



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints ID : 4359](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/ID/4359)

To cite this version :

TROEGELER, Annabelle, MONTEILS, Valérie, COMBES, Sylvie, CAUQUIL, Laurent, CHEMIT, Marie-Luce, ENJALBERT, Francis. Mesure in vitro de l'activité de la communauté bactérienne ruminale. *3èmes Journées d'Animation Scientifique INRA-PHASE* . Oct 2009. Tours, France : 2009.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

MESURE *IN VITRO* DE L'ACTIVITÉ DE LA COMMUNAUTE BACTERIENNE RUMINALE



Annabelle TROEGELER-MEYNADIER, **Valérie MONTEILS**, Sylvie COMBES, Laurent CAUQUIL, Marie-Luce CHEMIT, Francis ENJALBERT
 INRA - Université de Toulouse, UMR INRA-ENSAT-ENVT 1289 TANDEM, École Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23 chemin des Capelles, BP 87614 Toulouse cedex 3
a.troegeler@envt.fr

Introduction :

Les techniques modernes de biologie moléculaire permettent une description de la micropopulation ruminale. L'étude de l'activité fermentaire de cette population sur les principaux constituants de la ration est souvent réalisée *in vitro*. Les conditions *in vitro* présentent des limites par rapport aux conditions *in vivo*, elles nécessitent d'être validées. Cette étude a pour objectif de déterminer l'effet du temps d'incubation d'une part sur l'activité fermentaire de la micropopulation ruminale (produits de fermentation et dégradation du substrat), et d'autre part sur la communauté bactérienne (quantité et diversité).

Matériels et méthodes :

- incubations :

jus de rumen, filtré sur un tamis de 1,6mm (80ml)
 tampon bicarbonate + minéraux (80ml)
 son de blé (3g)
 huile de pépins de raisin (200mg)
 ⇒ 0, 3 ou 6h, en anaérobiose, dans un bain-marie rotatif à 39°C

- analyses chimiques :

azote ammoniacal (NH₃) : méthode de Nessler.
 amidon et NDF : méthodes officielles (NF V03-606 et V18-122)

acides gras volatils (AGV) et acides gras longs : CPG

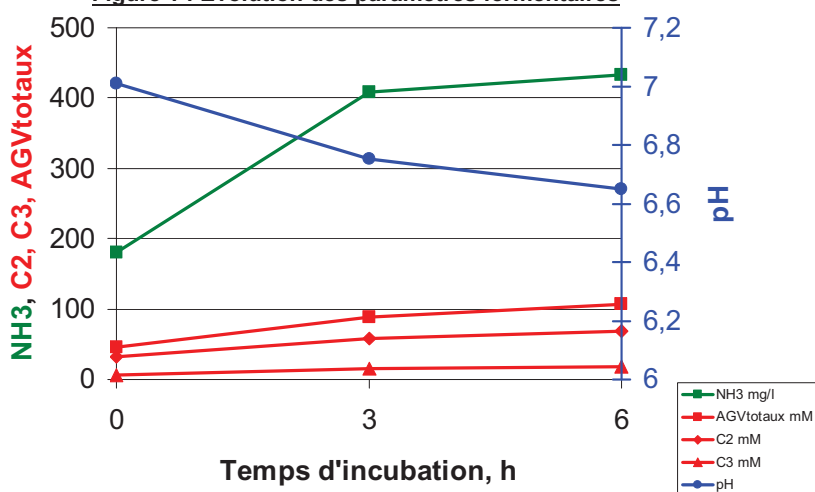
- analyses microbiologiques : communauté bactérienne

quantification par qPCR
 évaluation structure et diversité (indice de Simpson) par CE-SSCP

- analyses statistiques :

analyse de variance avec la durée d'incubation comme facteur.

Figure 1 : Évolution des paramètres fermentaires



Résultats :

- Production NH₃ [0-3h] = 9 × production NH₃ [3-6h] (Figure 1)
- Production AGV totaux [0-3h] = 2 × production AGV totaux [3-6h] ; évolution parallèle des différents AGV (Figure 1)
- Dégradation des fibres : -17% à 3h et -26% à 6h (Figure 2)
- Dégradation de l'amidon : -38% à 3h et -60% à 6h (Figure 2)
- Biohydrogénation des acides gras insaturés : Tableau 1
- Biohydrogénation de l'acide linoléique : apparition des intermédiaires, CLA et C18:1t, et du produit terminal, C18:0 (Figure 2)
- La durée d'incubation n'a eu aucune influence sur la densité, la structure et la diversité de la population bactérienne (Tableau 2)

Figure 2 : Évolution des teneurs en NDF, en amidon et en acides gras impliqués dans la bio hydrogénation de l'acide linoléique

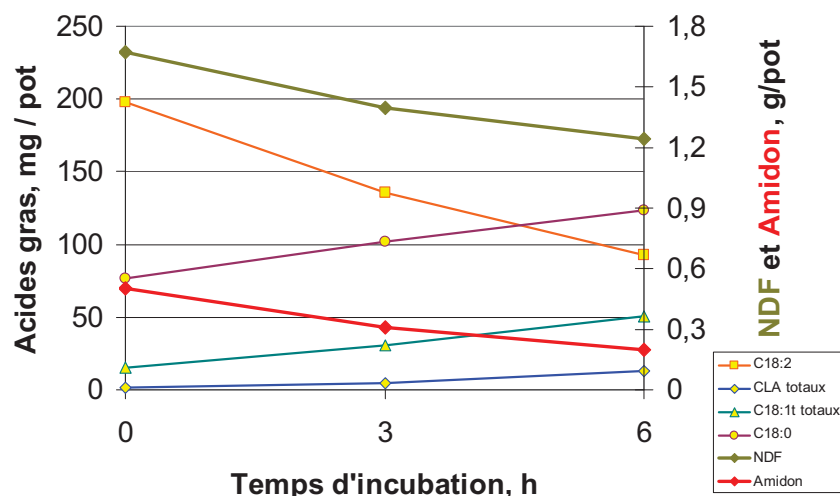


Tableau 1 : Pourcentage de disparation des acides gras insaturés

Durée d'incubation, h	3h	6h	P
C18:2	-32	-53	<0,01
C18:1c9	-23	-33	<0,01
C18:3	-38	-47	<0,01

Tableau 2 : Effets du temps d'incubation sur la communauté bactérienne

Durée d'incubation, h	0	3	6	P
Indice de Simpson	5,60	5,53	5,72	0,725
qPCR 10 ¹⁰ copies/μl	2,88	3,01	2,12	0,953

Conclusion : La communauté bactérienne mise à incuber *in vitro* n'a pas évolué, ni en quantité, ni en structure ou en diversité. Les conditions de culture ne semble donc pas entrainer de sélection d'espèces au cours des 6 premières heures. La micropopulation est restée active, puisque capable de dégrader les différents substrats : matières azotées, glucides et lipides.

Une mesure *in vitro* de l'activité microbienne peut être envisagée en association aux techniques de biologie moléculaire afin de mieux caractériser la communauté bactérienne d'un prélèvement.