

Article original

## Simulation *in vitro* des fermentations cœcales du lapin en fermenteur à flux semi-continu. II. Effet de la nature de l'inoculum

D Adjiri<sup>1</sup>, M Bouillier-Oudot<sup>1</sup>, F Lebas<sup>2</sup>, M Candau<sup>1</sup>

<sup>1</sup> École nationale supérieure agronomique de Toulouse, laboratoire de zootechnie  
et de productions animales, 145, avenue de Muret, 31076 Toulouse Cedex;

<sup>2</sup> INRA, laboratoire de recherches sur l'élevage du lapin, BP 27,  
31326 Castanet-Tolosan Cedex, France

(Reçu le 8 janvier 1992; accepté le 30 juin 1992)

**Résumé** — Deux fermenteurs de type Rusitec ont été conduits dans des conditions identiques maisensemencés à partir d'inoculum provenant soit de cæcum de lapins, soit de contenu de rumen de bovins. Le substrat de fermentation était un aliment pour lapin ayant subi un double traitement enzymatique par de l'amylase et de la pepsine. Le taux de disparition en 48 h des constituants du substrat (MO et NDF) est significativement plus élevé en présence d'inoculum de rumen (+10% et +15% respectivement). Le pH est similaire pour les 2 fermenteurs (6,6). Après 6 j d'adaptation, la quantité d'azote protéique produite par 24 h est semblable pour les 2 fermenteurs. La production d'AGV est légèrement plus élevée en présence de l'inoculum de rumen, mais les faciès fermentaires sont très différents. Dans le fermenteurensemencé par du contenu de rumen, le pourcentage d'acide propionique est supérieur à celui de l'acide butyrique (25 vs 7%). Par contre, en présence de contenu cœcal, la proportion de C<sub>3</sub> et de C<sub>4</sub> est en faveur de ce dernier (C<sub>3</sub>/C<sub>4</sub> = 0,81). En conséquence, seul l'inoculum cœcal de lapin a été en mesure de provoquer le faciès fermentaire caractéristique de l'espèce.

**lapin / cæcum artificiel / inoculum / acide gras volatil**

**Summary** — *In vitro* simulation of rabbit caecal fermentation in a semi-continuous flow fermentor. II. Effect of inoculum type. Two Rusitec fermentors were operated under identical conditions. One was seeded with an inoculum of rabbit caecal contents, and the other with bovine rumen contents. The fermentation substrate was rabbit feed that had been digested with amylase and pepsin. The substrate constituents (organic matter, OM and NDF) were lost in 48 h at a significantly higher rate in the presence of rumen inoculum (OM: +10%, NDF: +15%). The pHs of the 2 fermentors were similar at pH 6.6. The fermentors produced similar amounts of protein nitrogen per 24 h, after 6 d of adaptation. Volatile fatty acid production was slightly higher in the presence of rumen inoculum. The fermentor inoculated with rumen contents produced a higher percentage of propionic acid (25%) than of butyric acid (7%), while fermentation with rabbit caecal contents gave the opposite ratio (C<sub>3</sub> / C<sub>4</sub> = 0.81). Consequently, only the rabbit caecal inoculum provided the fermentation profile characteristic of the species.

**rabbit / artificial caecum / inoculum / volatile fatty acid**

## INTRODUCTION

Dans un article précédent (Adjiri *et al*, 1992) consacré à la simulation *in vitro* des fermentations cœcales du lapin, nous avons montré qu'il est possible de reproduire et de maintenir sur une période de 2 semaines, les caractéristiques principales des fermentations cœcales du lapin. Nous avons utilisé pour cela, un fermenteur à flux semi-continu,ensemencé à partir d'un inoculum constitué de contenu cœcal de lapin et alimenté par un aliment de type commercial préalablement traité par de l'amylase et de la pepsine.

Afin d'étudier l'importance de l'origine de l'inoculum dans le déterminisme des fermentations observées *in vitro* et de confirmer que l'obtention de ce faciès cœcal est bien lié à la nature de l'inoculum et non à la qualité du substrat utilisé, nous avons comparé les paramètres fermentaires de 2 fermenteurs conduits dans les mêmes conditions : l'un ensemencé avec du contenu cœcal de lapin et l'autre avec le contenu d'un rumen de bovin.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les conditions opératoires sont identiques à celles déjà utilisées (Adjiri *et al*, 1992). Ne sont donc rappelés ici que les éléments essentiels.

### **Préparation du substrat**

Le substrat est réalisé à partir d'un aliment de type commercial. Après broyage, l'aliment est soumis à 2 hydrolyses. L'aliment broyé est mis à incuber en présence d' $\alpha$ -amylase (8 g pour 100 g d'aliment et 500 ml d'eau) pendant 24 h à 39 °C, sous agitation. Après acidification par de l'acide chlorhydrique jusqu'à pH 1,5, le substrat est de nouveau incubé avec 2% de pepsine pendant 4 h à 39 °C sous agitation. Le pH est ensuite ramené à la neutralité avec de la soude, puis le résidu est filtré, lavé et séché.

Les traitements enzymatiques réduisent fortement la teneur en amidon : 1,4% contre 20,7% de la matière sèche dans l'aliment initial. Cette valeur est proche de celle du contenu iléal du lapin. La concentration en azote est réduite à 7,4% de la matière sèche contre 17,5% pour l'aliment initial. De manière à obtenir pour le substrat une proportion d'azote équivalente à celle du contenu iléal, une complémentation azotée journalière est effectuée moitié sous forme uréique dans la solution minérale et moitié sous forme de peptone de caséine introduite directement dans le fermenteur. Enfin, la teneur en fibres du substrat après traitement est supérieure à celle du contenu iléal de lapin : 69% NDF vs 46%.

### **Appareillage**

Le système de fermentation utilisé est identique au Rusitec mis au point par Czerkowski et Breckenridge (1977) pour la simulation de fermentations du rumen. Les 2 fermenteurs de 1 l de volume sont maintenus dans un bain-marie à 39 °C. L'approvisionnement en substrat des fermenteurs est effectué chaque jour. Une solution saline est apportée en continu (0,5 l/24 h). Les effluents liquides sont récupérés en vue d'analyse.

### **Inoculum cœcal**

L'ensemencement est effectué à partir du contenu de 5 cœca de lapins nourris avec un aliment comparable à l'aliment expérimental. Le contenu des cœca est dilué par 300 ml d'un mélange eau-solution minérale puis filtré sur de la gaze. Ensuite 500 ml de filtrat et 100 g de résidu solide, placés dans un sachet nylon, sont introduits dans le fermenteur en même temps que 15 g du substrat placés dans un second sachet (fermenteur CAEC). Le volume est ensuite complété à 1 l.

### **Inoculum de rumen**

Le contenu de rumen est prélevé sur 2 vaches porteuses de canule du rumen, nourries avec un

régime à base d'ensilage de maïs et de foin de luzerne. Le jus de rumen est filtré sur de la gaze puis 500 ml de filtrat et 100 g de résidu solide placés dans un sachet nylon sont introduits dans le fermenteur (fermenteur RUM) dans les mêmes conditions que pour l'inoculum cæcal.

### Fermentations

Après ensemencement, un sachet de 15 g de substrat de fermentation est introduit tous les jours. Les sachets séjournent 48 h dans les fermenteurs, leur contenu est ensuite récupéré en vue d'analyse. La période d'étude dure 2 semaines.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les fermentations obtenues à partir d'un ensemencement de contenu de rumen conduisent en 48 h à une dégradation de la matière organique et des constituants pariétaux du substrat significativement

plus élevées que celles obtenues en présence de l'inoculum cæcal : respectivement +9,7% et +14,6% (tableau I).

En dehors de la quantité d'azote microbien recueillie journalièrement dans l'effluent et de la production d'azote ammoniacal, les paramètres fermentaires présentent un profil relativement stable sur l'ensemble de la période d'étude. Le pH moyen (6,6) n'est pas différent entre les 2 fermenteurs (tableau I).

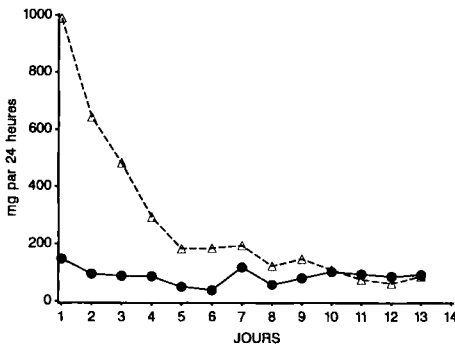
Par contre, la quantité de l'azote protéique recueillie dans l'effluent décroît pendant les 5 premiers jours de fermentation pour le fermenteur ensemencé avec du contenu cæcal, alors qu'à partir de l'inoculum de rumen ce paramètre présente un profil stable (fig 1). Dans ce dernier cas, la concentration microbienne de l'inoculum liée à une teneur en matière sèche plus faible du contenu de rumen, est proportionnée à la quantité de substrat apportée, évitant ainsi le lessivage microbien de la période d'adaptation associé à l'inoculum

**Tableau I.** Influence de la nature de l'inoculum sur les paramètres de dégradation et fermentaires en caecum artificiel (moyenne et écart type de la moyenne).

	FERM CAEC	FERM CAEC
DMO %	51,74 ± 2,79 <sup>b</sup>	56,48 ± 2,47 <sup>a</sup>
DNDF %	41,24 ± 2,50 <sup>b</sup>	47,26 ± 2,93 <sup>a</sup>
pH	6,61 ± 0,13	6,59 ± 0,08
N prot (mg/j*)	173,90 ± 116,3	82,53 ± 23,7
N-NH <sub>3</sub> (mg/j)	227,61 ± 40,52	223,74 ± 31,72
AGV (mmol/l)	85,84 ± 6,15	90,37 ± 6,79
C <sub>2</sub> %	65,25 ± 1,49 <sup>b</sup>	59,34 ± 1,14 <sup>b</sup>
C <sub>3</sub> %	11,97 ± 1,52 <sup>b</sup>	24,87 ± 1,44 <sup>a</sup>
isoC <sub>4</sub> %	1,28 ± 0,11 <sup>b</sup>	1,43 ± 0,11 <sup>a</sup>
C <sub>4</sub> %	15,04 ± 2,33 <sup>a</sup>	7,45 ± 1,22 <sup>b</sup>
isoC <sub>5</sub> %	2,13 ± 0,24 <sup>b</sup>	3,33 ± 0,47 <sup>a</sup>
C <sub>5</sub> %	1,98 ± 0,16 <sup>b</sup>	2,99 ± 0,36 <sup>a</sup>

\* Comparaison de moyennes non réalisée en raison de la différence importante des écarts types des 2 moyennes.

<sup>a,b</sup> Sur une même ligne les moyennes affectées de la même lettre ne sont pas différentes au seuil  $P = 0,05$ .



**Fig 1.** Évolution quotidienne de la production d'azote protéique (mg/j) recueillie dans les effluents de fermentation. Inoculum caecal : triangles vides; inoculum de rumen : cercles pleins.

caecal employé (Adjiri *et al*, 1992). Après cette période de 5–6 j, les 2 fermenteurs présentent des productions d'azote protéique équivalentes. Enfin, la production d'azote ammoniacal n'est pas significativement différente entre les fermenteurs (tableau I).

La quantité d'acides gras volatils produite journalièrement, légèrement plus élevée en présence de l'inoculum de rumen, est à mettre en rapport avec une dégradation plus importante du substrat. Cependant, cette différence n'est pas significative.

Les faciès fermentaires, étudiés à travers les proportions molaires des différents acides gras volatils produits, sont très différents entre les fermenteurs. Pour le fermenteur ensemencé avec le contenu de rumen le pourcentage d'acide propionique est supérieur à celui de l'acide butyrique (25 vs 7%). Par contre, en présence de l'inoculum caecal, le rapport  $C_3/C_4$  reste en faveur de l'acide butyrique durant l'ensemble de la période de fermentation, en accord avec les données *in vivo* et nos données antérieures obtenues *in vitro* (Adjiri *et al*, 1992).

Par ailleurs, nous avons pu observer avec l'inoculum caecal seulement, l'apparition de  $C_6$ . Nous avons déjà souligné que Demaux *et al* (1981) ont observé la présence d'acide caproïque ( $C_6$ ) chez des lapins conduits en alimentation rationnée. La conduite des fermenteurs semi-continus s'apparenterait à cette dernière pratique, mais cette production de  $C_6$  serait, en première analyse, spécifique de l'activité de la flore caecale du lapin.

## CONCLUSION

Même à partir d'un substrat s'apparentant au contenu iléal du lapin, l'utilisation d'une flore comme celle du rumen ne semble pas permettre d'obtenir un faciès fermentaire similaire à celui décrit dans le caecum du lapin.

Ainsi, l'ensemencement des fermenteurs à partir du contenu caecal de lapins est déterminant dans l'orientation des fermentations observées *in vitro* comme probablement *in vivo*, du fait de la spécificité de la flore microbienne de cette espèce.

## RÉFÉRENCES

- Adjiri D, Bouillier-Oudot M, Lebas F, Candau M (1992) Simulation *in vitro* des fermentations caecales du lapin en fermenteur à flux semi-continu. 1. Rôle du prétraitement du substrat alimentaire. *Reprod Nutr Dev* 32, 351-361
- Czerkawski JW, Breckenridge G (1977) Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *Brit J Nutr* 38, 371-384
- Demaux G, Guémon L, Gallouin F (1981) Temporal changes of some biochemical and histological parameters at different levels in the rabbit digestive tract. *Reprod Nutr Dev* 21, 868