

ÉTUDE « IN-VITRO » DE L'INFLUENCE DES EXTRAITS AQUEUX DE FOURRAGE SUR LA CROISSANCE DES BACTÉRIES DU RUMEN

G. FAUCONNEAU

avec la collaboration technique de Janine BOUDON et Éliane PENOT.

*Service de Biochimie et de Nutrition,
Centre national de Recherches zootechniques, Jouy-en-Josas.*

SOMMAIRE

Les extraits salins (salive artificielle) de divers fourrages ont été utilisés comme milieu de culture pour les bactéries du rumen. La vitesse de croissance et la croissance maximum atteintes varient avec le fourrage et semblent caractéristiques de celui-ci.

Ces deux critères du développement des bactéries varient avec les constituants protoplasmiques solubilisés par la salive dans le cas de fourrages lyophilisés ou séchés à l'air. Certains traitements (séchage par rayonnement infra-rouge) diminuent beaucoup la vitesse de croissance.

Le développement des bactéries du rumen obtenu dans certaines conditions définies pourrait constituer une méthode d'appréciation de la fraction soluble des fourrages.

Les éléments solubles des fourrages (glucides, acides organiques, acides aminés libres, amides et minéraux), constituent le milieu de prolifération des microorganismes du rumen (FAUCONNEAU et JARRIGE, 1955) ; aussi la composition de la fraction soluble conditionne-t-elle le développement d'un faciès microbien caractéristique et les orientations fermentaires de celui-ci, en agissant à la fois sur les vitesses de croissance et sur les croissances maxima des microorganismes ; de ces différents facteurs dépend d'ailleurs l'utilisation nutritive des fourrages et en particulier celle de leurs constituants membranaires.

Nous avons étudié in-vitro l'influence des constituants solubilisés dans le rumen par la salive sur la croissance de la population bactérienne isolée de celui-ci.

Les extraits ont été obtenus par macération à 40°C des fourrages broyés à l'aide de salives artificielles diverses (MacDOUGALL, 1948), CHENG et al. (1955)), le facteur de dilution utilisé est 1/25 (poids d'échantillon sec/volume de salive), la fraction solubilisée est isolée par centrifugation et utilisée le plus rapidement possible.

Le jus de rumen destiné à préparer l'inoculum est prélevé sur des moutons munis d'une fistule du rumen et nourris exclusivement avec l'espèce de fourrage étudiée in-vitro : ray-grass anglais, luzerne, etc... Les animaux reçoivent deux repas de deux heures par 24 heures et les prélèvements des jus de rumen sont effectués immédiate-

ment avant un repas, c'est-à-dire 10 heures après l'interruption du repas précédent ; dans ces conditions le contenu du rumen est assez liquide ; par filtration sur mousseline et élimination par centrifugation de 15 minutes à 200 g des débris chloroplastiques on obtient un jus contenant de 5 à 12 g de bactéries sèches (par 1 000 ml de jus).

Les incubations sont effectuées à 39°C en tubes à essai 16 × 160 mm sous atmosphère anaérobie ; à cette fin les tubes saturés d'azote sont placés dans des dessiccateurs remplis d'azote en présence de pyrogallol potassique (pour capter les traces d'oxygène). Nous avons utilisé comparativement les inoculums de concentration différente, la turbidité mesurée à 650 m μ sous 1 cm d'épaisseur variant de 0,1 à 1,5 densité optique (concentration finale dans les tubes de culture) ; en outre, nous avons

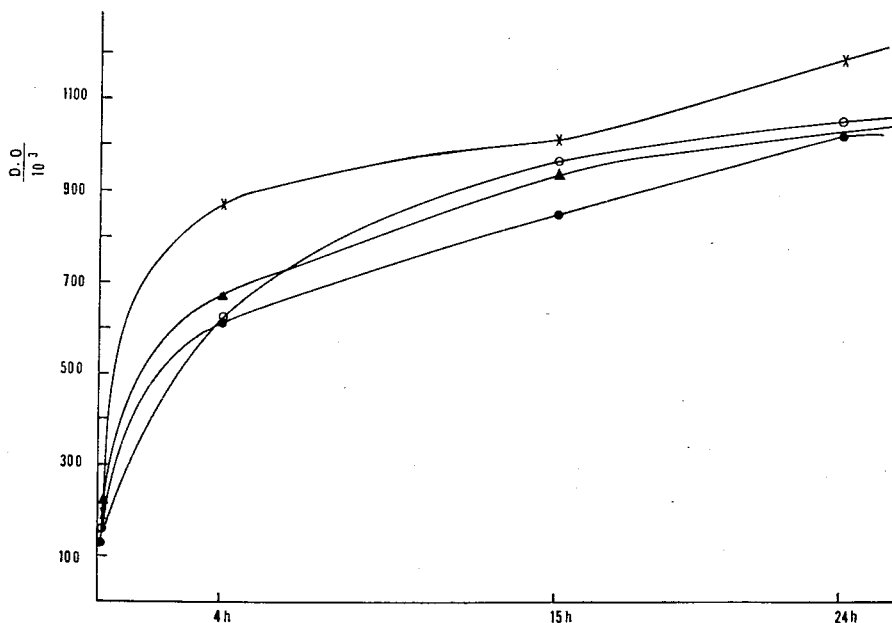


FIG. 1 — Croissances des bactéries obtenues sur extraits de feuilles de luzerne — influence du stade de développement (1^{er} cycle) :

× —× 25 Avril; ○ —○ 15 Mai; ▲ —▲ 3 Juin; ● —● 30 Juin.

comparé la population totale de bactéries libres et certaines fractions isolées par centrifugation fractionnée (500 g, 5 000 g, 25 000 g pendant 30 minutes), dans du sérum physiologique saturé d'azote.

Quel que soit l'inoculum utilisé (concentration différente de populations bactériennes totales ou fractionnées par centrifugation), la vitesse de croissance de certaines bactéries (mesurée par turbidimétrie à 650 m μ après dilution 1/2), semble caractéristique du fourrage, en effet nous obtenons une bonne reproductibilité des croissances pour une même densité d'inoculum (1).

Nous avons appliqué cette technique aux feuilles et tiges de luzerne prélevées au cours du premier cycle de développement (fig. 1 et 2) : les divers extraits de feuilles

(1) Dans nos conditions expérimentales (extraits de fourrages fraîchement préparés, saturés d'azote, incubation en atmosphère anaérobie à 39°), il n'y avait pas de croissance appréciable pendant 24 heures en l'absence d'inoculum.

fournissent des croissances comparables, les extraits des feuilles prélevées le 25 avril étant légèrement plus favorables ; par contre, la vitesse de croissance ainsi que la

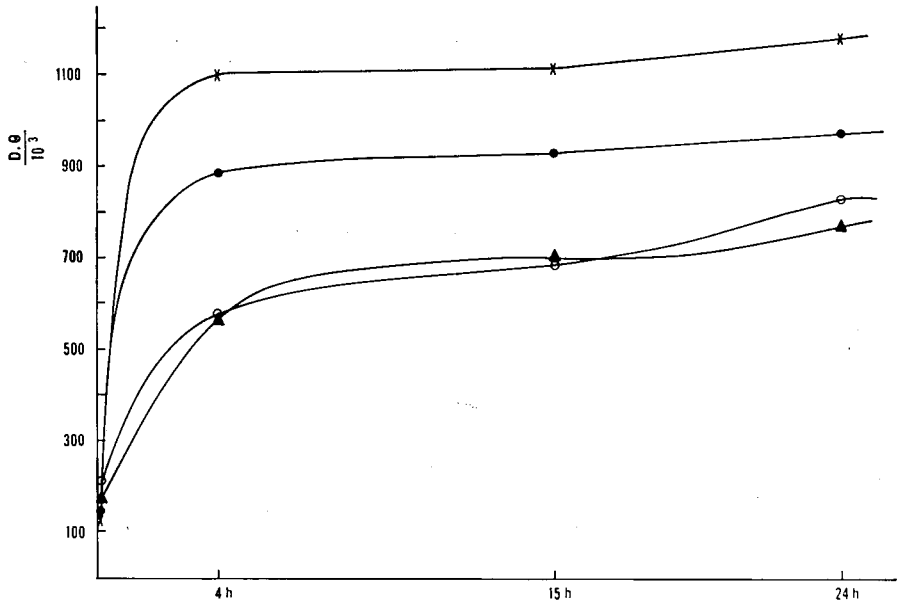


FIG. 2 — Croissances des bactéries obtenues sur extraits de tiges de luzerne, influence du stade de développement (1^{er} cycle) :
 × — × 25 Avril ; ● — ● 15 Mai ; ○ — ○ 3 Juin ; ▲ — ▲ 30 Juin

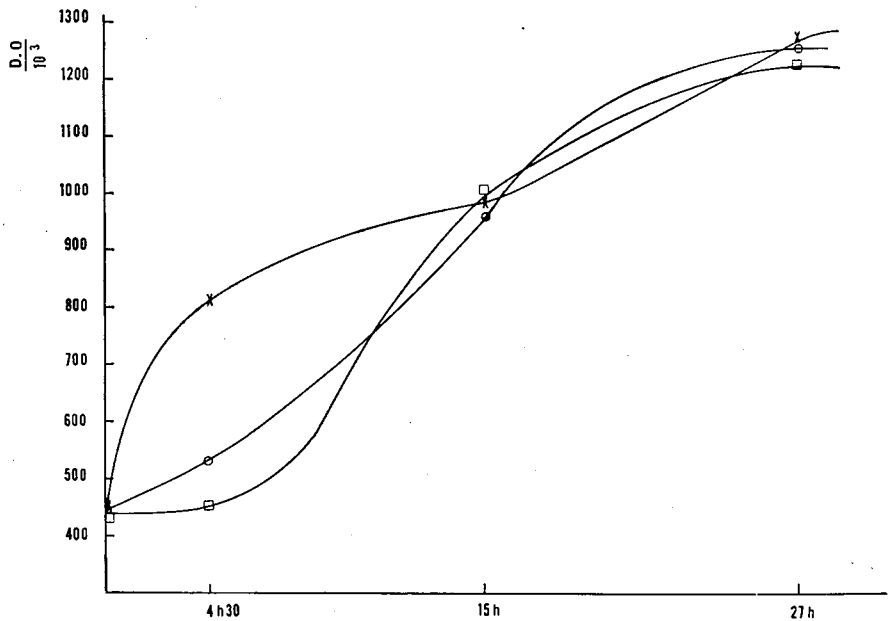


FIG. 3 — Croissances des bactéries obtenues sur extraits de feuilles de luzerne (2^{ème} cycle de développement 8 Septembre) : influence des traitements
 × — × lyophilisation ; ○ — ○ séchage à l'air ; □ — □ séchage par rayonnement infra-rouge.

croissance maximum obtenues avec les extraits de tiges varient beaucoup avec le stade de développement et semblent suivre les variations des constituants protoplasmiques solubilisés par la salive artificielle (49,7-37,2-26,2-25,3 p. 100 de la matière sèche totale).

Nous avons étudié à l'aide des mêmes techniques les feuilles et tiges de luzerne de deuxième coupe soumises à différents traitements en vue de leur conservation (fig. 3 et 4) : la vitesse de croissance obtenue avec des extraits de feuilles et tiges séchées à l'air est beaucoup plus faible que celle obtenue, avec des extraits de feuilles et tiges lyophilisées, bien que les quantités de matière sèche des extraits correspondants soient semblables ; d'ailleurs les croissances maximum varient peu et semblent liées plus étroitement à la quantité de matière sèche extraite par la salive artificielle. Les extraits provenant des feuilles et tiges traitées au four à rayonnement infra-rouge

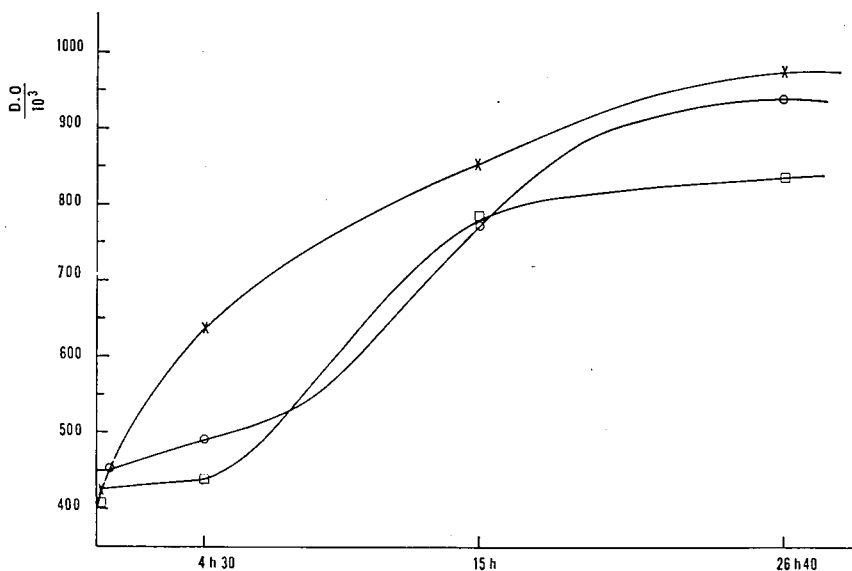


FIG. 4 — Croissances des bactéries obtenues sur extraits de tiges de luzerne (2^{ème} cycle de développement 8 Septembre) : influence du traitement

x — x lyophilisation ; o — o séchage à l'air ; □ — □ séchage par rayonnement infra-rouge.

diminuent encore plus la vitesse de croissance des bactéries, bien que les fractions protoplasmiques solubilisées par la salive soient semblables : 49,0-49,6 p. 100 dans le cas des feuilles et 28,2-26,4 p. 100 dans le cas des tiges.

En outre, nous avons étudié un ray grass anglais soumis à des prélèvements échelonnés au cours du premier cycle (fig. 5) ; certains échantillons ont été lyophilisés après congélation dans l'azote liquide au moment du prélèvement, d'autres ont été séchés dans un four à rayonnement infra-rouge. Les croissances maximum observées sur les 3 échantillons lyophilisés diminuent quand les plantes vieillissent parallèlement à la diminution des constituants solubles dans la salive (56,7-47,3-45,4 p. 100) ; par contre les croissances maximum obtenues avec les échantillons séchés au four à rayonnement infra-rouge sont beaucoup plus faibles, et dans ce cas elles varient peu avec les stades de développement.

Pendant la phase de croissance les sucres et les acides aminés libres semblent

être utilisés parallèlement à celle-ci et ne semblent pas la limiter (du moins quantitativement) ; le temps de latence observé avec les extraits provenant de fourrages séchés à l'air ou au four infra-rouge serait dû soit à l'apparition de facteurs inhibiteurs, soit à la disparition de facteurs de croissance.

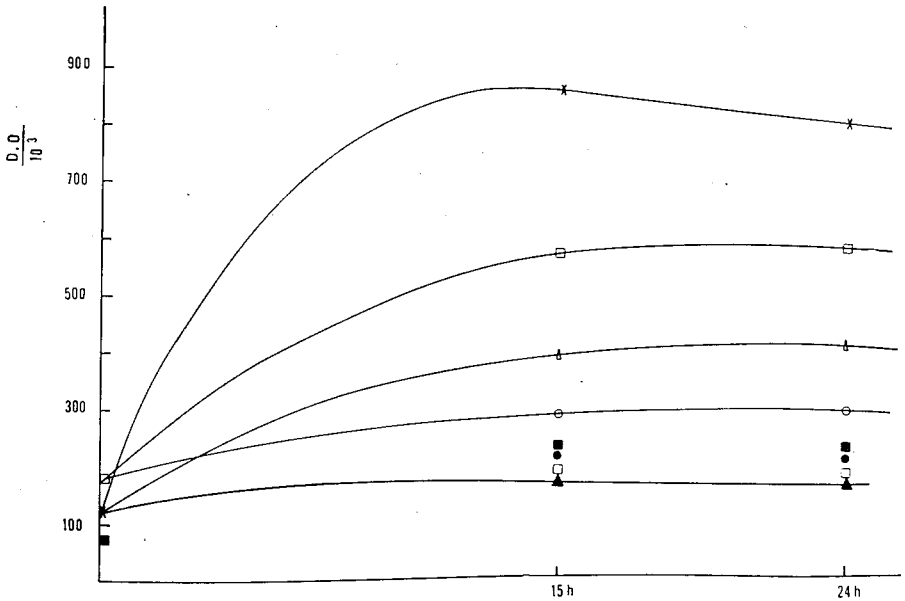


FIG. 5 — Croissances des bactéries obtenues sur extrait de Ray grass anglais, influence du traitement et du stade de développement au cours du 1^{er} cycle :

lyophilisation : × —× 14 Avril, ▨ —▨ 12 Mai, △ —△ 29 Mai ;
 séchage par rayonnement infra-rouge : ⊖ —⊖ 29 Avril, ■ —■ 12 Mai, □ —□ 29 Mai
 ▲ —▲ 10 Juin, ● —● 12 Septembre (2^{ème} cycle de développement).

La mesure de la vitesse de croissance et de la croissance maximum atteinte dans des conditions définies sur des extraits ayant subi le même procédé de conservation (séchage à l'air ou lyophilisation⁽²⁾), pourrait constituer une méthode de dosage microbiologique de la fraction soluble des fourrages, et par suite une première appréciation de leur valeur nutritive.

Reçu en mai 1960.

SUMMARY

AN IN VITRO STUDY OF THE INFLUENCE OF AQUEOUS EXTRACTS OF FORAGE ON THE GROWTH OF RUMEN BACTERIA

Extracts of different forages obtained by maceration (artificial saliva) at 40°C have been used as culture media for rumen bacteria (total or fractional population). The rate of growth and the maximum growth obtained vary with the forage and appear to be characteristic of it. When freeze-dried or air-dried forages are studied, these two criteria of bacterial growth vary according

(2) La méthode ne peut être utilisée dans le cas d'échantillons séchés à l'aide du rayonnement infra-rouge.

to the amount of protoplasmic constituents dissolved by the saliva, and these, in turn, depend primarily on the age of the plants.

A forage sample has been subjected to various preservation treatments; although the dry matter dissolved by the saliva may be similar, air-drying and especially drying with infra-red radiation greatly diminishes the rate of growth without modifying the maximum growth.

The development of the rumen bacteria obtained under certain standard conditions may constitute a method for the determination of the soluble fraction of forage plants.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CHENG E. W., GLEN H., BOURROUGHS W., 1955. A method for the study of cellulose digestion by washed suspensions of rumen micro-organisms. *J. Dairy Sci.*, **38**, 1225-1250.
- FAUCONNEAU G., JARRIGE R., 1955. Quelques problèmes physiologiques de l'utilisation des fourrages. *Compte-rendu des 5^e Journées d'études de la F. E. Z. — Reading 6-13 juillet — 121-142.*
- MCDUGALL E. J., 1948. Studies on ruminant saliva. I — The composition and output of sheeps saliva. *Biochem. J.*, **43**, 99-109.
-