurillons peut être inférieure à celle obtenue avec une quantité isoazotée d'urée (OLTJEN *et al.*, 1963 ; SCHAADT *et al.*, 1966).

Par contre, l'apport de phosphates ammoniacaux en quantité limitée dans une ration déficitaire en phosphore et en azote peut entraîner une amélioration du bilan azoté (COMPÈRE, 1969 ; V'YUGIN, 1974). En utilisant du phosphate monoammonique marqué avec du ^{15}N , FRIDLAND *et al.* (1963) montrent que 50 p. 100 de l'azote du produit sont utilisés par la chèvre et transformés en protéine corporelle ou en protéine du lait. HENDERICKX et MARTIN (1963) observent *in vitro* que l'azote du phosphate diammonique serait légèrement mieux converti en protéine microbienne que l'azote de l'urée. Ils attribuent cet effet à l'apport de phosphore par le produit, phosphore qui serait, dans leurs conditions expérimentales, un facteur limitant de la croissance bactérienne.

Devant la diversité de ces résultats, nous avons pour notre part tenté de rechercher la valeur du phosphore et de l'azote du phosphate monoammonique pour la protéosynthèse microbienne et l'influence de ce produit sur l'activité de la microflore du rumen. Cette étude a été effectuée en grande partie *in vitro* en utilisant comme inoculum des contenus de rumen provenant de moutons adaptés à un régime pauvre en phosphore. Certains essais ont également été effectués *in vivo* pour mesurer l'influence du produit distribué en dose limitée sur l'ammoniogenèse au niveau du rumen de moutons.

TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

1. Étude *in vitro* en milieu de rumen

Le contenu de rumen servant d'inoculum pour les incubations a été prélevé soit avant le début du repas du matin (contenu A), soit 3 heures après (contenu B) sur 6 moutons adultes munis de canules de rumen et adaptés depuis plusieurs semaines à un aliment pauvre en phosphore (1,4 g/kg) et contenant de l'urée. Cet aliment, sensiblement identique à celui utilisé par GUEGUEN, FORET et DURAND (1975), présenté en granulés (7 mm de diamètre), comportait en p. 100 : pulpes sèches de betteraves 45, manioc 29, foin pauvre 15, urée 2,3, mélasse 5, huile de maïs 3, complément minéral sans phosphate 0,7. Les animaux recevaient 500 g de cet aliment le matin et de la paille à volonté ensuite.

L'inoculum non filtré (200 ml) a été additionné d'un volume égal de solution de dilution et mélangé aux substrats qui comportent pour 100 ml de milieu total : 2 g de manioc broyé, 7 g de paille de blé broyée et 30 mg d'azote apporté soit sous forme d'urée, soit sous forme de phosphate monoammonique (MAP), soit par un mélange en proportions variables de ces deux produits.

Les flacons munis d'un réfrigérant ont été placés au bain-marie à 39°C et maintenus en anaérobiose par barbotage de CO_2 . A différents temps, au cours des 5 heures d'incubation, des prélèvements d'échantillons ont été effectués sur lesquels étaient déterminés : le pH, urée, N-NH_3 , et acides gras volatils (AGV) (aux temps 0,3 et 5 heures seulement), selon DURAND, BENAMEUR

TABLEAU I

Récapitulation des essais in vitro

N° des essais	Substrats azotés	Salives ou milieu de dilution	Inoculum
1	U MAP U - phosphate disodique	ST	A
2-3-4	U-MAP	ST, SSP, SA, LP	A-B
5	U U (67 %) + MAP (33 %)	ST, SSP	A-B
6	U U (89 %) + MAP (11 %)	ST, SSP	A

ST : Solution tampon de TISSERAND
 SSP : " " " " " " sans phosphate
 SA : Solution tampon ANDERSON
 LP : Sérum physiologique.

TABLEAU 2

Composition chimique des solutions tampons

	Solution « TISSERAND »	Solution « ANDERSON »
	(g/l)	(g/l)
NaCl	0,47	0,375
KCl	0,45	0,375
MgCl ₂ anhydre	0,047	
MgSO ₄		0,075
CaCl ₂	0,055	
NaHCO ₃	9,24	1,75
Na ₂ H ₂ PO ₄ · 12 H ₂ O	7,125	
	(mg/l)	(mg/l)
CuSO ₄ · 5 H ₂ O	2	1
MnSO ₄ · H ₂ O	4	0,2
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	0,08	0,04
FeSO ₄ · 7 H ₂ O	75	37,5
CoCl ₂	2	1

et VIROBEN (1974). On calcule par différence entre le N-NH₃ ou N-urée introduit (substrat + inoculum) et le N-NH₃ ou N-urée résiduel à 5 heures la consommation de N-NH₃ et de N-urétique par la microflore. Nous appellerons cette donnée « consommation de N-NH₃ », le N-urée n'étant utilisé par la microflore qu'après sa transformation en N-NH₃.

Au cours des différents essais, récapitulés dans le tableau 1, les facteurs de variation comprenaient :

a) *Les substrats azotés* : urée (46,65 p. 100 d'azote), MAP (10 p. 100 d'azote) ou mélange des deux dans lequel l'azote apporté par le MAP représentait, selon les cas, 11 p. 100 ou 33,3 p. 100 de l'azote non protéique total.

b) *L'heure de prélèvement de l'inoculum* : l'inoculum prélevé 3 heures après le début du repas (contenu B) est moins riche en P que celui prélevé à jeun (contenu A). Aussi, certaines incubations ont été réalisées avec les deux types d'inoculum pour tenter de mettre davantage en évidence le rôle éventuel du phosphore du MAP.

c) *Les solutions tampons ou milieux de dilution* : ont été utilisés et comparés : la solution tampon utilisée par TISSERAND et ZELTER (1965) (ST), la même dépourvue de phosphate (SSP) ; la solution tampon utilisée par ANDERSON, CHENG et BURROUGHS (1956) (dépourvue de phosphate, (SA) ou du sérum physiologique (LP) à 9 p. 1 000 de NaCl. La composition des solutions tampons est rappelée dans le tableau 2.

2. — Étude in vivo

Nous avons, dans cette étude, tenté de rechercher si une introduction en quantité limitée de MAP dans le régime pouvait modifier le pH et l'ammoniogenèse au niveau du rumen et limiter l'absorption de l'ammoniac à travers la paroi du rumen, comme cela a été signalé lorsque des doses élevées de phosphate diammonique sont distribuées à l'animal. Pour étudier ce dernier point, des mesures d'ammoniémie et d'urémie ont été également effectuées.

Deux séries de prélèvements ont été réalisées sur les 6 moutons utilisés précédemment comme donneurs d'inoculum ; ceux-ci étaient partagés en deux lots, l'un recevant l'aliment contenant le MAP, l'autre l'aliment contenant uniquement de l'urée.

Alimentation.

Essai n° 1 : les animaux recevaient au repas du matin 500 g du concentré pauvre en P additionné soit de 4,5 g d'urée, soit de 21 g de MAP, la quantité d'azote non protéique totale ainsi distribuée étant 7,4 g dont 28 p. 100 sous forme de MAP. Les refus de concentré étaient introduits dans la panse par la fistule 30 minutes après le repas.

Essai n° 2 : la composition du concentré distribué au groupe MAP a été modifiée de façon à apporter l'azote non protéique à raison de 2/3 par de l'urée et de 1/3 par du MAP. Cette ration étant inappétente, nous avons dû limiter l'apport de MAP à 11 p. 100 de l'azote non protéique. L'ingestion d'azote non protéique total par repas était alors de 5,3 g.

Prélèvements de contenu de rumen.

Les prélèvements de contenu de rumen ont été réalisés à travers une sonde immédiatement avant le repas et 1/2, 1, 1 1/2, 2, 3, 5 et 7 heures après le début du repas du matin. Des prélèvements horaires de sang ont été effectués dans la veine jugulaire durant le même temps.

Ont été déterminés les pH, N-NH₃, N-urée sur les contenus de rumen, l'ammoniac et l'urée sur le sang sitôt les prélèvements, selon les méthodes indiquées précédemment.

RÉSULTATS

A. — Étude in vitro en milieu de rumen

1. Comparaison de l'urée (U) et du MAP sur une base isoazotée.

Au cours de l'essai n° 1, la seule différence observée entre U et MAP concerne le pH (fig. 1). A tous les temps de l'incubation, le milieu est nettement plus acide avec le MAP. Les consommations de N-NH₃ et la production d'AGV en 5 heures

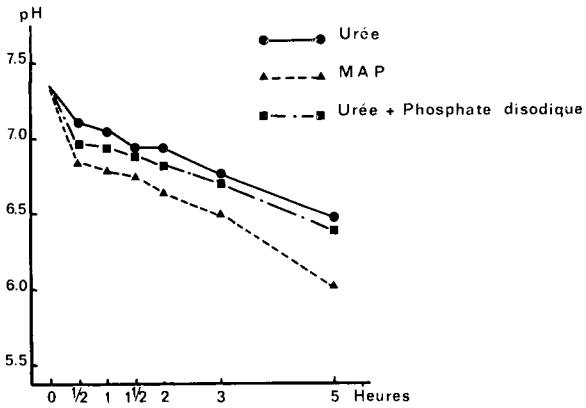


FIG. 1. — Essai in vitro n° 1

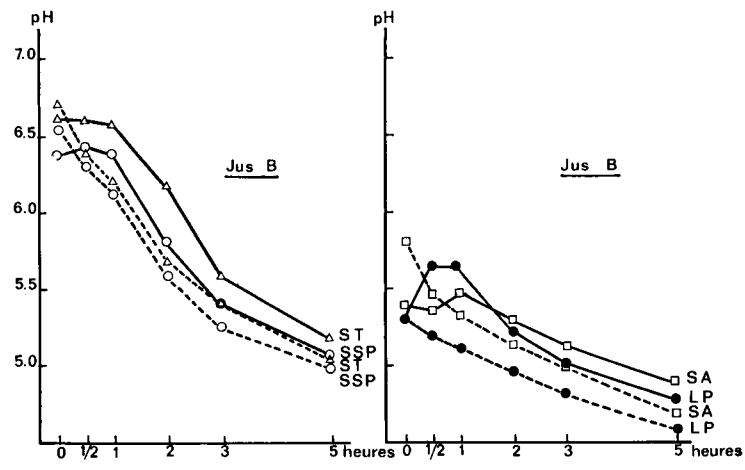
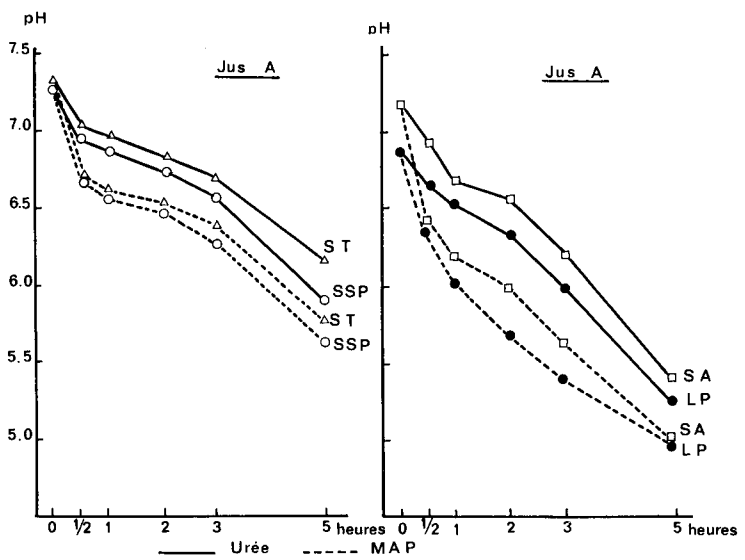


FIG. 2. — Évolution des pH (essais 2-3-4)

sont identiques pour les deux substrats et sont respectivement : 20 mg de N-NH₃ p. 100 ml et 6,3 millimoles d'AGV p. 100 ml.

Les résultats obtenus au cours des essais 2, 3 et 4 ont été regroupés pour l'étude statistique :

1. 1. *Étude du pH* (fig. 2).

Pour une même solution tampon et un même type d'inoculum, les pH sont toujours significativement plus bas ($P < 0,01$) avec le MAP par rapport à l'urée. Quel que soit le substrat, le contenu B est toujours plus acide que le contenu A : l'acidité du milieu s'élève lorsque la solution tampon TISSERAND (ST) est successivement remplacée par la solution tampon TISSERAND sans phosphate (SSP), la solution tampon ANDERSON (SA) et le sérum physiologique (LP) et les différences entre substrats s'accroissent.

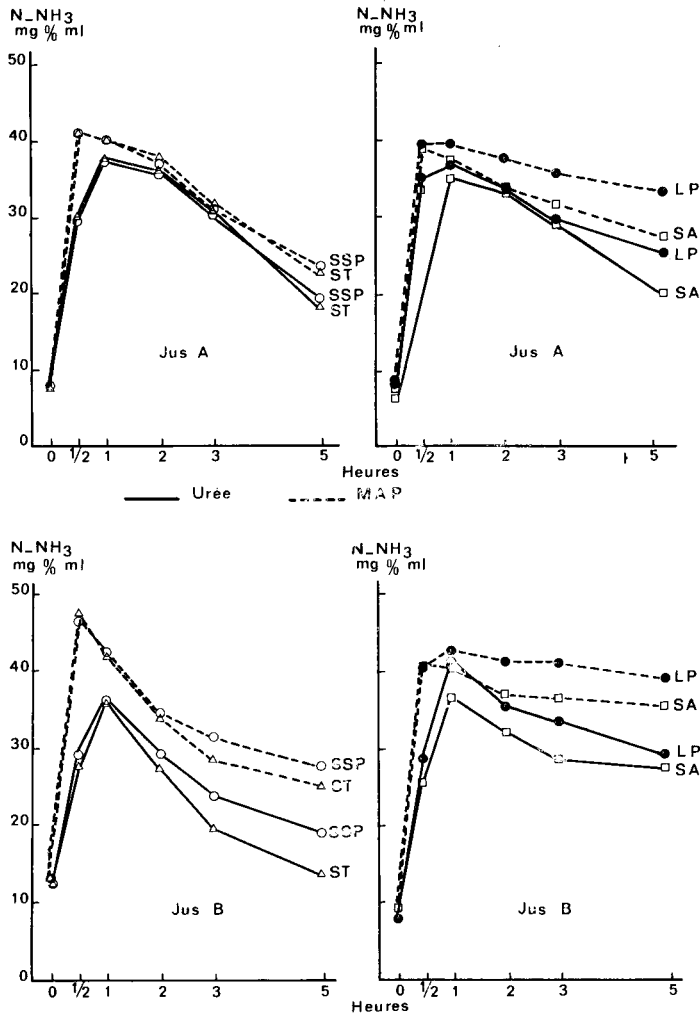


FIG. 3. — Évolution des concentrations de N-NH₃ (essais 2-3-4)

1. 2. *Concentration en azote ammoniacal* (fig. 3).

On observe les deux phases classiques de l'évolution de ces concentrations : la libération de NH_3 et la décroissance de sa concentration qui correspond à son utilisation par la microflore. Le pic d'ammoniac avec le MAP est plus précoce et plus élevé qu'avec l'urée. L'analyse factorielle montre que les concentrations en azote ammoniacal sont toujours supérieures avec le MAP par rapport à l'urée. Après 3 heures, elles sont plus élevées pour les milieux les moins tamponnés (SA et LP), phénomène d'autant plus net en présence de MAP et de jus B.

TABLEAU 3

Consommations d'azote ammoniacal en mg/100 ml au temps 5 h

Type d'inoculum	A		B	
Source azotée	U	MAP	U	MAP
Salive				
ST	18,3	15,9	29,4	21,7
SSP	18	15,2	25,2	18,5
SA	16,6	9,1	11,7	3,4
LP	12,2	4,3	9,5	négatif

Les consommations d'azote ammoniacal (tabl. 3) sont significativement moins élevées ($P < 0,01$) avec le MAP qu'avec l'urée, quel que soit le milieu de dilution ou le type de jus. Cet effet dépressif du MAP accentué lorsque les solutions ont un pouvoir tampon faible (SA et LP) et lorsque le contenu est prélevé 3 heures après le repas (B) ; ce dernier inoculum (B) est plus actif et entraîne des consommations d'ammoniac avec les salives TISSERAND supérieures à celles observées avec le contenu A.

TABLEAU 4

Formation d'acides gras volatils en 5 heures (mmoles/100 ml)
(essais 2-3-4)

Type d'inoculum	A		B	
Source azotée	U	MAP	U	MAP
Salive				
ST	8,60	7,93	11,13	9,63
SSP	8,43	7,60	10,38	9,05
SA	7,68	6,68	8,78	7,28
LP	7,03	6,25	9,55	7,20

1. 3. *Production d'acides gras volatils.*

La formation d'acides gras volatils (tabl. 4) est légèrement plus faible avec le MAP par rapport à l'urée, phénomène plus accentué pour les milieux faiblement tamponnés (SA et LP).

Quel que soit le substrat, ces derniers milieux (SA et LP) abaissent la quantité d'acides gras volatils formés. Le contenu B entraîne, en présence de solution TISSERAND, une formation d'acides gras volatils plus importante que le contenu A, ce qui témoigne de nouveau de sa plus forte activité.

2. *Substitution partielle de l'azote de l'urée par de l'azote de MAP.*

Dans les essais 5 et 6, nous avons étudié l'influence de la substitution soit de 33,3 p. 100, soit de 11 p. 100 de l'azote uréique par de l'azote du MAP.

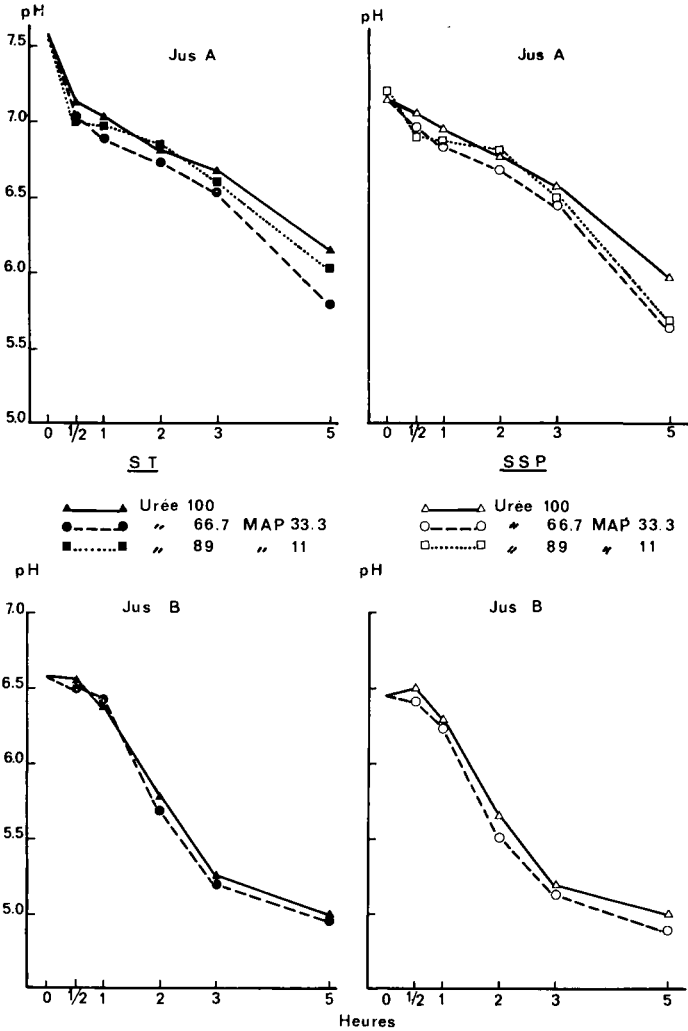


FIG. 4. -- Évolution des pH (essais 5-6)

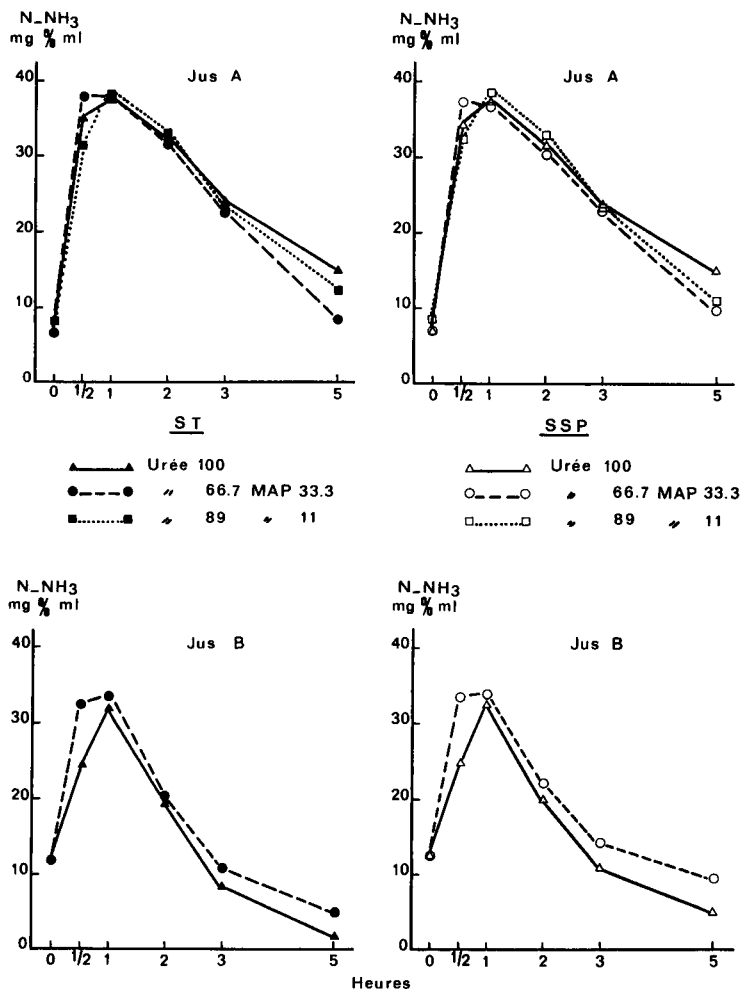


FIG. 5. — Évolution des concentrations de N-NH₃ (essais 5-6)

TABLEAU 5

Consommation d'azote ammoniacal en mg/100 ml au temps 5 h
(essais 5-6)

Type d'inoculum	A			B	
Substrats azotés en p. 100 de NNP introduit	100 urée 0 MAP	89 urée 11 MAP	66,7 urée 33,3 MAP	100 urée 0 MAP	66,7 urée 33,3 MAP
ST	22,8	25,9	28,6	39,9	37,1
SSP	23,2	27,9	27,7	37,9	33,0

L'effet acidifiant du MAP (fig. 4) est moins important que précédemment, mais il est toujours net surtout après 3 heures d'incubation.

Les concentrations ammoniacales (fig. 5), dans le cas du contenu A, sont similaires pour l'urée et les substrats contenant du MAP jusqu'au temps 3 heures. Ensuite, elles s'abaissent davantage pour les substrats contenant du MAP. Ainsi, l'apport de MAP favorise la consommation d'ammoniac (tabl. 5) et très légèrement (seulement au taux de 33,3 p. 100) la production d'acides gras volatils (tabl. 6). Un phénomène inverse est observé en présence du jus B.

TABLEAU 6

Formation d'acides gras volatils en 5 heures (mmoles/100 ml)
(essais 5-6)

Type d'inoculum	A			B	
Substrats azotés en p. 100 de NNP introduit	100 urée 0 MAP	89 urée 11 MAP	66,7 urée 33,3 MAP	100 urée 0 MAP	66,7 urée 33,3 MAP
ST	8,84	8,70	9,20	11,50	10,65
SSP	8,45	7,68	8,67	11,45	10,80

B. — *Étude in vivo de la substitution partielle de l'azote de l'urée par de l'azote du MAP*

Dans l'ensemble les résultats concernant le pH et les concentrations ammoniacales des contenus de rumen (moyennes rapportées dans fig. 6 et 7) ne montrent aucune influence nette du MAP comparativement à l'urée. Par contre, les variations individuelles sont très importantes et particulièrement dans l'essai 1 où les refus introduits dans le rumen ont retardé l'ammoniogénèse. Ainsi, *in vivo*, nous n'observons pas l'effet acidifiant du MAP sur les contenus de rumen, effet que nous avons relevé *in vitro* même lorsque le MAP était introduit en quantités limitées. Le pouvoir tampon de la salive *in vivo* serait plus élevé que celui des solutions que nous avons utilisées *in vitro*.

Les concentrations en urée et en NH_3 du sang de la veine jugulaire relevées pour chaque animal sont rapportées figure 8.

Dans l'essai 1, les teneurs en urée s'élèvent au cours des 4 heures suivant le repas alors que l'ammoniémie ne s'accroît que pendant la première heure et pour 4 animaux seulement. Dans l'essai 2, les valeurs d'urémie et d'ammoniémie sont plus faibles, ce qui s'explique par une ingestion plus basse d'azote non protéique au cours du repas (5,3 g contre 7,4 g). Mais dans l'ensemble, nous n'observons aucun effet net du MAP sur ces valeurs.

Ainsi, l'absorption de NH_3 à travers la paroi du rumen, très limitée pour l'essai n° 2, serait du même ordre pour les deux régimes.

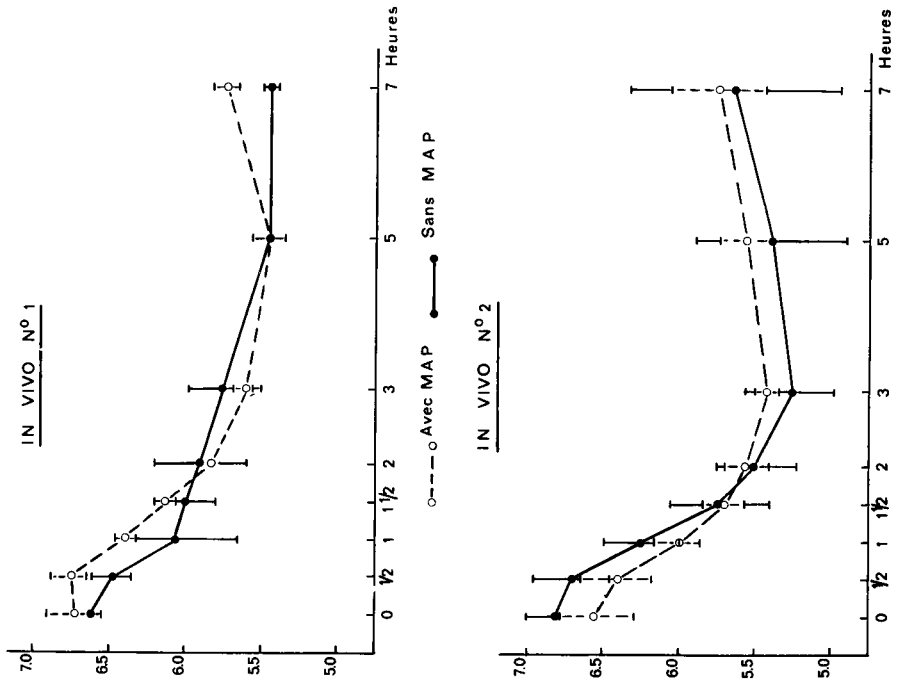


FIG. 6. — Évolution des pH du rumen (moyennes \pm Sm)

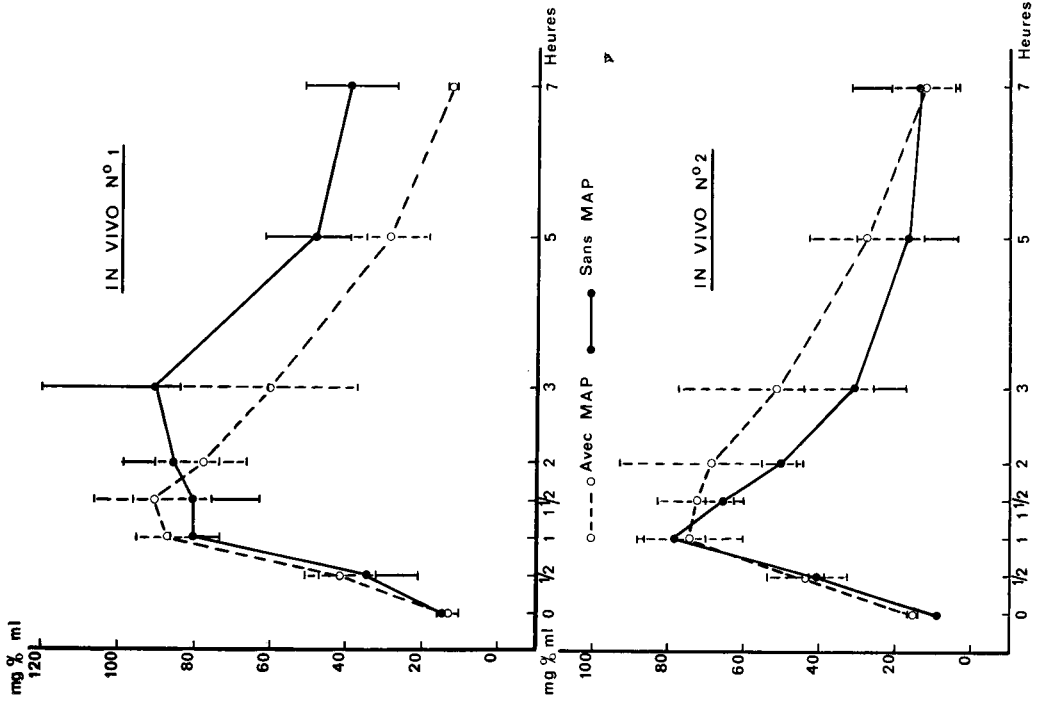


FIG. 7. — Concentrations en $N-NH_3$ du rumen (moyennes \pm Sm)

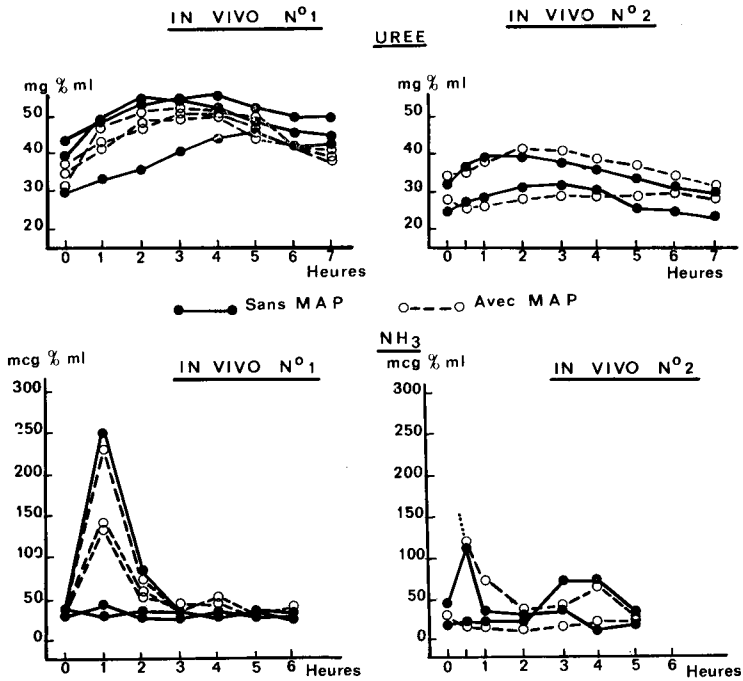


FIG. 8. — Concentrations en urée et en NH_3 du sang

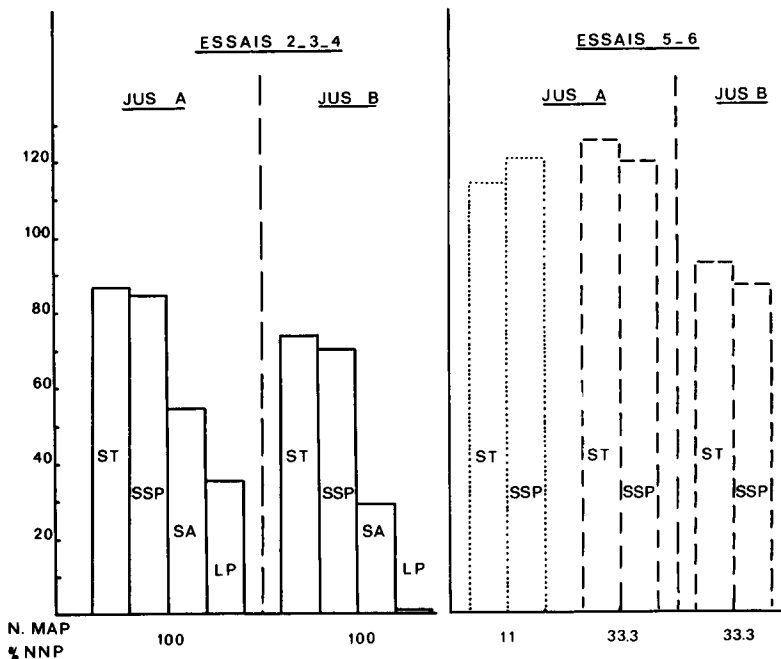


FIG. 9. — Indices de consommation de $N-NH_3$, valeurs MAP p. 100 des valeurs urée (temps 5 heures) (essais 2-3-4-5-6)

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats obtenus *in vitro* au cours des essais 2, 3 et 4 ont montré que lorsque la totalité de l'azote non protéique est apportée par le MAP, l'utilisation de l'azote par la microflore est inférieure à celle obtenue avec l'urée. Cet effet dépressif du MAP est à la fois plus important pour l'inoculum prélevé 3 heures après le repas que pour celui prélevé à jeun et d'autant plus intense que le milieu d'incubation est moins tamponné (fig. 9). Or, si l'on relie les indices de consommation de $N-NH_3$ aux pH au temps 5 heures, on observe nettement l'effet négatif des bas pH (fig. 10) surtout lorsque ceux-ci sont inférieurs à 5,4.

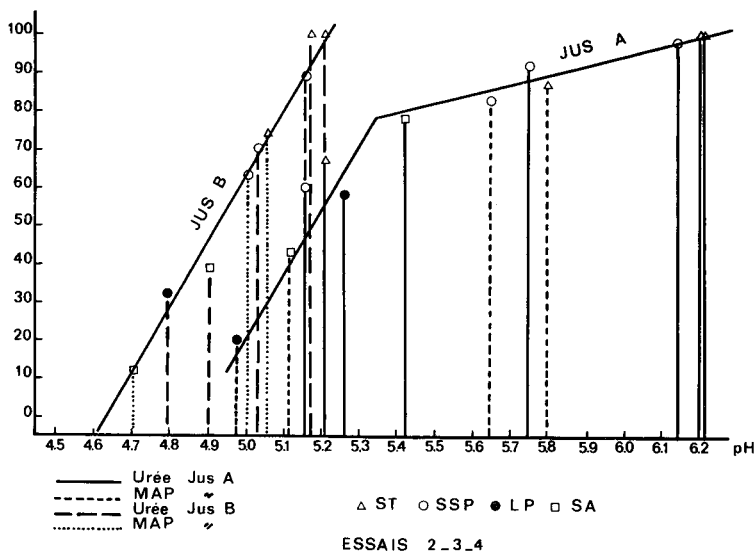


FIG. 10. — Indices de consommation de $N-NH_3$ en fonction du pH au temps 5 heures
 100 = ST + urée avec jus A et B (essais 2-3-4)

Dans l'essai *in vitro* 1, par contre, la protéosynthèse bactérienne obtenue avec le MAP semblait similaire à celle obtenue avec l'urée ; or, les valeurs de pH dans ce cas étaient plus élevées que dans les autres essais (pH de fin d'incubation supérieurs à 6).

Cet effet négatif de l'acidité sur l'intensité de la protéosynthèse microbienne a été signalé par HENDERICKX et MARTIN (1963) pour des pH inférieurs à 6,0. Pour LAMPILA (1964), la zone de pH optimale pour l'utilisation de NH_3 irait de 6,2 à 5,7. Pour des pH allant de 5,7 à 5,3, cet auteur observe une baisse brutale des consommations de NH_3 .

Aussi, il semble que la mauvaise utilisation de l'azote du MAP soit due essentiellement à l'acidité de ce produit qui provoque un abaissement du pH du milieu d'autant plus important que le milieu est moins tamponné. Cet effet inhibiteur de l'acidité sur la protéosynthèse bactérienne pourrait de même expliquer l'accroisse-

ment des pertes azotées urinaires relevé par OLTJEN *et al.* (1963) lorsque l'azote du phosphate diammonique est substitué à celui de l'urée.

DUMONT et TISSERAND (1975) ont récemment observé *in vivo*, après distribution à des moutons de 6,6 g d'azote apporté par du phosphate diammonique, un abaissement significatif du pH accompagné d'une diminution des teneurs en acides gras volatils du milieu. *In vitro* nous retrouvons également un effet inhibiteur du MAP sur la formation d'acides gras volatils, mais cet effet est moins marqué que sur la protéosynthèse bactérienne. Nous ne pouvons dire si cela est dû à une lyse de certaines espèces bactériennes ne contribuant que pour une faible part à la production d'acides gras volatils ou à une inhibition plus accentuée des réactions de biosynthèse.

Quoi qu'il en soit, d'après nos résultats, une acidification importante du milieu limiterait davantage la protéosynthèse microbienne que le catabolisme glucidique par la microflore ; il en résulte un moindre rendement global de synthèse protéique lorsque le pouvoir tampon du milieu décroît ou en présence de MAP. Ce rendement global exprimé en mg de protéines par millimole d'acides gras volatils formés, décroît avec l'urée de 13,3 en milieu tamponné à 10,8 en milieu sérum physiologique et avec le MAP respectivement de 12,5 à 4,20.

Lorsque le MAP n'apporte qu'une fraction de l'azote non protéique (33,3 ou 11 p. 100), on relève, avec l'inoculum prélevé à jeun, et par rapport à l'urée, un effet positif sur l'utilisation de l'ammoniac et essentiellement entre la 3^e et la 5^e heure d'incubation. Cet effet favorable que l'on ne retrouve pas avec l'inoculum prélevé 3 heures après le repas (milieu plus acide) pourrait être attribué cette fois au léger abaissement de pH dû au produit. LAMPILA (1964) observe qu'au-dessus d'un pH de 6,2, la consommation de NH_3 s'abaisse de nouveau. Le MAP apporté en quantité limitée pourrait ainsi maintenir le milieu dans une zone optimale de pH.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence, au cours de cette expérience, un effet favorable de l'apport de phosphore par le MAP. Bien que nous ayons distribué aux moutons fournissant l'inoculum un régime pauvre en phosphore, la teneur en P de l'inoculum frais s'est maintenue autour de 0,12 p. 100 dans le contenu A et de 0,08 p. 100 dans le contenu B. Il semblerait que ces taux soient suffisants pour assurer, dans nos conditions expérimentales, une croissance normale de la microflore même en présence de solution tampon dépourvue de P (SSP). Il ne semble pas que l'effet favorable du MAP, apporté en quantité limitée (essais 5-6) soit dû à l'apport de P puisque, en présence d'urée, les consommations étaient identiques pour les solutions tampons TISSERAND avec ou sans phosphate.

De l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro*, il ressort que le MAP, du fait de son acidité élevée, ne devrait être incorporé qu'en quantité limitée dans un régime susceptible d'entraîner, au niveau du rumen, un abaissement important du pH (régimes riches en amidon par exemple).

Aussi bien avons-nous recherché, *in vivo*, l'influence de l'introduction d'une dose limitée de MAP dans le régime. Le MAP, incorporé à raison de 3,5 ou 4 p. 100 dans la ration totale, a nettement limité la consommation de l'aliment par les moutons. L'introduction des refus dans le rumen (essai 1) a accru la dispersion des résultats. Dans ces conditions, nous n'avons pas observé de différences entre les régimes MAP et urée sur le métabolisme au niveau du rumen ou l'urémie et l'ammoniémie.

Dans cet essai, l'ingestion d'une quantité importante d'azote non protéique (7,4 g) a entraîné une élévation de l'ammoniémie dès la première heure suivant le

repas, ce qui confirme les données de CHALMERS, JAFFRAY et WHITE (1971) sur la rapidité de la diffusion du NH_3 à travers la paroi du rumen. Cependant, malgré un taux élevé de N-NH_3 dans le rumen à 1 heure (80 mg p. 100 ml en moyenne), le pic d'ammonémie reste faible et n'atteint pas la valeur de 0,3 mg de NH_3 p. 100 ml provoquant chez la Chèvre les premiers signes de toxicité (AMBO *et al.*, 1967). Ce fait s'explique par l'acidité des contenus du rumen due à la distribution simultanée de l'azote non protéique et de l'aliment contenant des glucides disponibles.

Une dose de MAP de 1,17 p. 100 de l'aliment total (essai 2), qui correspond largement à la couverture des besoins de P du mouton, n'a pas modifié sensiblement l'acidité des contenus ni l'absorption de l'ammoniac à travers la paroi du rumen. De plus nombreuses répétitions auraient probablement été nécessaires pour déceler un effet éventuel du MAP introduit en quantité limitée dans le régime. Cependant, nos données sont en accord avec celles de COMPÈRE (1969) qui constate chez le Mouton l'absence d'effet de l'ingestion de 9 g de MAP par jour sur le pH, l'ammonio-genèse et les concentrations en acides gras volatils. A ces doses faibles, le MAP n'exerce sans doute aucun effet préventif sur une éventuelle toxicité de l'urée du régime.

En conclusion, l'ensemble de nos résultats montre qu'il serait néfaste de tenter de substituer en totalité l'azote uréique du régime (représentant fréquemment 30 p. 100 de N total) par l'azote du phosphate monoammonique. La forte acidité de ce produit aurait toute chance d'inhiber la protéosynthèse bactérienne et de réduire ainsi l'utilisation de l'azote de ce produit par le ruminant. Une telle dose de MAP (environ 10 p. 100 de l'aliment complet) aurait également pour effet de réduire l'appétibilité de la ration et de contribuer à fournir un excès de phosphore. Au contraire, un apport réduit de MAP (1,2 p. 100 de la matière sèche de la ration) ne limiterait pas l'intensité de la protéosynthèse bactérienne et pourrait même, dans certains cas, l'accroître légèrement. Cet apport ne risquerait pas d'entraîner de l'inappétence et constituerait de plus une source intéressante de phosphore comme le montrent les résultats récents de GUEGUEN, FORET et DURAND (1975).

Reçu pour publication en juin 1975.

SUMMARY

UTILIZATION OF MONOAMMONIUM PHOSPHATE BY SHEEP.

II. — EFFECT OF NITROGEN METABOLISM OF RUMEN MICROFLORA

The value of nitrogen and phosphorus from ammonium phosphate (MAP) for the bacterial proteosynthesis and the influence of this product on the activity of rumen microflora were primarily studied *in vitro*, as compared to urea, by means of short-lasting incubations (5 hours).

The unstrained rumen content used as inoculum for the incubation was collected either prior to the morning meal (A) or 3 hours later (B) from 6 adult sheep adapted to a low phosphorus diet (1.4 g/kg). After addition of a diluting solution (vol/vol) (tables 1 and 2), the inoculum was mixed with the substrates in which the nitrogen source was either urea or MAP or a mixture of both products (table 1).

When MAP replaced all urea-N, within the same buffer and the same inoculum, it caused : significantly lower pH values (fig. 1 and 2), higher N-NH_3 concentrations (fig. 3), significantly lower ammonium nitrogen consumptions (table 3), and a slightly reduced formation of volatile fatty acids (table 4).

The depressive action of MAP on nitrogen utilization was all the more pronounced as the medium was less buffered (fig. 9, trials 2, 3, 4) and the pH lower at the end of the incubation. This was mainly imputed to the high acidity of the product (fig. 10).

When MAP nitrogen replaced only partly urea nitrogen (33.3 or 11 p. 100 of non-protein-N) (fig. 4, 5), the product did not exhibit any inhibitory effect, and on the contrary, in some cases, MAP had a favourable influence on the bacterial proteosynthesis (table 5, fig. 9, trials 5 and 6).

Supplementary trials performed *in vivo* on adult sheep fitted with rumen cannulae showed that MAP, introduced into the diet at a rate of 4 p. 100 of the total ration, definitely reduced the palatability of the feed. At lower levels (1.2 p. 100 of the diet, *i.e.* 11 p. 100 of non protein-N), the product was well accepted and did not affect very much either the pH (fig. 6) or the ammoniogenesis (fig. 7) or the jugular blood levels of urea and NH_3 (fig. 8). It may be concluded that when monoammonium phosphate is introduced in limited amounts into the diet with the aim of providing the animals with a phosphorus supplement of good quality, it does not have any depressive action on the activity of the rumen microflora.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AMBO K., SHIGA A., YAMAMOTO S., SHIBATA F., WATANABE Y. S., TSUDA T., UMEZU M., 1967. Experimental studies on the ammonia poisoning of the goat on the capacity to detoxicate ammonia entering through the portal blood. *Tohoku J. Agric., Res.*, **19**, 257-265.
- ANDERSON R., CHENG E., BURROUGHS W., 1956. A laboratory technique for measuring phosphorus availability of feed supplements fed to ruminants. *J. Anim. Sci.*, **15**, 489-495.
- CHALMERS M. L., JAFFRAY A. E., WHITE F., 1971. Movements of ammonia following intraruminal administration of urea or casein. *Proc. Nutr. Soc.*, **30**, 7-17.
- COMPÈRE R., 1969. Valeur comparée des phosphates monoammonique et diammonique comme sources de phosphore et d'azote alimentaires chez le mouton. *Bull. Rech. Agron., Gembloux*, tome IV, 339-367.
- DUMONT R., TISSERAND J. L., 1975. Étude comparée de l'influence de l'ingestion de trois formes azotées simples : urée, phosphate diammonique ou urée-acido-phosphorique, sur quelques caractéristiques physico-chimiques du contenu ruminal chez le mouton adulte. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* (sous presse).
- DURAND M., BENAMFUR M., VIROBEN G., 1974. Influence d'un traitement hydrothermique de l'orge sur la digestion des matières azotées dans le rumen du mouton : études au niveau du rumen et de l'abomasum. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **14**, 167-192.
- FRIDLAND I., RAMBIDI M., LEKAREV V., 1963. Utilisation de l'azote de l'urée et du phosphate diammonique par le ruminant. *Zhivotnovodstvo*, (7), 23-26.
- GUÉGUEN L., FORET R., DURAND M., 1976. Utilisation du phosphate monoammonique chez le Mouton. I. Utilisation comparée du phosphore des phosphates monoammonique et monosodique et influence sur le métabolisme du calcium et du magnésium. *Ann. Zootech.*, **25**, 111-118.
- HENDERICKX H., MARTIN J., 1963. *In vitro* study of the Nitrogen metabolism in the rumen. *Comptes rendus de recherches IRSEA*, (31), 8-66.
- LAMPILA M., 1964. Volatile fatty acids, pH and microbial activity in the rumen contents of the cow. *Ann. Agric. Fenn.*, **3**, suppl. 3, 1-76.
- OLTJEN R. R., WALLER G. R., NELSON A. B., TILLMAN A. D., 1963. Ruminant studies with diammonium phosphate and urea. *J. Anim. Sci.*, **22**, 36-42.
- RUSSELL E. L., HALE W. H., HUBBERT F. H., 1962. Evaluation of diammonium phosphate as a source of nitrogen for ruminants. *J. Anim. Sci.*, **21**, 523-526.
- SCHAADT H., JOHNSON R. R., McCLURE K. E., 1966. Adaptation to and palatability of urea, biuret and diammonium phosphate as NPN sources for ruminants. *J. Anim. Sci.*, **25**, 73-77.
- TISSERAND J. L., ZELTER S. Z., 1965. Essai de normalisation d'une technique de mesure de la digestion des fourrages *in vitro* « rumen artificiel ». *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **5**, 101-111.
- V'YUGIN A. P., 1974. Influence des phosphates d'ammoniaque sur la digestibilité des substances nutritives chez les jeunes bovins. *Zhivotnovodstvo*, (2), 48.