



HAL
open science

**Étude de la biohydrogénation des acides gras
alimentaires par le microbiote ruminal, pour des
moutons mâles de race Romane sélectionnés sur leur
efficacité alimentaire et soumis à deux régimes différents**

Chloé Rémy

► **To cite this version:**

Chloé Rémy. Étude de la biohydrogénation des acides gras alimentaires par le microbiote ruminal, pour des moutons mâles de race Romane sélectionnés sur leur efficacité alimentaire et soumis à deux régimes différents. Médecine vétérinaire et santé animale. 2023. dumas-04136347

HAL Id: dumas-04136347

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04136347v1>

Submitted on 21 Jun 2023

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.

ETUDE DE LA BIOHYDROGENATION DES ACIDES GRAS ALIMENTAIRES PAR LE MICROBIOTE RUMINAL, POUR DES MOUTONS MALES DE RACE ROMANE SELECTIONNES SUR LEUR EFFICIENCE ALIMENTAIRE ET SOUMIS A DEUX REGIMES DIFFERENTS

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

REMY Chloé, Marine

Directrice de thèse : Mme Annabelle MEYNADIER

JURY

PRESIDENT :

M. Francis ENJALBERT

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Annabelle MEYNADIER

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

M. Fabien CORBIERE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Monsieur Florian TOUITOU

Assistant d'Enseignement et de Recherches à l'Ecole Nationale
Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et économie de la santé animale*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*
Mme **PALIERNE Sophie**, *Pathologie chirurgicale*
M. **GAIDE Nicolas**, *Anatomie Pathologique*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
Mme **DEBREUQUE Maud**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
M. **RAMON PORTUGAL Félipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*
M. **DELPONT Mattias**, *Clinique Aviaire*
Mme **POUJADE Agnès**, *Anatomie pathologique Vétérinaire*
Mme **LAYSSOL-LAMOUR Catherine**, *Imagerie Médicale*
Mme **SAADA Chloé**, *Gestion intégrée de la santé des ruminants*

Remerciements

À mon jury de thèse,

À Monsieur le Professeur Francis ENJALBERT

Enseignant de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse en Alimentation Animale,
Pour nous faire l'honneur de présider ce jury de thèse,

Mes hommages respectueux

À Madame le Docteur Annabelle MEYNADIER

Maître de Conférences en Alimentation Animale à l'École Nationale Vétérinaire de
Toulouse,
Pour m'avoir proposé ce sujet de thèse, pour votre encadrement et votre
disponibilité,

Mes sincères remerciements

À Monsieur le Docteur Fabien CORBIÈRE

Enseignant de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse en pathologie des
ruminants,

Pour avoir accepté d'évaluer ce travail et de prendre part au jury de cette thèse,

Mes sincères remerciements

Au membre invité,

À Monsieur le Docteur Florian TOUITOU

Enseignant de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse en Alimentation Animale,
Pour m'avoir si bien encadrée, soutenue, pour le temps et l'aide consacrés et sans
qui rien n'aurait été possible,

Ma profonde gratitude

Table des matières

Liste des figures :	9
Liste des tableaux	13
Introduction	15
Partie 1 : Les acides gras chez le mouton allaitant	17
I) Intérêt de l'étude des acides gras chez le mouton allaitant	17
A) Économie de la filière ovine allaitante en France	17
B) Nomenclature des acides gras, classification des lipides qui les contiennent et méthodes de dosage	21
C) Intérêts des lipides de la ration des ovins allaitants et lien avec la conformation de l'animal et la qualité organoleptique de la viande	28
II) Sources, premières transformations dans le rumen et digestion des AG	36
A) Sources de lipides dans l'alimentation ovine.....	36
B) Le métabolisme lipidique ruminal.....	40
C) Digestion des AG et répartition dans les tissus.....	46
III) Caractéristiques du microbiote ruminal ovin	50
A) Anatomie et caractéristiques physico-chimiques des pré-estomacs des ruminants	50
B) La population bactérienne ruminale.....	54
C) Les bactéries impliquées dans la BH	57
D) Facteurs de variation de l'écosystème bactérien ruminal.....	60
Partie 2 : Performances zootechniques des ovins de l'étude soumis à deux régimes, profils en AG et lien avec les bactéries du rumen	64
I) Présentation de l'étude	64
A) Présentation du projet dans lequel s'inscrit mon étude	64
B) Présentation de la race ovine Romane et du mode de sélection des individus participant à l'étude	64
C) Présentation générale du protocole de l'étude réalisée sur les générations issues de la sélection génétique	66
II) Matériel et méthodes	69
A) Prélèvement de contenu ruminal et échantillonnage	69
B) Analyse des AG longs par CPG	69
C) Analyse de la communauté microbienne ruminale par séquençage du gène codant l'ARNr 16S	72
D) Méthodes d'analyse des profils en AG ruminiaux	76
D) Méthodes d'analyses des données sur R studio	78
III) Résultats	79
A) Proportions des principaux taxons comparées sous les deux régimes.....	79
B) Répartition des AG au sein du rumen sous les deux régimes et facteurs de variations de cette répartition.....	81
C) Influence du profil en AG et du microbiote bactérien ruminal sur les paramètres zootechniques des animaux de l'étude.....	94
IV) Discussion	97
A) Étude microbienne.....	97
B) Étude du profil en AG ruminal.....	98
C) Étude des paramètres zootechniques et liens avec les AG de la viande	101
Conclusion	105
Bibliographie	108
Annexes	121

Liste des figures :

Figure 1 : Chiffres clés ovins 2020 (Institut de l'élevage et de la CNE 2020).....	18
Figure 2 : Production ovine française depuis 2001 (Lapuyade 2022)	18
Figure 3 : Cheptel ovin français en 2011 et 2021 (Lapuyade 2022)	19
Figure 4 : Consommation de viande ovine en France 2011 et depuis 2019 (Lapuyade 2022).....	20
Figure 5 : Formule topologique de l'acide vaccénique et numérotation des atomes de carbone	22
Figure 6 : Isoméries géométriques trans (gauche) et cis (droite)	23
Figure 7 : Formule topologique de l'AL et de deux de ses isomères conjugués.....	24
Figure 8 : Exemple de structures d'AGS (acide palmitique), AGMI (acide oléique) et AGPI (AL) (Colette, Monnier 2011).....	24
Figure 9 : Structure générale d'un triglycéride.....	26
Figure 10 : Structure générale d'un glycérophospholipide	26
Figure 11 : Structure générale d'un sphingolipide.....	27
Figure 12 : Structure en double couche d'une membrane cellulaire (Colette, Monnier 2011).....	27
Figure 13 : Structure générale d'un galactolipide, R1 et R2 désignant des chaînes aliphatiques d'AG.....	28
Figure 14 : Tissu conjonctif musculaire (Brugère 2019).....	30
Figure 15 : Odds ratios de cancers du sein pour les AG de tissus adipeux blancs prélevés sur 329 femmes, représentés par classes de lipides (Bougnoux et al. 2006)	33
Figure 16 : Méthode d'extraction des lipides par l'éther dans un extracteur de Soxhlet (Luque de Castro, Priego-Capote 2010).....	37
Figure 17 : Comparaison des compositions en AG majeurs de différentes plantes (AFZ 2000).....	40
Figure 18 : Principales voies de BH des acides linoléique, linolénique et oléique	45
Figure 19 : Représentation schématique du passage des AG dans la circulation plasmatique à la sortie du rumen.....	48
Figure 20 : Représentation schématique des voies métaboliques à l'origine du dépôt d'acide ruménique au niveau tissulaire (Bessa et al. 2015)	49
Figure 21 : Étalement des pré-estomacs non sécrétoires et de l'estomac glandulaire d'un bovin à l'autopsie (Ferran 2017).....	51
Figure 22 : Paroi interne du réseau d'un ruminant (Ferran 2017)	51
Figure 23 : Paroi interne du sac ventral du rumen d'un ruminant (Mogicato 2015)....	52
Figure 24 : Parois internes du feuillet (Ferran 2017)	53
Figure 25 : Enzymes bactériennes connues comme étant impliquées dans la lipolyse et la BH (Enjalbert et al. 2017)	59
Figure 26 : Principales espèces bactériennes capables de réaliser la BH des C18 principaux (Enjalbert et al. 2017)	59
Figure 27 : Relation entre la phylogénie, la formation des produits de BH de l'AL, la sensibilité à l'AL et les mécanismes de formation du butyrate chez les <i>Butyrivibrio</i> (Lourenço et al. 2010).....	62
Figure 28 : Bélier Berrichon du Cher (gauche), brebis Romanov (milieu) = brebis Romane (INRA 401) (droite) (France génétique élevage ; Geode).....	65
Figure 29 : Un agneau au distributeur automatique de concentrés	68
Figure 30 : Un distributeur automatique de fourrages	68

Figure 31 : Prélèvement de contenu ruminal à l'unité expérimentale P3R de Bourges (INRAE).....	69
Figure 32 : Préparation des échantillons destinés à l'analyse des AG longs par CPG	71
Figure 33 : (a) Méthode de clustering reposant sur la définition d'un centroïde et de seuils d'appartenance ; (b) Méthode Swarm reposant sur l'exploration d'un espace d'amplicons (Mahé et al. 2014)	74
Figure 34 : Schéma explicatif de la chimérisation lors d'une polymérisation en chaîne	75
Figure 35 : Représentation schématique du pipeline bioinformatique appliqué aux données de séquençage	76
Figure 36 : Proportion de trans10 en fonction de celle en trans11 sous DAC pour les 161 moutons ayant subi 2 prélèvements et sélection des extrêmes.....	77
Figure 37 : Proportion de trans10 en fonction de celle en trans11 sous DAF pour les 161 moutons ayant subi 2 prélèvements et sélection des extrêmes.....	77
Figure 38 : Proportion des phyla sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) pour les trois années de l'étude. Phyla non représentés dans la légende et de proportions faibles : Planctomycetes, Verrucomicrobia, Fusobacteria, Proteobacteria, Synergistetes, Lentisphaerae, Tenericutes, Cyanobacteria, Fibrobacteres, Spirochaetes, Chloroflexi, WPS_2.....	79
Figure 39 : Proportion des différentes classes sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) pour les trois années de l'étude. Classes non représentées dans la légende et de proportions faibles : Planctomycetacia, Verrucomicrobiae, Fusobacteriia, Bacilli, Gammaproteobacteria, Synergistia, Lentisphaeria, Mollicutes, Melainabacteria, Deltaproteobacteria, Fibrobacteria, Spirochaetia, Anaerolinea, unknown_class.....	80
Figure 40 : Proportion des différentes familles au sein de l'ordre des Bacteroidales sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) pour les trois années de l'étude. Familles non représentées dans la légende et de proportions faibles : Marinilabiliaceae, p_2534_1885_gut_group, unknown_family, Bacteroidetes_BD2_2	80
Figure 41 : Proportion des différentes familles au sein de l'ordre des Clostridiales sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) pour les trois années de l'étude. Familles non représentées dans la légende et de proportions faibles : Clostridiales_vadinBB60_group, vadinBE97, Clostridiaceae_1, Gracilibacteraceae, Defluviitaleaceae	81
Figure 42 : Analyse en Composante Principale des AG ruminiaux selon le régime ...	82
Figure 43 : Cercle de corrélation des AG sous les deux régimes avec un seuil de 0,7	82
Figure 44 : Répartition des classes d'AG (en % d'AG totaux) dans le rumen sous les deux régimes	83
Figure 45 : Pourcentages d'AG d'origine microbienne (en pourcentages d'AG totaux) sous les deux régimes	84
Figure 46 : Représentation graphique des pourcentages de BH sous les deux régimes.....	84
Figure 47 : Pourcentages de BH au DAC en 2018, 2019 et 2020	85
Figure 48 : réseaux des AG les plus corrélés au pourcentage de BH sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) selon la méthode sPLS (seuil = 0,7 à gauche ; 0,3 à droite).....	86
Figure 49 : Proportions de C18:1trans10 et C18:1trans11 en fonction du régime	87

Figure 50 : PLS-DA des genres bactériens permettant de discriminer les groupes des extrêmes trans10 (groupe 1) et trans11 (groupe 2) sous DAC (gauche) et DAF (droite)	90
Figure 51 : Cercle des corrélations des genres microbiens avec un seuil de 0,7 sous DAC (gauche) et DAF (droite)	90
Figure 52 : Analyses en composante principale des AG ruminiaux en fonction de la lignée	91
Figure 53 : réseaux des familles les plus corrélées au pourcentage de BH sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) selon la méthode sPLS.....	93
Figure 54 : Matrices de corrélation entre les AG ruminiaux totaux et les différents phyla sous DAC (en haut) et DAF (en bas).....	93
Figure 55 : Courbe du GMQ en fonction de la proportion de C18:1trans10 dans le rumen sous le régime DAC	95
Figure 56 : réseaux des AG les plus corrélés aux paramètres zootechniques selon la méthode sPLS sous le régime DAC (gauche) (seuil = 0,3) et DAF (droite) (seuil = 0,5).....	95
Figure 57 : réseaux des clusters les plus corrélés aux paramètres zootechniques selon la méthode sPLS sous le régime DAC (gauche) (seuil = 0,3) et DAF (droite) (seuil = 0,5). Aucune OTU n'a pu être affiliée jusqu'au rang de l'espèce.	96

Liste des tableaux

Tableau 1 : Substrats hydrolysés par les principales espèces bactériennes du rumen (Jarrige et al. 1995; Cuvelier et al. 2005b)	56
Tableau 2 : Composition chimique des aliments pour les années 2018, 2019 et 2020 (C = Concentré ; F = Fourrages ; C1 = Concentrés de la phase 1 soit la phase d'alimentation 100% à base de concentrés ; C2 = Concentrés de la phase 2 soit la phase d'alimentation avec 1/3 de concentrés et 2/3 de fourrages)	67
Tableau 3 : Pourcentages des principaux AG dans les aliments concentrés (CON) et fourrages (FOR) en pourcentage des AG totaux, pour les années 2018, 2019 et 2020 ; Ph1 = Phase 1 soit la phase d'alimentation 100% à base de concentrés, Ph2 = Phase 2, soit la phase d'alimentation avec 1/3 de concentrés et 2/3 de fourrages	67
Tableau 4 : Pourcentage de BH sous les deux régimes	84
Tableau 5 : Détail des deux groupes extrêmes (Groupe 1 : trans10 / Groupe 2 : trans11) sous DAC	87
Tableau 6 : Détail des deux groupes extrêmes (Groupe 1 : trans10 / Groupe 2 : trans11) sous DAF	88
Tableau 7 : Nombres d'individus sensibles, résistants et mixtes face à la production de trans10	89
Tableau 8 : Proportions de trans10 et trans11 des individus résistants	89
Tableau 9 : Paramètres zootechniques des deux groupes extrêmes sous DAC et sous DAF	94

Introduction

Les habitudes de consommation n'ont cessé d'évoluer depuis le début du XXI^{ème} siècle (Larochette, Sanchez-Gonzalez 2015). La consommation de viande, autrefois perçue comme un produit noble et prisé, se confronte de plus en plus à des questionnements éthiques, à la fois pour des questions de bien-être animal et d'engagement écologique (Institut de l'élevage 2018).

Même si le pâturage est de plus en plus valorisé par les consommateurs qui voient dans cette pratique une façon de préserver les comportements naturels des animaux tout en protégeant les paysages et la biodiversité, et que le coût alimentaire est souvent bien moindre lorsque les animaux pâturent, la qualité de l'herbe et des fourrages en règle générale ne permet souvent pas une croissance musculaire suffisante et suffisamment rapide, c'est pourquoi une étape de finition aux concentrés est le plus souvent réalisée avant abattage (Martin, Prache 2022).

La viande de ruminant présente une faible proportion d'acides gras polyinsaturés du fait de la biohydrogénation qui a lieu au niveau du rumen, contrairement aux non-ruminants dont le profil en acides gras reflète davantage le régime qu'ils consomment. La viande rouge peut ainsi être perçue comme une source de matières grasses mauvaise pour la santé, en raison de sa forte proportion d'acides gras saturés (Lecerf 2014). Cependant, la viande ovine présente des propriétés nutritionnelles intéressantes et sous certaines conditions alimentaires, notamment une bonne quantité et qualité de fourrages, le profil en acides gras de la viande peut apporter de réels bienfaits en termes de santé. Les concentrés peuvent également être une source d'acides gras bénéfiques pour le consommateur (Martin, Prache 2022). De fait, nous avons comparé deux régimes, l'un à base de concentrés à volonté (régime DAC), l'autre composé d'un ratio concentrés/fourrages d'environ 30/70 (régime DAF). Les agneaux de l'étude sont des agneaux allaitants mâles de race Romane qui ont d'abord été placés sous le premier régime pendant six semaines, à partir de 90 jours d'âge, puis une partie d'entre eux a subi le second après une période de transition alimentaire, et ce pendant à nouveau six semaines. Nous nous sommes focalisés sur l'étude de l'écosystème bactérien ruminal ainsi que sur les acides gras longs retrouvés dans les échantillons ruminiaux. Nous n'avons pas étudié les acides gras tissulaires mais avons essayé de mettre en relation les acides gras longs du rumen avec les paramètres zootechniques mesurés en fin de chaque période (DAC et DAF).

L'hypothèse principale est une forte influence de la teneur en concentrés sur le profil en acides gras du rumen et l'objectif est d'étudier l'influence de certaines espèces bactériennes sur ces différents profils ainsi que sur les paramètres zootechniques étudiés. La partie bibliographique de ce travail présentera la filière ovine française ainsi que l'intérêt de l'étude des acides gras chez les ovins, aussi bien au niveau de la conformation de l'animal que des qualités nutritionnelles de la viande. Cette partie présentera également le métabolisme lipidique ruminal et ses facteurs de variation, en mettant en exergue l'impact du régime et du microbiote.

Partie 1 : Les acides gras chez le mouton allaitant

Les acides gras (AG) assurent des fonctions diverses indispensables aux organismes vivants, dont les trois principales sont une fonction énergétique, structurelle et fonctionnelle. La première fonction est liée à leur oxydation. Les AG entrent également dans la composition des membranes cellulaires permettant leur cohésion physico-chimiques. Enfin, les AG participent à la régulation de nombreuses réactions métaboliques, comme par exemple la production de prostaglandines à partir d'acide arachidonique, lui-même dérivé d'acide linoléique (AL). Ces fonctions en font des constituants essentiels des organismes vivants et leur étude chez le mouton allaitant présente un intérêt à plusieurs échelles dont deux qui nous intéressent ici : celle de l'organisme et celle des consommateurs.

I) Intérêt de l'étude des acides gras chez le mouton allaitant

A) Économie de la filière ovine allaitante en France

a. *Structure de l'élevage ovin français*

En France, l'élevage ovin présente deux objectifs, comme l'élevage bovin, à savoir une production laitière et allaitante. D'après la Base de Données Nationale d'identification (BDNI), les quatre régions du sud de la France (Auvergne-Rhône-Alpes, Nouvelle-Aquitaine, Occitanie et Provence-Alpes-Côte d'Azur) concentraient environ 80% des brebis laitières et allaitantes en 2020 (figure 1) (Institut de l'élevage 2022). Ainsi, nous pouvons constater que trois bassins laitiers prédominent (la Corse, l'Occitanie et la Nouvelle-Aquitaine) tandis que la répartition des bassins allaitants est plus homogène sur le territoire, malgré une tendance plutôt méridionale.

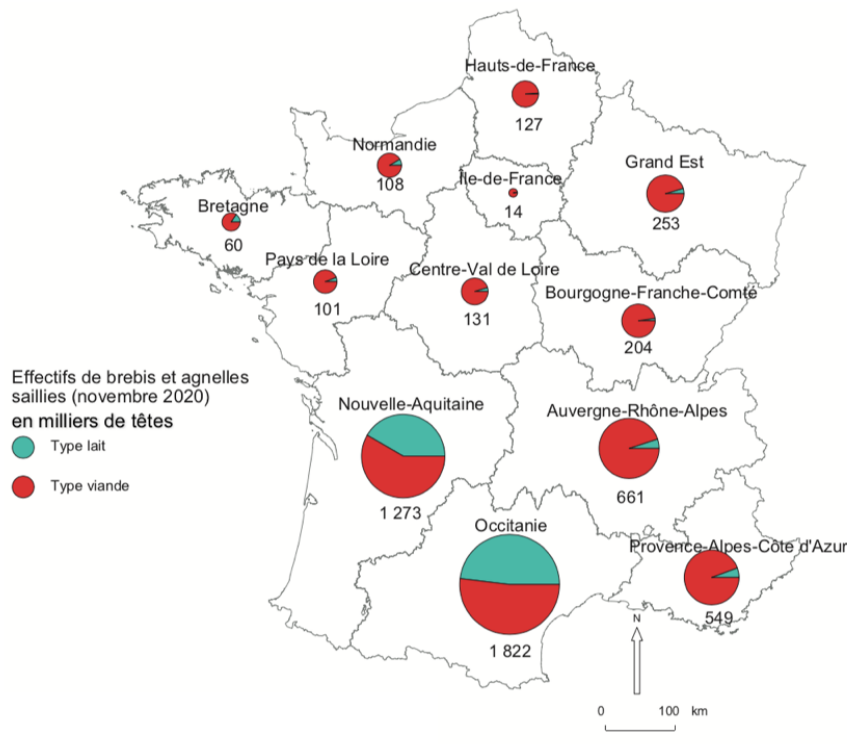


Figure 1 : Chiffres clés ovins 2020 (Institut de l'élevage et de la CNE 2020)

En 2021, la production ovine française a reculé en nombre de têtes pour la troisième année consécutive, dans un contexte de réduction des cheptels, pour atteindre 4,3 millions de têtes (figure 2) (Lapuyade 2022).

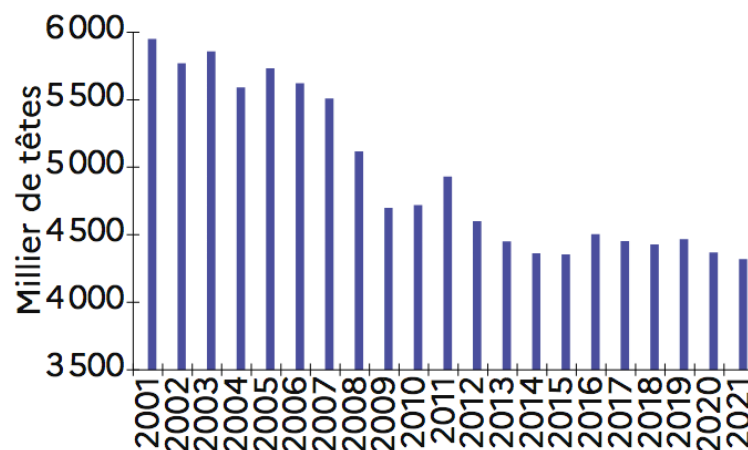


Figure 2 : Production ovine française depuis 2001 (Lapuyade 2022)

Entre 2011 et 2021, le cheptel ovin français a diminué de 8,3%, passant de 7,6 millions de têtes à près de 7 millions et cette baisse concerne majoritairement le cheptel allaitant (figure 3).

	2011	2021	2021/2011
	Millier de têtes		%
Brebis laitières	1 290	1 287	- 0,2
Agnelles saillies laitières	307	272	- 11,4
Femelles reproductrices laitières	1 596	1 558	- 2,4
Agnelles non saillies laitières	68	122	79,7
Béliers laitiers	34	40	17,6
Troupeau laitier	1 698	1 721	1,3
Brebis viande	3 796	3 193	- 15,9
Agnelles saillies viande	443	385	- 13,1
Femelles reproductrices viande	4 239	3 578	- 15,6
Agnelles non saillies viande	288	302	5,0
Béliers viande	127	123	- 3,1
Troupeau viande	4 654	4 003	- 14,0
Ovins destinés à l'engraissement	1 269	1 268	- 0,1
Total des ovins	7 621	6 992	- 8,3

Figure 3 : Cheptel ovin français en 2011 et 2021 (Lapuyade 2022)

En 2021, on recensait un peu moins de 68 000 détenteurs d'au moins un ovin, avec un très net déséquilibre entre élevages laitier et allaitant : les élevages laitiers représentent 10% des exploitations ovines, contre 90% pour les élevages allaitants. Quant aux effectifs, les exploitations laitières contiennent 25% des ovins contre 75% pour les élevages allaitants (Interbev 2021). La production ovine française est ainsi majoritairement allaitante et assez répartie sur le territoire.

b. Consommation de viande ovine en France

Malgré une diminution de la production ovine française, le nombre d'abattages d'agneaux augmente, avec 3,67 millions de têtes abattues en 2021, contre 3,61 millions en 2020, en partie grâce à l'engraissement d'un plus grand nombre d'agneaux issus du cheptel laitier et d'une augmentation des importations d'animaux vivants (Lapuyade 2022). Les principaux fournisseurs de viande ovine de la France sont le Royaume-Uni (38,8% des importations en 2021), suivi de l'Irlande (21,9%), l'Espagne (17,9%) et la Nouvelle-Zélande (12,0%). En revanche, le nombre d'abattages d'ovins adultes recule, avec 5,27 millions en 2021 contre 5,55 en 2020, mais cette diminution est moins marquée qu'entre 2019 et 2020 (Institut de l'élevage 2022).

En parallèle de cette hausse des effectifs d'agneaux abattus, le poids de carcasse moyen des agneaux français ainsi que des laitiers réformés a augmenté, permettant une progression de la production de viande ovine (Institut de l'élevage 2022).

La consommation de viande ovine en France est en déclin depuis 2011. En 2021, elle est estimée à 151 000 tonnes équivalent carcasse, avec une consommation de 2,2 kg/hab/an contre 2,9 kg/hab/an en 2011 (figure 4) (Lapuyade 2022). La consommation

mondiale de viande ovine occupe la quatrième position , après celle de viande porcine, aviaire et bovine (Chikwanha et al. 2018).

	2011	2019	2020	2021	2021/ 2020
	Tec				%
Consommation de viande (a+b-c)	189 635	163 541	155 422	151 027	-2,8
	Kg				%
Consommation moyenne par habitant	2,9	2,4	2,3	2,2	-4,3

Figure 4 : Consommation de viande ovine en France 2011 et depuis 2019 (Lapuyade 2022)

Les ménages les plus âgés (plus de 65 ans) représentent les plus gros consommateurs de viande ovine, avec 49% des volumes en 2021. Cela s'explique entre autres par le prix élevé de la viande, avec un prix moyen pondéré de 7,37€ par kilogramme de carcasse pour l'agneau en 2022, ainsi que par la difficulté de cuisiner ce produit (Institut de l'élevage 2022). Cependant, la viande ovine possède des qualités organoleptiques et nutritionnelles qui peuvent être prisées par les consommateurs. D'après une étude de Font-i-Furnols, le prix n'est d'ailleurs pas le premier critère d'achat de viande ovine par les consommateurs (Font-i-Furnols et al. 2011). Le pays d'origine est la caractéristique la plus importante pour les français qui privilégient la viande locale (importance relative de 67,8%), suivi par le système d'alimentation des agneaux (importance relative de 17,3%), privilégiant une alimentation à base d'herbe et de concentrés plutôt que de concentrés exclusivement. Les consommateurs semblent ainsi tenir de plus en plus compte des conditions d'élevage. L'alimentation des ovins, et plus particulièrement la teneur en concentrés de la ration est donc être un enjeu central pour les consommateurs français. Cette teneur influe notamment sur le profil en acides gras de la viande et donc sur ses qualités organoleptiques, critère supplémentaire de plus en plus recherché par les consommateurs.

Nous allons commencer par décrire les lipides et plus précisément les AG qui les constituent avant de détailler davantage ceux qui présentent un intérêt majeur pour la consommation.

B) Nomenclature des acides gras, classification des lipides qui les contiennent et méthodes de dosage

a. Nomenclature des acides gras

Les AG sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe appartenant à la catégorie des lipides. Cela signifie qu'ils sont formés de chaînes carbonées ouvertes portant un groupement carboxyle -COOH (fonction acide) à une extrémité et un groupement méthyle -CH₃ à l'autre (Colette, Monnier 2011).

Les AG sont définis par la longueur de leur chaîne carbonée. Ils sont dits volatils (ou parfois courts) lorsqu'ils présentent deux à cinq atomes de carbone, à chaîne moyenne lorsqu'ils en ont six à onze et longs pour les autres (Legrand 2010). Les AG sont également définis par la présence ou non de doubles liaisons. On parle d'AG insaturé (AGI) lorsque la chaîne présente au minimum une double liaison, et d'AG saturé (AGS) lorsqu'elle n'en présente pas. La formule générale d'un AG saturé (AGS) est $CH_3 - (CH_2)_{n-2} - COOH$, où n est un nombre pair. On la note simplement Cn:0. Parmi les AGS, l'acide laurique (C12:0), palmitique (C16:0) et stéarique (C18:0) sont les plus largement représentés. Ceux à chaînes courtes et moyennes apparaissent surtout dans les matières grasses laitières et très peu dans les tissus. L'acide palmitique reste l'AGS le plus important au sein du tissu adipeux. Il est rencontré dans presque toutes les graisses végétales et animales (minimum 5 %) (Cuvelier et al. 2004). Quant aux AGI, ceux en C18 pourvus de 1, 2 ou 3 doubles liaisons sont les plus importants au sein du monde végétal et animal terrestre (Cuvelier et al. 2004).

Pour nommer un AGI, on précise le nombre et la position de la première double liaison, en fonction :

- De sa distance par rapport au groupement carboxyle pour la première notation. On note ainsi Δx le nombre de carbones séparant la terminaison acide de l'insaturation. L'atome de carbone de la fonction carboxyle porte le numéro 1.
- De sa distance par rapport au groupement méthyle pour la seconde. On note alors n-x ou ωx le nombre de carbones séparant la terminaison méthyle de l'insaturation. Ici, l'atome de carbone de la fonction méthyle porte le numéro 1 ou $\omega 1$.

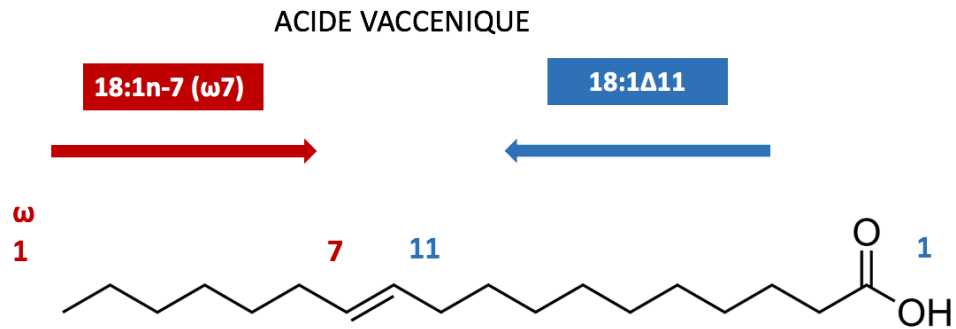


Figure 5 : Formule topologique de l'acide vaccénique et numérotation des atomes de carbone

Il est possible de classer les AGI en série oméga selon la position de la première insaturation en partant du groupement méthyle terminal. Ainsi, les oméga 3 (n-3) et les oméga 6 (n-6) sont des AGI dont la première double liaison est située respectivement entre le troisième et le quatrième carbone et entre le sixième et le septième carbone en partant de la terminaison $-CH_3$. Par ailleurs, les AG font l'objet d'une dénomination usuelle. La figure 5 présente l'acide C18:1n-7 ou C18 :1Δ11, aussi appelé acide vaccénique. Il possède dix-huit atomes de carbone et une double liaison se situant entre les carbones 11 et 12 en partant du radical carboxyle ou 7 et 8 en partant du radical méthyle.

Les doubles liaisons sont souvent séparées des suivantes par deux liaisons simples, dans ces cas-là il suffit d'ajouter trois carbones pour avoir les positions des autres doubles liaisons (Spielmann, Mendy 1993). Ce n'est pas le cas des acides gras conjugués qui présentent des doubles liaisons séparées par deux atomes de carbones et dont la formation est plus rare.

Pour une même formule chimique, soit $CH_3 - (CH_2)_x - CH = CH - (CH_2)_y - COOH$ pour un AG monoinsaturé (AGMI), il existe un grand nombre d'isomères, en fonction de la position de la double liaison et de la configuration stérique de l'insaturation. En effet, deux configurations sont possibles : *cis* et *trans* (figure 6). Dans la configuration *cis*, la molécule est asymétrique car les hydrogènes participant à la double liaison sont du même côté, tandis que dans la configuration *trans*, la molécule est symétrique car les hydrogènes sont répartis des deux côtés de la double liaison. L'acide vaccénique (figure 5) présente ainsi deux configurations stériques : C18:1*cis*Δ11 et C18:1*trans*Δ11, ou plus simplement, comme nous le ferons souvent dans la suite de

la thèse, C18:1-*cis*11 et C18:1-*trans*11. À l'état naturel, la majorité des AG ont la configuration *cis*. C'est notamment le cas des AG alimentaires.

Les doubles liaisons rendent la molécule plus rigide. La configuration *cis* génère un angle de $\pm 30^\circ$ dans la chaîne aliphatique, la configuration *trans* donne une conformation proche de la forme des AGS. De fait, les AGI *cis* sont caractérisés par un point de fusion plus faible que leurs homologues *trans* eux-mêmes possédant un point de fusion plus bas que les AGS de même longueur de chaîne (Ledoux 2012).

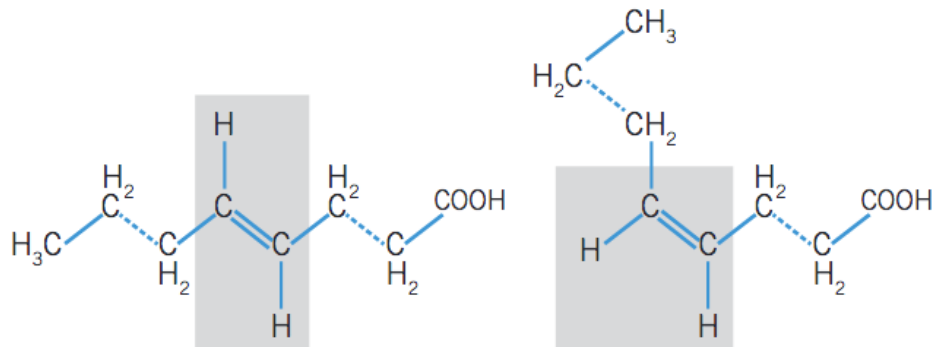


Figure 6 : Isoméries géométriques *trans* (gauche) et *cis* (droite)

En théorie, une double liaison peut se situer n'importe où sur la chaîne carbonée d'un AG. En pratique, certaines positions sont naturellement privilégiées, de par l'action des enzymes qui agissent sur ces liaisons. Par exemple, l'acide linoléique (AL) présente de nombreux isomères dont les acides linoléiques conjugués, communément désignés par leur abréviation CLA (*conjugated linoleic acid*). Ils représentent l'ensemble des isomères constitutionnels et géométriques de l'AL qui se caractérisent par un arrangement en diène conjugué, soit une structure dans laquelle les deux doubles liaisons ne sont séparées l'une de l'autre que par une liaison simple sans groupement méthylène. Les CLA les plus fréquents sont l'acide C18:2-*cis*9,*trans*11, plus communément appelé acide ruménique, et l'acide C18:2-*trans*10,*cis*12 (figure 7) (Ledoux 2012). Les doubles liaisons peuvent se trouver entre C8-C9 et C10-C11, C9-C10 et C11-C12, C10-C11 et C12-C13 ou C11-C12 et C13-C15, en partant de la fonction carboxyle, chaque double liaison pouvant avoir la configuration *cis* ou *trans* (Cuvelier et al. 2004).

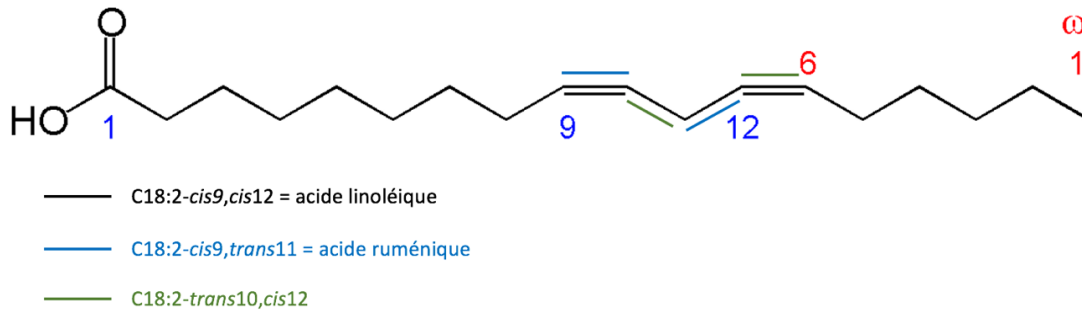


Figure 7 : Formule topologique de l'AL et de deux de ses isomères conjugués

On parle d'isomérisie de constitution ou de position lorsque les isomères diffèrent par la position de la double liaison, tandis qu'on parle d'isomérisie géométrique ou spatiale lorsque les isomères ont la même structure chimique mais une configuration spatiale *cis/trans* différente (Cuvelier et al. 2004). Dans le langage courant, certains isomères de constitution d'AGPI sont distingués par des lettres grecques, comme les acides α - et γ -linoléniques. Ils diffèrent par la localisation de leur double liaison. L'acide α -linolénique (AAL) présente des doubles liaisons en position 9, 12 et 15 tandis que pour l'acide γ -linolénique, il s'agit des positions 6, 9 et 12. La présence d'une double liaison abaisse le point de fusion d'un AG, augmente sa sensibilité à l'oxydation, et entraîne l'existence de plusieurs isomères géométriques et positionnels pour une même longueur de chaîne carbonée (Ledoux 2012).

La figure 8 présente des structures d'AGS, AGMI et AGPI accompagnées de leur formule ω .

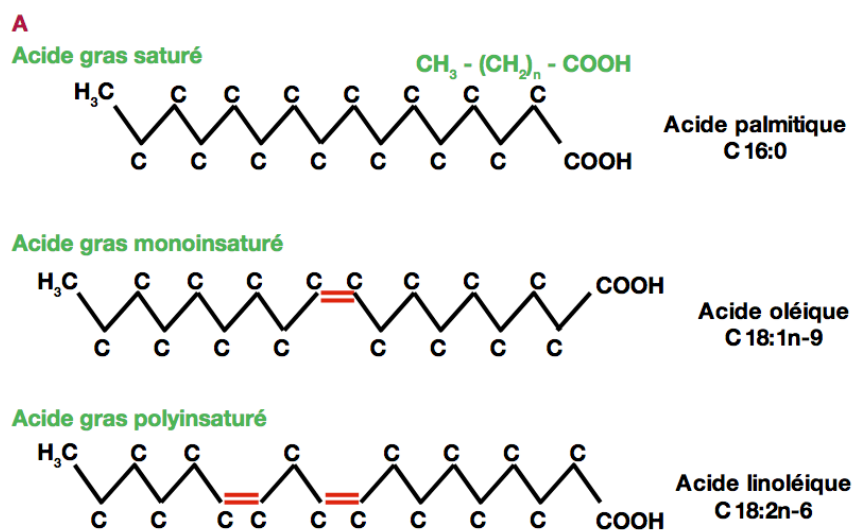
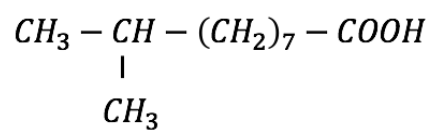


Figure 8 : Exemple de structures d'AGS (acide palmitique), AGMI (acide oléique) et AGPI (AL) (Colette, Monnier 2011)

La plupart des AG retrouvés à l'état naturel sont à nombre pair de carbones et à chaîne linéaire mais il en existe quelques-uns à nombre impair et à chaîne ramifiée. Les AG ramifiés se trouvent dans les graisses de ruminants et d'animaux marins principalement (Ledoux 2012). Les plus fréquemment rencontrés portent un groupement méthyle sur le pénultième ou l'antépénultième atome de carbone en partant du groupement méthyle terminal. Ils sont respectivement désignés par les préfixes « iso » et « antéiso » devant le nom usuel de l'AG qui compte le même nombre total d'atomes de carbone (Cuvelier et al. 2004). Par exemple, l'acide isostéarique (iC18:0) présente la structure suivante :



NB : Les noms usuels des AG ne s'appliquent qu'aux composés présents à l'état naturel lorsque des isomères de la molécule existent (Cuvelier et al. 2004), (Annexe 1).

b. Classification des principaux lipides constitués d'AG

Les AG sont faiblement abondants sous forme libre au sein des matières grasses. Ils sont la plupart du temps regroupés au sein de molécules formant différentes catégories de lipides. Il existe plusieurs définitions du terme « lipide ». Le Dictionnaire de l'Académie Française définit les lipides comme « toute substance dans la constitution de laquelle entre un AG » (Ledoux 2012). Les principaux lipides retrouvés au sein de l'alimentation ovine sont les triglycérides, qualifiés de lipides « neutres » et les lipides structuraux ou polaires, majoritairement des phospholipides et des galactolipides (Sterk 2011).

b.1. Les triglycérides

Les lipides neutres sont essentiellement constitués de triglycérides, formés par l'estérification des trois fonctions alcool d'une molécule de glycérol avec trois molécules d'AG, pouvant être identiques ou différents, saturés ou insaturés (figure 9). Les triglycérides constituent la majorité des graisses de réserve des êtres vivants, stockés au sein du cytoplasme des adipocytes, constituant le tissu adipeux. En effet, plus de 90% des lipides du tissu adipeux sont des triglycérides (Wood et al. 2008).

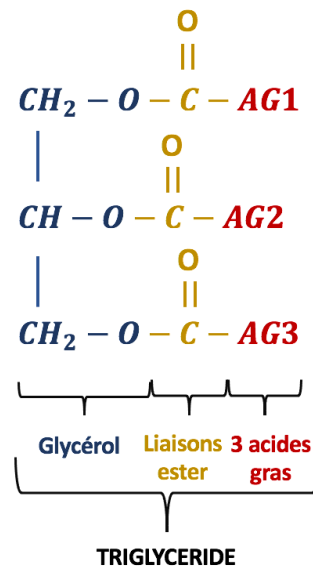


Figure 9 : Structure générale d'un triglycéride

b.2. Les phospholipides

Les phospholipides sont des lipides amphiphiles, comprenant les glycérophospholipides et une partie des sphingolipides (Colette, Monnier 2011).

Les glycérophospholipides possèdent une molécule de glycérol reliée, pour les deux premiers atomes de carbones, par liaison ester, à deux chaînes aliphatiques d'AG, et pour le dernier carbone à un groupement phosphoryle relié lui-même par liaison ester à un alcool (figure 10). Ce dernier peut être du glycérol, de l'inositol, de l'éthanolamine ou ses dérivés choline et sérine. Le carbone 1 du glycérol porte un AGS, souvent de l'acide stéarique, qui présente ainsi un rôle structural, tandis que le carbone 2 porte un AGI (Cuvelier et al. 2004).

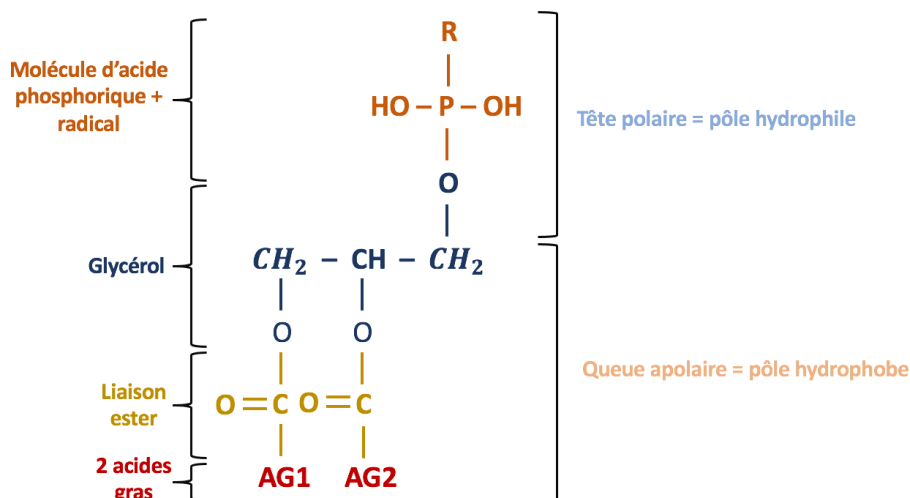


Figure 10 : Structure générale d'un glycérophospholipide

Les sphingolipides sont quant à eux formés par l'addition d'un radical sur l'hydroxyle du carbone 1 de la sphingosine, un alcool aminé, et par acylation de l'amine en position 2 (figure 11). L'AG est uni à la sphingosine par une liaison amide (Ledoux 2012). Le radical en position 1 est souvent un groupement glucidique ou la choline (Cuvelier et al. 2004).

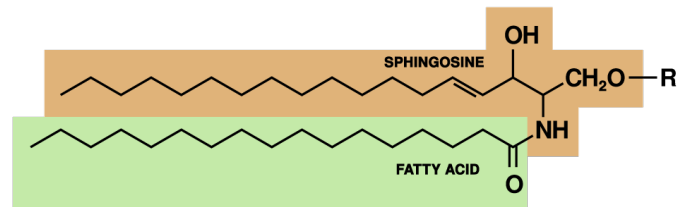


Figure 11 : Structure générale d'un sphingolipide

Quantitativement, les sphingolipides apparaissent à des taux souvent minimes, mais ils sont présents dans pratiquement tous les tissus. Les AG qui les constituent ont une longue chaîne carbonée, supérieure à quatorze carbones (Ledoux 2012).

Les phospholipides forment les lipides dits de « constitution » car ils structurent les membranes biologiques. Leur caractère amphiphile leur permet de former des doubles couches, avec la tête hydrophile au contact de l'eau extracellulaire ou intracellulaire et les pôles hydrophobes se faisant face au sein de la même membrane cellulaire. Plus les phospholipides membranaires sont constitués d'AGI, et plus les membranes sont fluides car les doubles liaisons créent des courbures éloignant les molécules entre elles (figure 12). Dans leur configuration *trans*, les AGI retrouvent une structure linéaire similaire à celle des AGS, ce qui entraîne l'augmentation de la rigidité membranaire (Colette, Monnier 2011).

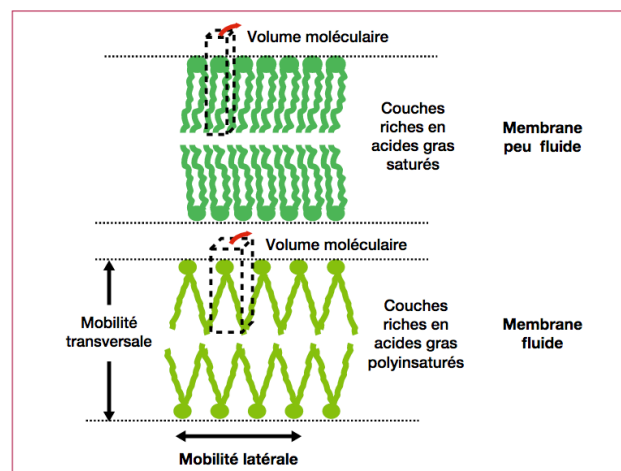


Figure 12 : Structure en double couche d'une membrane cellulaire (Colette, Monnier 2011)

les gains zootechniques en raison d'une diminution importante de la dégradabilité dans le rumen et/ou d'une réduction de l'appétibilité de la ration (Clinquart et al. 1995). Le second est lié au profil en AG de la viande, dont on voudrait des ratios AGS/AGI et $\omega 6/\omega 3$ assez faibles, cela ayant un intérêt en santé humaine (Enjalbert et al. 2017). Les qualités organoleptiques de la viande ovine et plus particulièrement de la graisse consommée ont également un intérêt du point de vue des consommateurs.

a. Qualité des produits en lien avec la composition en AG du tissu adipeux et musculaire : intérêt à l'échelle des consommateurs

a.1. : Qualités organoleptiques de la viande ovine

Les qualités organoleptiques recherchées par les consommateurs de viande ovine sont notamment sa couleur, sa tendreté, sa jutosité et sa flaveur, soit sa perception olfacto-gustative. Ces qualités dépendent de facteurs intrinsèques à l'animal (race, âge, sexe...) mais également de facteurs extrinsèques et notamment environnementaux, parmi lesquels l'alimentation.

L'accumulation de graisse au niveau intramusculaire modifie la composition chimique de la viande, et influence plusieurs paramètres déterminant sa qualité (Cuvelier et al. 2005a). Au sein d'une carcasse, il existe différentes catégories de gras : le gras de couverture qui correspond au gras en position sous-cutanée et qui entoure les parties externes, le gras cavitaire ou interne, le gras intermusculaire qui entoure le muscle et le gras intramusculaire qui regroupe le « persillé » et le « marbré ». Le tissu conjonctif musculaire est formé de l'endomysium, qui entoure chaque fibre musculaire, du pérимыsium, constitué de travées conjonctives qui entourent et séparent des faisceaux de fibres musculaires, et de l'épимыsium qui recouvre l'ensemble du muscle (figure 14). Le marbré représente l'infiltration graisseuse du pérимыsium tandis que le persillé représente celle de l'endomysium (Listrat et al. 2015).

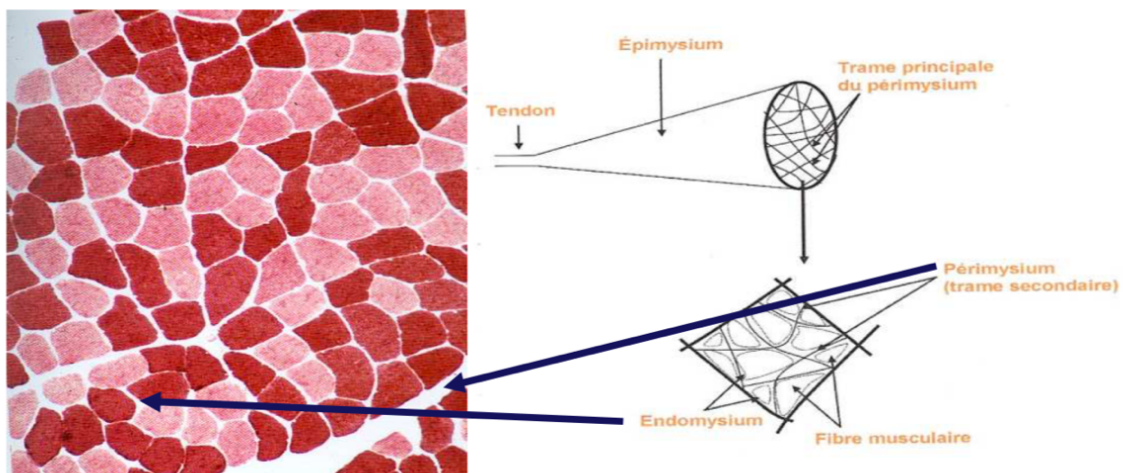


Figure 14 : Tissu conjonctif musculaire (Brugère 2019)

Ainsi, les AG sont retrouvés majoritairement au sein des adipocytes du tissu adipeux, site principal de stockage de la graisse, et des cellules musculaires squelettiques, site principal de l'oxydation des AG. Le tissu adipeux sous-cutané contient plus d'AG que le muscle mais la composition des deux tissus est à peu près similaire (Wood et al. 2008). Au sein du muscle, les acides gras se distribuent à trois niveaux : dans les gouttelettes lipidiques des cellules musculaires, dans les membranes cellulaires sous forme de phospholipides et dans les adipocytes intramusculaires sous forme majoritairement de triglycérides et dont la contribution à la teneur lipidique totale du muscle est la plus importante (Cuvelier et al. 2005a).

Le gras intramusculaire jouerait un rôle très important dans la saveur et la jutosité de la viande. La localisation du gras au niveau du pérmysium faciliterait la mastication en « écartant » les fibres (Wood 1990). Sa composition en acides gras influe également sur la tendreté de la viande. Plus le tissu graisseux est riche en eau, et donc pauvre en AG, plus il sera de consistance molle. Cela s'accroît si les AG sont impairs et ramifiés ou insaturés, donc à faible point de fusion (Sagot, Pottier 2012). La composition en AG affecte également l'oxydation de la viande, les AGPI étant les plus sensibles à l'oxydation. La vitamine E, issue de l'alimentation fourragère, protégerait de ce phénomène (Kouba et al. 2003). La revue bibliographique de Priolo et al. de 2001 montre l'influence de l'alimentation sur la couleur et la flaveur de la viande ovine. Il en ressort que la viande provenant d'animaux qui pâturent est plus sombre quel que soit la méthode de mesure, du fait notamment d'un pH plus important au moment de l'abattage et d'une quantité de gras intramusculaire inférieure (Priolo et al. 2001). La

tendreté et la jutosité sont ainsi également impactées (Priolo et al. 2002). Concernant les saveurs, sur seize expériences, seules deux montrent une préférence des consommateurs pour la viande issue d'agneaux nourris à l'herbe. Les agneaux nourris avec des concentrés auraient de fait une viande plus caractéristique de la viande d'agneau telle qu'attendue par le consommateur. En effet, les AG à l'origine du goût caractéristique de la viande ovine sont les AG ramifiés 4-méthyl-octanoïque et 4-méthyl-nonanoïque, dérivés d'acide propionique, à partir d'acide du méthylmalonate (Shahidi 1994), dont la production est favorisée par un régime riche en concentrés. Lorsque les agneaux pâturent, la concentration de ces AG ramifiés au sein de la viande est inférieure mais celle en 3-méthyle indole, qui joue aussi un rôle dans la perception du goût, augmente. Enfin, dans une moindre mesure, les animaux qui pâturent présentent une proportion plus élevée d'AAL et donc des produits de son oxydation, notamment le 4-heptenal, dont l'odeur est désagréable (Priolo et al. 2001). Nous verrons cependant que l'AAL présente des propriétés bénéfiques pour la santé et favorise l'apparition d'AG à longue chaîne tout aussi bénéfiques.

a.2. : Qualités nutritionnelles de la viande ovine

Au-delà de l'influence du profil en AG sur les qualités organoleptiques de la viande ovine, une influence toute aussi importante, si ce n'est davantage, sur la santé des consommateurs apporte des attentes sociétales nouvelles.

a.2.1. : Implications délétères des AG dans les maladies cardiovasculaires et les cancers

Globalement, les acides gras polyinsaturés (AGPI) seraient plus sains que les AGS alors qu'ils sont présents en moins grande quantité dans la viande (Maia et al. 2010). En 2013, l'Organisation Mondiale de la Santé recommandait aux populations de ne pas dépasser un apport énergétique de 10% provenant des AGS, 1% provenant des AGI *trans*, et d'avoir un apport en graisses totales entre 10 et 35% (Organisation mondiale de la Santé (OMS) 2013). Ces recommandations sont dues au risque de maladies cardiovasculaires et d'augmentation de la cholestérolémie (Lourenço et al. 2010). Pour rappel, dans leur configuration *trans*, les AGI retrouvent une structure linéaire similaire à celle des AGS, d'où le risque proche de maladies cardiovasculaires lié à l'augmentation de la rigidité membranaire (Colette, Monnier 2011). Cependant, les effets néfastes des AGS et AGI *trans* sont à considérer de manière individuelle car certains AGS, comme le C18:0, ont un effet bénéfique voire neutre sur le risque

thrombogénique et athérogénique, alors que les C12:0, C14:0 et C16:0 sont fortement hypercholestérolémiantes (Yu et al. 1995). De même pour les AGI *trans*, certains, que nous développerons ci-après, ont un effet bénéfique tandis que d'autres, comme les *trans*10, sont responsables de modifications du métabolisme lipidique à l'origine de diabètes lipoatrogènes (Roche et al. 2002). En 2015, une méta-analyse confirme que la consommation d'AGI *trans*, et principalement l'acide élaïdique (*trans*9) conduit à une hausse de la mortalité coronarienne (De Souza et al. 2015). En plus des risques cardiovasculaires, des liens ont été établis entre certains AGPI et la survenue de cancers. Des régimes riches en AGPI n-6, et notamment en AL, favoriseraient en effet le développement de cancers comme celui du sein ou du côlon, et la formation de métastases (Rose et al. 1995; Bougnoux et al. 2006). Le mécanisme à l'origine de ces observations ferait intervenir les prostaglandines E2 (PGE2). Un régime riche en AL serait responsable d'une forte teneur plasmatique en acide arachidonique qui sert de substrat pour la formation de prostaglandines pro-inflammatoires, notamment PGE2, potentiellement cancérigènes (Blouin et al. 2006).

a.2.2. : Effets bénéfiques des AG en santé humaine

« Gras » ne veut pas pour autant dire néfaste pour la santé. Certains AG sont en effet qualifiés d'essentiels. Ils comprennent les AG indispensables à l'organisme et au bon fonctionnement des cellules et qui ne peuvent être fabriqués qu'à partir d'un précurseur apporté par l'alimentation (ANSES 2021). Les deux familles principales sont les AGPI n-6, dont le précurseur et le représentant majeur est l'AL, et les AGPI n-3 dont le précurseur est l'AAL. En plus d'être essentiels, ils présentent des effets bénéfiques en santé humaine. À faibles doses, l'AL entraînerait une diminution du taux de cholestérol-LDL ou « mauvais » cholestérol sans effet significatif sur le « bon » cholestérol, ou cholestérol-HDL. Le cholestérol-LDL est décrit comme mauvais car il favorise la formation de plaques d'athérome. L'AL préviendrait également l'apparition de maladies cardiovasculaires, à condition de représenter 3 à 5% de l'apport énergétique total (ANSES 2011). L'AAL et les AG à longues chaînes obtenus par son élongation et sa désaturation, notamment l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA), auraient également une action bénéfique notamment par diminution des complications fatales des infarctus du myocarde (Mozaffarian, Rimm 2006). De plus, si une corrélation positive a été établie entre un régime riche en AGPI n-6 et la survenue de cancers, une corrélation négative a été décrite avec les AGPI n-

3, l'AAL et ses dérivés à longue chaîne. Ces derniers diminueraient la fréquence de certains types de cancers ainsi que le risque de métastases (Rose et al. 1995; Bougnoux et al. 2006), par inhibition de la croissance tumorale (Poncheville et al. 2003). L'étude rétrospective de Bougnoux et al. (2006) réalisée à partir d'analyses d'échantillons de tissu adipeux blancs provenant de patientes atteintes de cancer du sein ou de tumeurs bénignes en témoin (figure 15). Cela s'expliquerait par le fait que les dérivés des AGPI n-3, contrairement aux n-6, inhiberaient la synthèse d'acide arachidonique et donc celle de PGE2 (Bougnoux et al. 2006). Les résultats de cette même étude montrent aussi que les AGMI *cis* étaient tous protecteurs contrairement aux *trans* (Bougnoux et al. 2006).

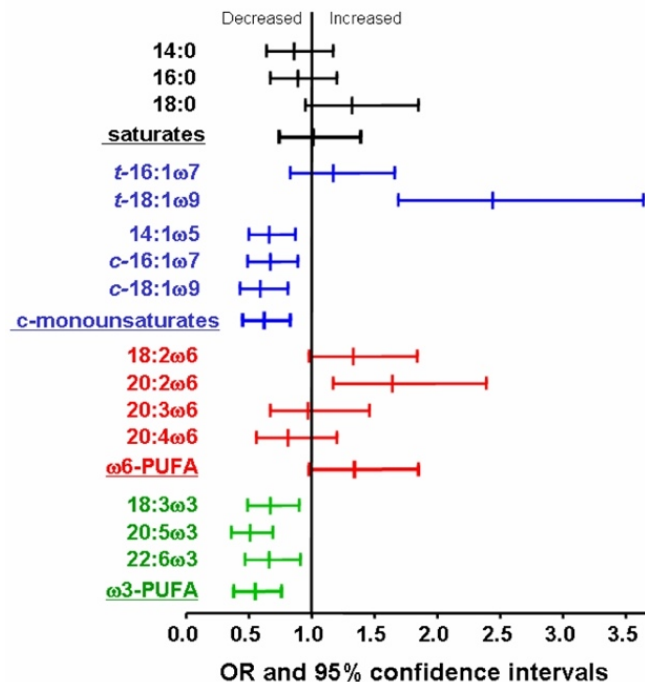


Figure 15 : Odds ratios de cancers du sein pour les AG de tissus adipeux blancs prélevés sur 329 femmes, représentés par classes de lipides (Bougnoux et al. 2006)

Le DHA est le plus cytotoxique des AGPI pour les cellules tumorales, à des concentrations qui n'altèrent ni la prolifération, ni la viabilité des cellules normales (Poncheville et al. 2003). De nombreuses études ont également montré l'importance des omégas 3 dans le développement de l'enfant, le DHA se retrouvant en grande quantité dans les membranes cérébrales et rétiennes et impliqué dans la vision et les fonctions cognitives (Dyall 2015). D'autres AG présents dans la viande ovine, les CLA, ont montré des effets intéressants en santé humaine. De nombreuses études évoquent leur contribution à la prévention de cancers, la diminution du risque

thrombotique et l'amélioration de la réponse immunitaire. Le principal CLA impliqué est l'acide ruménique dont le précurseur, l'acide vaccénique, présente des propriétés semblables (Wood et al. 2008; Lourenço et al. 2010).

Ainsi, les recommandations nutritionnelles sont de consommer 3 à 5 % d'AGPI n-6, car ils limitent les maladies cardiovasculaires, en privilégiant un rapport 18:2n-6/18:3n-3 inférieur à 5, et de favoriser les régimes enrichis en CLA (ANSES 2011). La viande ovine est d'ailleurs plus riche en CLA que la viande bovine, alors qu'elle présente un rapport $\omega 6/\omega 3 > 5$ (ANSES 2011). Il a également été montré que le gras intramusculaire d'agneaux nourris à l'herbe était plus riche en AAL que celui d'agneaux engraisés avec des concentrés, avec un ratio AGPI n-6/AGPI n-3 plus bas et plus proche des recommandations attendues et une teneur plus importante en acide ruménique (Aurousseau et al. 2004; Araba et al. 2009; Chikwanha et al. 2018).

b. Lien entre le profil en AG et les performances zootechniques : intérêt à l'échelle de l'animal

D'après l'étude de Wood et al. en 2008, chez les ruminants, les AGPI se concentrent davantage dans le gras intramusculaire que dans le tissu adipeux sous-cutané, avec notamment l'AL et AAL présents au sein des phospholipides (Wood et al. 2008). Une caractéristique globale de la viande de ruminants est l'incorporation préférentielle d'AGPI n-3 à longue chaîne au sein des phospholipides, plutôt que dans les triglycérides (Bessa et al. 2015). La proportion d'AL diminue au sein du muscle lorsque les dépôts graisseux augmentent (Aurousseau et al. 2004; Wood et al. 2008). Dans l'étude d'Aurousseau et al. (2004), les agneaux qui pâturent ont moins d'AG intramusculaires au sein des triglycérides du muscle *longissimus thoracis* et plus d'AG au sein des phospholipides que les agneaux en stabulation nourris avec du concentré et des fourrages. Les triglycérides des agneaux au pâturage comprennent également moins d'acide palmitique, AGMI, AL et autres AGI n-6, pour plus d'AAL, acide ruménique et AGMI *trans*. La raison principale est que la quantité de lipides musculaires et notamment des phospholipides qui concentrent l'AL diminue au profit des AGS et AGMI (Wood et al. 2008).

Dans l'étude d'Araba et al. (2009), des agneaux de six mois d'âge ont été soumis à trois régimes différents pendant trois mois, un régime de parcours intégral (PP), un régime à base de concentrés et de foin (CC) et un régime à base de concentrés, foin

d'avoine et pâturage (PC). Le suivi des performances zootechniques a montré que le GMQ diminue lorsque la proportion de pâturage augmente. L'abattage des agneaux à l'issue des trois mois montre également un meilleur rendement des carcasses pour le régime CC soit sans pâturage, avec de meilleurs développements et conformation musculaires. La quantité de gras intracavitaire, autour des reins et de l'omentum, est également moindre lorsque les agneaux ont seulement pâture (Araba et al. 2009).

Ainsi, il ressort que les performances de croissance et le rendement des carcasses ont largement été améliorés par une augmentation de la part de concentrés et de foin dans les régimes, mais que la baisse des performances est compensée par une meilleure qualité de la viande au pâturage, avec une augmentation de la proportion d'AGPI et notamment n-3, et une baisse du ratio $\omega6/\omega3$, accompagné probablement d'une baisse des coûts de production.

Concernant les CLA, et notamment le CLA *trans*₁₀, *cis*₁₂, les données concernant la dépression en matière grasse du lait ou « milk fat depression » sont bien fournies, mais celles concernant l'effet sur les ovins allaitants et le dépôt de gras sur la carcasse le sont moins. L'étude de Park et al. en 1999 a démontré que ce CLA induisait des modifications corporelles, et notamment une réduction de l'accumulation de graisse sous cutanée et une augmentation de la masse maigre et musculaire chez des souris, des rats et des cochons. Les CLA auraient également un effet sur les adipocytes et les cellules musculaires squelettiques induisant une inhibition du stockage de matières grasses dans les adipocytes couplée à une augmentation de la bêtahydrogénation dans les cellules musculaires et une augmentation de la masse musculaire. L'isomère *cis*₉,*trans*₁₁ n'a montré en revanche aucune influence sur la composition corporelle des souris dans cette étude (Park et al. 1999). L'étude de Zhang et al. en 2016 sur des bovins soumis à un régime enrichi en CLA a également montré une augmentation du dépôt de gras intramusculaire par activation de l'expression des gènes lipogéniques et une diminution du gras sous cutané par activation de l'expression des gènes lipolytiques (Zhang et al. 2016).

Ainsi, même si la viande ovine n'est pas la plus consommée en France, elle présente des qualités nutritionnelles importantes qui dépendent entre autres du profil en AG de la graisse intra et intermusculaire. Nous allons maintenant étudier les différentes sources d'AG dans les rations et les premières dégradations qui ont lieu après l'arrivée de ces AG dans le rumen.

II) Sources, premières transformations dans le rumen et digestion des AG

A) Sources de lipides dans l'alimentation ovine

a. Importance des lipides dans la ration alimentaire

Dans la plupart des rations des ruminants, les lipides représentent moins de 5% de la matière sèche totale (Enjalbert et al. 2017). Les aliments concentrés tels que les céréales et les tourteaux non-gras contiennent moins de 4% de lipides. Il en est de même des fourrages, avec de l'herbe qui peut contenir 3% d'AG au printemps et à l'automne, mais moins de 1% en hiver dans les pays tempérés (Bauchart, Rémond 1984).

Ces faibles proportions ne doivent pas conduire à sous-estimer l'importance des lipides dans les rations sur le plan nutritionnel, comme nous l'avons vu précédemment.

b. Dosage des lipides et caractérisation des AG

La fraction lipidique des fourrages et des aliments concentrés est souvent moins bien connue que leurs fractions glucidique, protéique et minérale. La teneur lipidique des aliments se mesure par dosage de l'extrait étheré, qui est une méthode quantitative basée sur la solubilité des lipides dans les solvants organiques. Il existe deux procédés, reconnus méthodes officielles par l'Union Européenne depuis 1986 (Morand-Fehr, Tran 2001). La première méthode est fondée sur l'extraction par l'éther et la seconde sur une hydrolyse à chaud avant l'extraction par l'éther.

Le groupe des lipides est caractérisé par son insolubilité dans l'eau et sa solubilité dans les solvants organiques tels que l'éther. La méthode d'extraction consiste à placer l'échantillon sur une surface poreuse au sein d'un extracteur et l'éther, à savoir le solvant d'extraction, au sein d'un ballon qui est mis à ébullition pendant 6 à 7 heures. L'extracteur utilisé est souvent un extracteur de Soxhlet. Les vapeurs de solvant passent dans l'extracteur puis dans le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur (figure 16). L'échantillon est ainsi constamment au contact du solvant et chauffé par les vapeurs du dessous. Le solvant condensé s'accumule ainsi dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon, provoquant le retour du liquide dans le ballon, enrichi en substances hydrophiles extraites. La température d'ébullition des lipides extraits étant supérieure à celle de l'éther, celui-ci continu à être évaporé tandis que les substances d'intérêt

restent dans le ballon. Le résidu final est pesé par une méthode gravimétrique et constitue l'extrait lipidique total (Clément 1956).

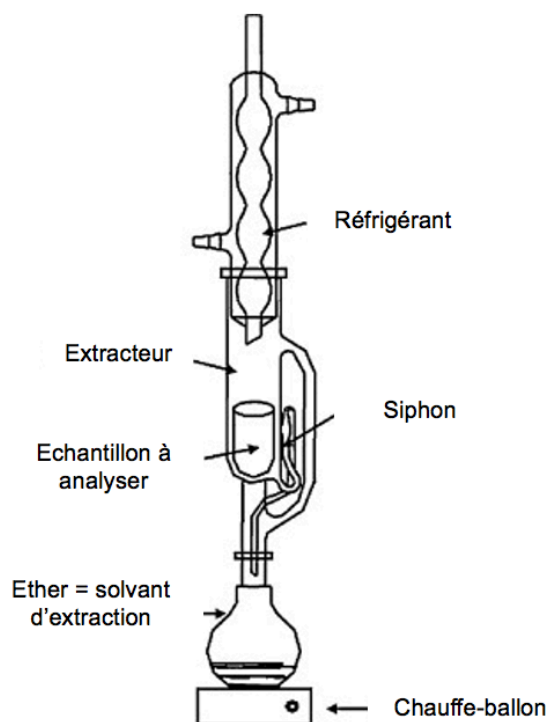


Figure 16 : Méthode d'extraction des lipides par l'éther dans un extracteur de Soxhlet (Luque de Castro, Priego-Capote 2010)

L'extraction via un solvant organique permet d'obtenir un pourcentage de matières grasses, mais « l'extrait lipidique total » contient d'autres substances liposolubles comme les stérols, les hydrocarbures, et certaines vitamines. Ainsi, les AG végétaux sont souvent surestimés avec cette méthode. L'éther extrait les triglycérides et les AG libres à chaînes longues mais pas les phospholipides ou les corps gras altérés. Cette méthode s'applique alors aux aliments simples d'origine végétale et aux aliments composés qui contiennent essentiellement des triglycérides et des AG libres (Morand-Fehr, Tran 2001). De fait, des étapes préalables peuvent être nécessaires, notamment pour lyser les protéines liées aux lipides. La méthode de référence est une hydrolyse acide à chaud, dans un milieu enrichi en acide chlorhydrique (Clément 1956). Cette étape préalable permet de rompre les liaisons protéiques avant extraction par le solvant. Les deux méthodes présentées sont reproductibles et fiables mais les laboratoires d'analyse ne précisent pas toujours quel procédé ils ont utilisé, ce qui peut être à l'origine de divergences selon les études.

En outre, il est possible d'utiliser d'autres méthodes quantitatives pour déterminer la composition en AG. La méthode principale est la chromatographie en phase gazeuse mais il existe également une méthode de spectrométrie dans le proche infrarouge (SPIR). Le principe de la SPIR est basé sur l'absorption des rayonnements infrarouges par la matière organique. Comme cette absorption est liée à la composition chimique des échantillons, on peut estimer cette dernière par la mesure de l'absorption de lumière par l'échantillon (Bastianelli et al. 2015). La chromatographie en phase gazeuse est quant à elle une méthode de séparation fondée sur la migration différentielle des constituants d'un mélange. Les molécules à séparer sont volatilisées et mélangées à un gaz vecteur (Bouchonnet 2009). Les analyses par chromatographie sont souvent d'une grande reproductibilité et précision, avec une bonne séparation des pics représentant des AG mineurs ou isomères même si cela reste dépendant de la dilution de l'échantillon, du flux de gaz utilisé et de la longueur de la colonne (Morand-Fehr, Tran 2001).

c. Distribution des AG au sein de la ration des ruminants

La ration des ruminants comporte principalement des fourrages, dont les parties vertes sont riches en galactolipides et phospholipides, et des concentrés, avec des céréales et plus rarement des graines oléagineuses riches en triglycérides (Buccioni et al. 2012; Doreau et al. 2012). Les AG sont répartis différemment au sein des catégories de lipides, l'AL et AAL étant les deux AG majoritaires dans les fourrages et la plupart des concentrés (Enjalbert et al. 2017).

c.1 : Herbe fraîche et fourrages conservés

Les fourrages ont une teneur en extrait éthéré de 2 à 7 %. À mesure que la plante passe du stade jeune pousse au stade de maturité, les proportions des acides palmitique, stéarique et oléique augmentent alors que celle de l'AAL diminue. La teneur en AG des fourrages est plus faible que leur teneur en extrait éthéré, car ils contiennent de nombreux pigments. Parmi leurs lipides, les fourrages verts comportent environ 10% de phospholipides, 30% de glycolipides et autour de 20% de lipides simples, principalement des AG (Morand-Fehr, Tran 2001). Le principal AG de l'herbe fraîche est l'AAL, qui représente plus de 50% des AG totaux. L'acide palmitique et l'AL représentent en moyenne respectivement 20 et 15% des AG (Doreau et al. 2012). Les

fourrages verts sont ainsi riches en AGPI, les teneurs en AGS représentant moins de 20% des AG totaux (Morand-Fehr, Tran 2001).

La teneur en AG totaux de l'herbe n'est pas modifiée par l'ensilage, soit la méthode de conservation humide, en revanche la majorité des AG présents au sein des ensilages sont non estérifiés (Doreau et al. 2012). L'herbe et l'ensilage d'herbe ont une proportion d'AAL largement supérieure à celle des concentrés dans lesquels l'AAL représente 2% des AG totaux, tandis que la teneur en AL est à peu près similaire (Woods, Fearon 2009). Une exception est l'ensilage de maïs, dont la composition est proche du maïs grain, avec des proportions élevées d'AL (35 à 50%) et AO (20 à 30%) et une faible proportion d'AAL (5%), en proportion des AG totaux. Le fanage, en revanche, réduit la teneur en extrait étheré qui est de 1,5 à 5% et modifie la composition en AG puisqu'en proportion de lipides, les foin ne contiennent plus que 30% d'AAL et davantage d'AO, AL et AGS (Morand-Fehr, Tran 2001).

c.2 : Aliments concentrés

Les céréales et la plupart des graines protéagineuses, comme le blé, l'orge, le pois et la féverole, ont des teneurs en extrait étheré souvent assez faibles (1 à 2 %) sauf le maïs et les coproduits de meunerie (autour de 4%), avec une proportion très élevée d'AL (plus de 50 % des AG totaux) et des proportions faibles d'AGS (20% ou moins des AG totaux), dominés par l'acide palmitique (Morand-Fehr, Tran 2001). Les lupins ont également une proportion plus élevée de lipides (autour de 5%), dominés par l'AL et l'AO (INRAE 2017). Les graines oléagineuses sont riches en lipides et leur composition varie selon l'espèce végétale. Toujours en pourcentage d'AG totaux, l'huile de palme contient autour de 46% d'acide palmitique, la graine de colza est riche en AO (autour de 60%) et contient autour de 20% d'AL, les graines de lin contiennent plus de 50% d'AAL mais certaines variétés ont une prédominance d'AL, et les graines de coton sont riches en AL (47%). Les graines de soja et de tournesol contiennent quant à elles beaucoup d'AL (respectivement 53% et 66%) et moins d'AO (autour de 22%), bien que certaines variétés de tournesol contiennent une majorité d'AO (plus de 80%) (Morand-Fehr, Tran 2001; Doreau et al. 2012).

Les teneurs en AG dans les aliments concentrés varient légèrement selon les études mais les tendances sont sensiblement les mêmes. La figure 17, extraite d'une étude de l'INRAE (AFZ 2000) est un résumé des compositions en AG majeurs de céréales,

graines protéagineuses et oléagineuses et de l'huile de palme, utilisées en alimentation animale.

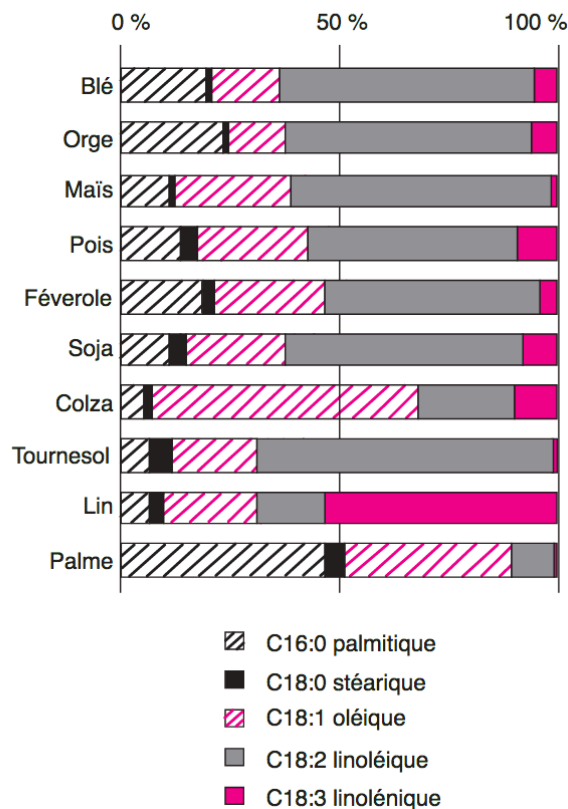


Figure 17 : Comparaison des compositions en AG majeurs de différentes plantes (AFZ 2000)

En résumé, l'AL est présent en quantités importantes dans les régimes riches en concentrés, tandis que l'AAL est prédominant dans le régime des ruminants en systèmes herbagers.

Les AG présents dans les rations sont ainsi majoritairement insaturés voire polyinsaturés, alors que les tissus des ruminants sont riches en AG *trans* plutôt saturés. De fait, des transformations ont forcément lieu au cours des différentes étapes conduisant au dépôt des lipides dans les produits terminaux, avec en premier lieu celles qui ocurrent dans le rumen, constituant le premier site du métabolisme lipidique.

B) Le métabolisme lipidique ruminal

Les AG absorbés par le ruminant sont issus de deux grands métabolismes ruminiaux. Le premier est la fermentation de la matière organique conduisant à la formation d'acides gras volatils (AGV) absorbés majoritairement à travers la paroi ruminale, la partie non absorbée entrant dans les voies de l'anabolisme microbien et aboutissant,

entre autres, à la formation d'AG longs. Lorsque ces derniers ont pour précurseurs des AGV ramifiés, ils conservent cette particularité et constituent les iso-AG. Par ailleurs, les AG obtenus par élongation du propionate ont un nombre impair de carbones. L'autre transformation majeure se déroulant dans le rumen est la biohydrogénation des AGI qui conduit à la formation d'AG majoritairement saturés ainsi que d'intermédiaires monoinsaturés. Les AG sortant du rumen seront absorbés dans l'intestin grêle.

a. Synthèse d'AG à partir d'AGV et autres lipides microbiens

Les bactéries ruminales ont un rôle majeur dans la synthèse des AGV. En effet, pour leur propre métabolisme énergétique, elles transforment les composés alimentaires issus principalement des parois cellulaires végétales, comme la cellulose, l'hémicellulose et les pectines, et du contenu cellulaire, comme l'amidon et les sucres solubles, en molécules solubles et assimilables. De nombreuses enzymes bactériennes, comme des cellulases, hémicellulases, pectinases et amylases, sont ainsi sécrétées afin d'hydrolyser les composés glucidiques d'origine alimentaire (Cuvelier et al. 2005b). Ces hydrolyses conduisent à des substrats osidiques, principalement des hexoses avec majoritairement du glucose, et des pentoses comme le xylose, qui peuvent pénétrer au sein des cellules bactériennes pour subir des fermentations anaérobies conduisant à la formation d'un métabolite intermédiaire, le pyruvate. À partir de ce substrat, plusieurs voies de fermentation vont conduire à la formation d'AGV, les trois principaux étant l'acétate (C2), le propionate (C3) et le butyrate (C4). Le valérate (C5), isovalérate, caproate (C6) et 2-méthylbutyrate sont également produits en quantité nettement moindre (Bannink, Tamminga 2005). Les voies de fermentation sont déterminées par la composition microbienne, elle-même conditionnée par le régime alimentaire. Un régime riche en fourrage privilégiera la formation d'acétate avec un rapport C2/C3/C4 autour de 70/20/10 tandis qu'un régime riche en amidon privilégiera la formation de propionate, même si l'acide acétique reste l'AGV le plus abondant dans les conditions physiologiques (Bannink, Tamminga 2005). L'acide acétique est un précurseur des AG pairs, qui sont les AG les plus fréquemment rencontrés. L'acide propionique est quant à lui un précurseur des AG impairs et de certains acides aminés. Il est rarement estérifié sur les lipides naturels. De nombreux lipides ruminiaux sont synthétisés par les bactéries ruminales et sont caractérisés par une abondance de ces AG impairs et ramifiés. Ces AG sont ainsi synthétisés à partir de propionate et/ou d'AGV à chaînes ramifiées, dérivant eux-mêmes d'acides aminés

à chaînes ramifiées issus de la protéolyse (Alves et al. 2013). Les bactéries amylolytiques seraient plutôt productrices d'AG ramifiés de type anteiso et d'AG à chaîne linéaire et impaire, tandis que les bactéries cellulolytiques seraient plutôt productrices d'AG ramifiés de type iso (Vlaeminck et al. 2006; Alves et al. 2013; Vargas et al. 2020).

Les lipides microbiens incluent également une quantité importante d'éther-phospholipides ou plasmalogènes (Alves et al. 2013). Ces derniers sont des glycérophospholipides dans lesquels l'hydroxyle du carbone en position 1 du glycérol présente une liaison vinyle éther $-CH=CH-O$. Les diméthylacétals (DMA) sont les produits de la catalyse acide des plasmalogènes et présentent des groupements méthyles sur les parties hydroxyle et aldéhyde de leur fonction carboxyle (Guillocheau 2019). Les DMA sont présents en grande quantité au niveau des membranes des bactéries anaérobies, la liaison vinyle éther leur conférant un rôle notamment de régulation de la fluidité membranaire. Le régime affecte la proportion de DMA à chaînes ramifiées et notamment les iso-DMA. Une diminution du ratio fourrages/concentrés réduit la proportion d'iso AG et augmente la proportion d'anteiso. Même si la composition des DMA est ainsi influencée, la concentration de DMA totaux ne semble pas affectée par le régime, suggérant un niveau de plasmalogènes constant chez les micro-organismes du rumen (Alves et al. 2013). Certaines bactéries convertissent également des AGMI en AG contenant un groupe hydroxyle ou oxo (Alves et al. 2013). En 1966, Katz et Keeney ont isolé neuf oxo-18:0, appelés acides kétostéariques, dans le rumen de bovins nourris au foin, le plus abondant étant l'acide 16-oxostéarique (Katz, Keeney 1966). En 2013, Alves et al. en ont isolé trois, avec l'acide 16-oxostéarique favorisé par un régime riche en luzerne, elle-même riche en AAL. L'hypothèse retenue est que cet oxo-AG est produit à partir de la BH de l'AAL, suite à l'hydrogénation de la double liaison en C15, suivie de son oxydation. L'ajout d'huile de soja dans le régime à base de luzerne a entraîné dans cette même étude l'augmentation de l'acide 10-oxostéarique, également majoritaire dans le régime des agneaux nourris à partir de concentrés. En effet, ce cétoacide serait produit à partir d'un intermédiaire hydroxylé issu de l'AO, (Katz, Keeney 1966; Hudson et al. 1995). *Propionibacterium acnes* serait à l'origine de l'hydrogénation du C18:1 cis 9 et C18:1 $trans$ 11 en acide 10-hydroxystéarique, ensuite oxydé en acide 10-oxostéarique (Buccioni et al. 2012). Enfin, l'acide 13-oxostéarique serait formé à partir de l'AL (Alves et al. 2013). La voie de synthèse des lipides microbiens, bien qu'impliquant une partie

des AG issus de la biohydrogénation (BH), reste une voie à part, on parle de la synthèse d'AG de novo. Nous allons à présent nous focaliser sur la BH à proprement dit et ses facteurs de variation.

b. Les voies de biohydrogénation des lipides d'origine alimentaire

Après l'arrivée des lipides, et notamment des AGPI, dans le rumen, et face à la toxicité de ces derniers pour les micro-organismes, plusieurs étapes vont se succéder et conduire principalement à la lyse des esters d'AG et la saturation des AGI, ce que l'on nomme plus généralement la BH ruminale. Des AG libres et majoritairement saturés arriveront ensuite dans l'intestin grêle. Les premières étapes de la BH sont des réactions rapides tandis que la dernière étape de réduction des AG à 18 carbones, conduisant à la formation de l'acide stéarique, est plus lente, en raison du faible nombre de bactéries capables de la réaliser (Doreau et al. 2012).

b.1 : La lipolyse des esters lipidiques

La première étape du métabolisme lipidique est l'hydrolyse des liaisons ester au sein des triglycérides, phospholipides et glycolipides, réalisée via des hydrolases bactériennes, qui libèrent les AG et les substrats ensuite fermentés en AGV, comme le glycérol et le galactose. La lipolyse a lieu rapidement dans le rumen. L'hydrolyse des triglycérides se fait principalement via les lipases bactériennes, certains galactolipides et phospholipides des fourrages sont hydrolysés par les lipases végétales. Ces dernières restent actives 5 heures une fois dans le rumen (Lourenço et al. 2010; Doreau et al. 2012).

Les bactéries sont ainsi les principaux acteurs de la première étape de transformation lipidique, bien qu'une activité lipolytique ait été détectée chez les protozoaires ruminants, sans que l'importance de celle-ci n'ait pu être établie (Doreau et al. 2012).

b.2 : La BH des AGI

La BH des AGI est la seconde étape. Il s'agit de réactions d'isomérisation et d'hydrogénation des doubles liaisons, ces réactions ne pouvant se faire que lorsque la fonction acide carboxylique est libre, donc après hydrolyse (Doreau et al. 2012). Le pourcentage de BH est inférieur à celui de la lipolyse, mais il est en moyenne de 80 à 92% pour l'AL et AAL pour des animaux au pâturage ou avec un régime à base de fourrages (Glasser et al. 2008) tandis qu'il diminue lorsque la ration contient plus de

70% de concentrés et passe à un pourcentage entre 50 et 80% pour l'AAL et entre 35 et 60% pour l'AL (Doreau et al. 1997). Les réactions de BH se déroulent en plusieurs phases. La première étape est une isomérisation, conduisant à une modification de configuration (*trans*-isomérisation) et/ou de position le long de la chaîne hydrocarbonée (Doreau et al. 2012). La *trans*-isomérisation principale est la réaction au cours de laquelle les AGPI possédant une double liaison *cis* sur le carbone 12 sont convertis en leur isomère *trans*-11, créant un AG conjugué di ou triénoïque, respectivement pour l'AL ou l'AAL (Sterk 2011). En effet, l'isomérase responsable de cette réaction n'est active que si la configuration en diène *cis*9, *cis*12 est présente et si la fonction carboxyle est libre. Viennent ensuite les étapes d'hydrogénation, qui convertissent une double liaison insaturée en une simple liaison saturée.

Concernant l'AL, la voie majoritaire est celle ayant pour intermédiaire l'acide vaccénique. Dans cette voie, la première isomérisation donne naissance à l'acide ruménique (C18:2*cis*9,*trans*11) (Doreau et al. 2012) qui peut ensuite être hydrogéné en position 9, donnant à son tour majoritairement naissance à l'acide vaccénique (C18:1*trans*11). Ce dernier pourra à son tour être hydrogéné pour former l'acide stéarique (Cuvelier et al. 2005b). À chaque étape d'isomérisation, de nombreux isomères sont possibles. Sous certaines conditions d'alimentation que nous décrivons, l'AL peut parallèlement suivre une autre voie de transformation, par isomérisation de la double liaison en position 9, conduisant à la formation du CLA-*trans*10,*cis*12. À nouveau, ce composé peut subir une hydrogénation en position 12, formant le C18:1*trans*10 (Cuvelier et al. 2005b). Tous les autres AG en C18:2 possédant deux doubles liaisons *cis* séparées par un groupement méthylène, à l'exception de l'isomère C18:2*cis*14,*cis*17, sont hydrogénés au moins jusqu'au stade C18:1 (Cuvelier et al. 2005b).

Concernant l'AAL, comme pour l'AL, la voie majoritaire est celle menant à l'acide ruménique puis à l'acide vaccénique. La première réaction d'isomérisation a ainsi principalement lieu sur la double liaison *cis*12, formant l'isomère majoritaire des acides linoléiques conjugués, le C18:3*cis*9,*trans*11,*cis*15 (Doreau et al. 2012). Ce composé est majoritairement hydrogéné en position 9, ce qui conduit à la formation de C18:2*trans*11,*cis*15. Une hydrogénation supplémentaire avec ou sans isomérisation donne naissance à un AGMI, majoritairement le C18:1*trans*11, mais aussi possiblement le C18:1*trans*15 ou C18:1*cis*15 (Cuvelier et al. 2005b). En plus faible quantité, l'AAL est transformé en C18:1 du *trans*13 au *trans*16 ainsi qu'en CLA avec

uniquement des isomères en position 11 et 13 (Doreau et al. 2012). Ainsi, pour l'AL et AAL, la réaction majoritaire est une réduction de la double liaison *cis*₉ et est à l'origine d'AG *trans*₁₁. Si les étapes se poursuivent, il y a une hydrogénation supplémentaire de la double liaison *trans*₁₁ produisant du C18:0. Les acides linoléique et linoléique conjugués restent très peu longtemps dans le milieu ruminal et sont rapidement réduits, en particulier le C18:2*cis*₉,*trans*₁₁ (Wallace et al. 2007). En revanche, le 18:2*trans*₁₁,*cis*₁₅ et les isomères *trans* du 18:1 s'accumulent surtout lorsque l'alimentation est riche en AGPI (Doreau et al. 2012). L'acide gamma linoléique, isomère constitutionnel de l'AAL, est présent en quantité largement inférieure à son isomère dans les lipides animaux et végétaux. Son isomérisation donne naissance au C18:3*cis*₆,*cis*₉,*trans*₁₁, hydrogéné en C18:2*cis*₆,*trans*₁₁. À nouveau, son hydrogénation conduit à la formation d'acide vaccénique puis d'acide stéarique (Cuvelier et al. 2005b). L'AO est quant à lui majoritairement hydrogéné en acide stéarique mais peut aussi être isomérisé en une multitude d'AGMI de configuration *trans*, parmi lesquels l'acide élaïdique (C18:1*trans*₉) et l'acide vaccénique (Doreau et al. 2012). Enfin, il existe de nombreux isomères des 18:1, 18:2 et 18:3 dont les voies biochimiques ne sont pas connues. Nous avons ici décrit une partie du métabolisme complexe des AGPI, que nous pouvons résumer dans la figure 18.

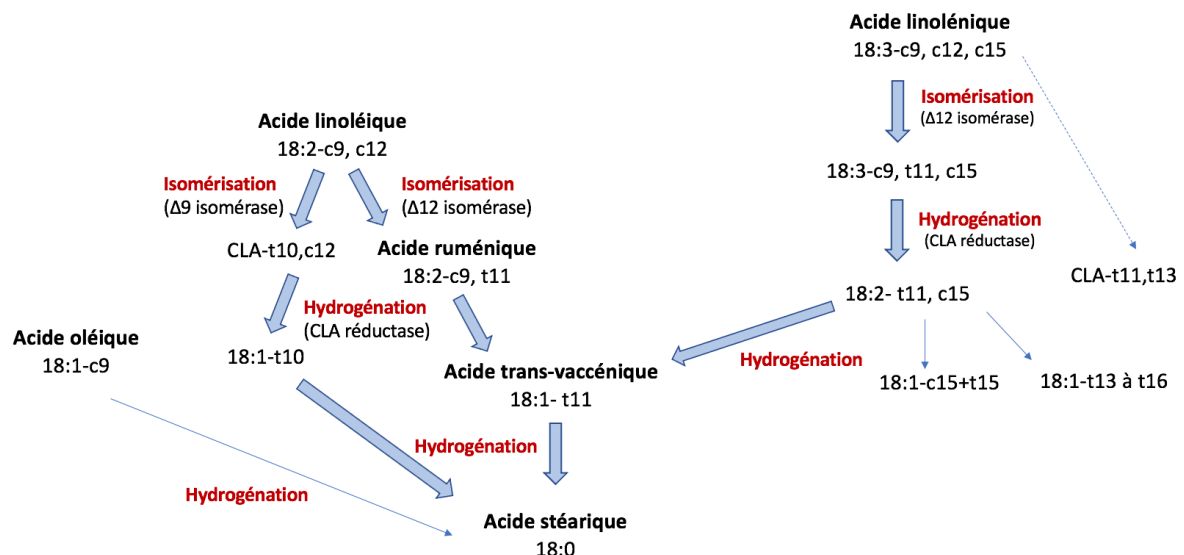


Figure 18 : Principales voies de BH des acides linoléique, linoléique et oléique

Les AGPI en C20 et C22, moins fréquents dans les aliments, sont également biohydrogénés, ce qui conduit majoritairement à des AG toujours insaturés comportant une à cinq doubles liaisons. Les AGS C20:0 et C22:0 sont plus rarement formés. Les

données sont cependant moins fournies que pour les AG à dix-huit atomes de carbone. Par ailleurs, un certain nombre d'AGS et AGMI sont assimilés par les micro-organismes et entrent dans la constitution de lipides microbiens (Bauchart et al. 1990).

b.3 : Facteurs de variation de la BH

Les principaux facteurs de variation de la BH sont le pourcentage d'aliments concentrés et la teneur en matières grasses de la ration. Lorsque la proportion de concentrés augmente, le taux de BH diminue du fait d'une diminution du pH ruminal (Doreau et al. 1997) Un pH faible a un effet inhibiteur sur la lipolyse et sur l'isomérisation en CLA-*cis9,trans11*, ce qui augmente le ratio *trans10/trans11* des 18:1 et des CLA (Van Nevel, Demeyer 1996). On parle de déviation de la voie *trans11* vers la voie *trans10* ou « *trans-10 shift* ». Pour que cette déviation ait lieu, l'augmentation de la proportion de concentrés doit être associée à une augmentation de l'apport en AL, par incorporation à la ration de graines de tournesol ou de soja par exemple. Enfin, une baisse du pH diminue la saturation finale des 18:1 *trans* en acide stéarique, à l'origine d'une accumulation de ces AGMI (Troegeler-Meynadier et al. 2006).

Ainsi, la BH sature les AG alimentaires mais conduit également à la formation d'intermédiaires uniques qu'on ne retrouve pas dans l'alimentation. L'ensemble de ces AG vont ensuite être répartis au sein de l'organisme.

C) Digestion des AG et répartition dans les tissus

a. Flux des AG à la sortie du rumen

Après le passage dans le rumen et l'action des microorganismes, les lipides arrivent avec le reste du bol alimentaire dans le duodénum. Les AG y sont majoritairement sous forme libre et saturée (=AGL) mais 10 à 30% sont estérifiés et représentés par une majorité de phospholipides et glycolipides, et une minorité de triglycérides et esters de cholestérol (De Ofeu Aguiar Prado 2018). La méta-analyse de Glasser et al. (2008) indique qu'environ 25% de l'AL et de l'AAL alimentaires se retrouvent dans le duodénum sous forme d'isomères C18:1*trans* tandis qu'environ 62% d'AL et 25% d'AAL se retrouvent sous forme de C18:0 (Glasser et al. 2008). Ces lipides sont pour la plupart adsorbés à des particules solides comme des fragments végétaux, débris de microorganismes et cellules épithéliales ruminales desquamées. Dans l'intestin grêle, les sels biliaires séparent les AG libres et les solubilisent au sein des micelles.

Les phospholipases et lipases pancréatiques assurent quant à elles l'hydrolyse des phospholipides et triglycérides, ce qui libère des AG intégrés aux structures micellaires. L'absorption à travers la muqueuse intestinale se fait ensuite par diffusion passive, majoritairement au niveau des parties moyennes et distales du jéjunum. Les AG à moins de douze atomes de carbone sont directement transportés jusqu'au foie, associés à l'albumine sérique, via la veine porte (Cuvelier et al. 2005b). Au sein des entérocytes, les AG libres à plus de douze atomes de carbone sont ré-estérifiés, les phospholipides et triglycérides sont reformés et intégrés aux lipoprotéines (Cuvelier et al. 2005b), complexes macromoléculaires constitués de triglycérides, phospholipides, cholestérol libre ou estérifié et apolipoprotéines. Classiquement étudiées par ultracentrifugation, les lipoprotéines sont classées selon l'intervalle de densité du milieu dans lequel elles flottent : chylomicrons, VLDL (très faible densité), LDL (faible densité), HDL (haute densité) (Rémésy et al. 1986). Chez les ruminants, les VLDL sont majoritaires. Les chylomicrons et VLDL formés sont ensuite transportés par voie lymphatique et déversés dans la circulation sanguine. La sécrétion de VLDL est stimulée par les AGS chez les ovins (Cuvelier et al. 2005c).

L'apolipoprotéine acquise dans la circulation sanguine permet d'activer la lipoprotéine lipase (LPL) extra-hépatique, permettant d'hydrolyser les triglycérides plasmatiques. La LPL présente une activité élevée au sein du tissu adipeux, de la glande mammaire en lactation, du cœur et des muscles squelettiques (Cuvelier et al. 2005c). L'hydrolyse des triglycérides des chylomicrons et des VLDL conduit à la formation de particules lipoprotéiques appelées vestiges de chylomicrons et IDL, qui donneront ensuite des LDL par action de la LPL. Les LDL plasmatiques sont ensuite prélevées de la circulation sanguine par le foie ou les tissus périphériques. Les HDL servent quant à elles majoritairement à transporter le cholestérol estérifié chez le ruminant (Cuvelier et al. 2005c). La figure 19 résume ces flux d'AG depuis l'arrivée dans le rumen jusqu'à la distribution dans les principaux tissus.

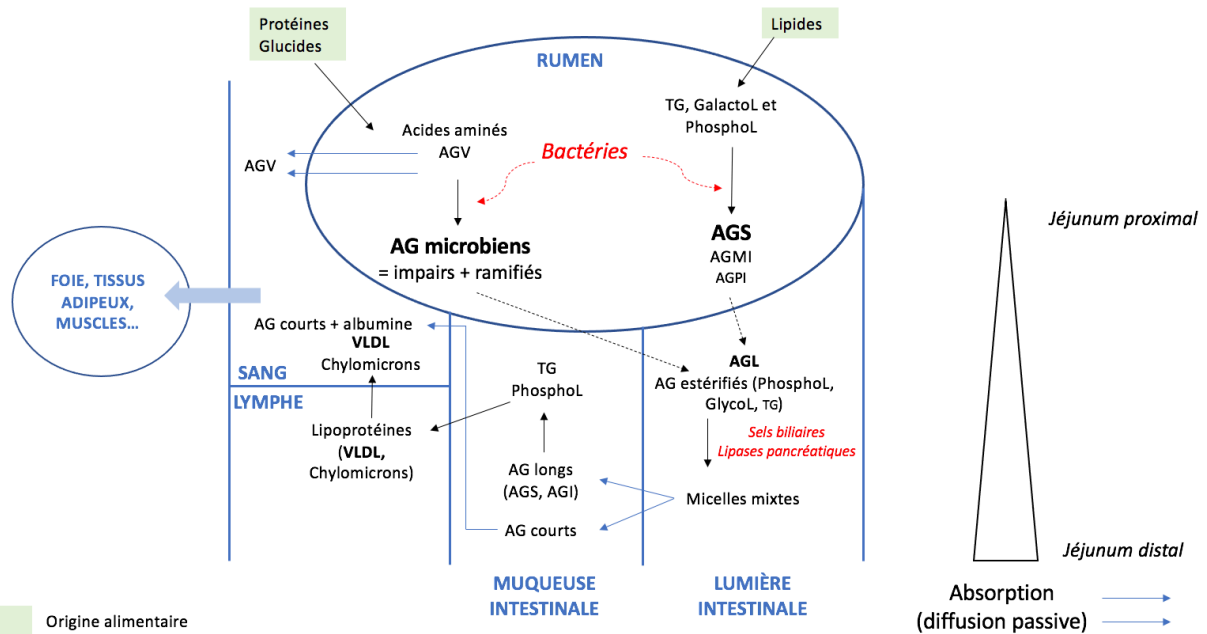


Figure 19 : Représentation schématique du passage des AG dans la circulation plasmatique à la sortie du rumen

Dans les tissus adipeux, les AG sont stockés en guise de réserve sous forme de triglycérides. Au sein des adipocytes, la synthèse des triglycérides se fait par hydrolyse des lipides transportés par les lipoprotéines (chylomicrons et VLDL) et par synthèse endogène d'AG à partir du glucose et des AGV, à condition qu'il y ait une réserve d'acétyl-CoA et d'un pouvoir réducteur, sous forme de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH). L'acétate est l'AGV précurseur majoritaire des AG dans les tissus adipeux des ruminants, sauf le tissu adipeux musculaire où il s'agirait du glucose (Cuvelier et al. 2005a).

Les acides gras prélevés par le foie ont deux origines possibles : les acides gras non estérifiés (AGNE) à chaîne courte absorbés au niveau intestinal et transportés par l'albumine sérique dans la veine porte et les AGNE plasmatiques issus de la mobilisation des réserves lipidiques ou de l'hydrolyse des triglycérides circulants par la LPL extra-hépatique. Dans le foie, les AG peuvent être sécrétés dans la bile, oxydés ou estérifiés en triglycérides pour être stockés ou sécrétés dans les lipoprotéines (Cuvelier et al. 2005c).

Que ce soit au sein de la cellule musculaire, hépatique ou toute autre cellule de l'organisme, les acides gras à longue chaîne sont transformés en acyl-CoA puis oxydés. Les acyl-CoA peuvent, alternativement à la voie de l'oxydation, être estérifiés pour former des triglycérides, dont le rôle est celui de stockage, ou des phospholipides,

constituants majeurs des membranes cellulaires et intracellulaires. Lors de déficit énergétique (en cas de jeûne de l'animal par exemple), une mobilisation des triglycérides des tissus adipeux se produit, ce qui augmente la concentration sanguine en AGNE (Cuvelier et al. 2005a).

b. Principales transformations et dépôts des AG dans les tissus

Au niveau de la muqueuse intestinale, mais également dans le foie, le tissu adipeux ou encore la mamelle, des désaturases agissent sur les AG mais cela ne suffit pas à recréer toutes les insaturations du départ, d'où la plus grande part d'AGS dans les produits des ruminants par rapport au profil ruminal d'AG. En 1999, l'étude de Yang et al. a montré que le tissu adipeux sous-cutané de bovins au pâturage était plus riche en AGPI et moins en AGS que ceux des bovins à l'engraissement, et que l'activité de la $\Delta 9$ -désaturase du tissu était supérieure (Yang et al. 1999).

Au sein du rumen, le C18:1 $trans$ 11 peut s'accumuler et être absorbé tel quel dans l'intestin. Dans les tissus, que ce soit dans la glande mammaire ou dans le tissu adipeux intramusculaire et sous-cutané, il est ensuite converti en acide ruménique par une $\Delta 9$ -désaturase (Bessa et al 2015). Cette voie constitue la source principale de CLA- $cis9,trans$ 11 au niveau tissulaire qui serait d'ailleurs responsable de près de 80% de la production des CLA déposés dans les tissus, comme montré dans la figure 20 (Bessa et al 2015).

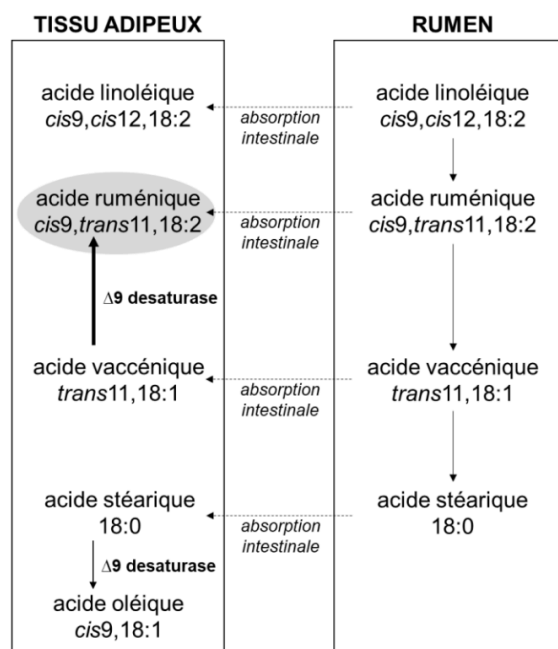


Figure 20 : Représentation schématique des voies métaboliques à l'origine du dépôt d'acide ruménique au niveau tissulaire (Bessa et al. 2015)

La $\Delta 9$ -désaturase ne peut convertir que les isomères *trans7* et *trans11* en leurs isomères correspondants (CLA-*trans7,cis9* et CLA-*cis9,trans11*) (Bessa et al. 2015). Dans le tissu mammaire, une partie des AG à chaîne moyenne (C12:0, C14:0, C16:0) ou longue (C18:0, C18:1,*t*11, C20:0 à C24:0) est désaturée en position $\Delta 9$ par la $\Delta 9$ -désaturase mammaire. Le principal substrat de cette désaturase est le C18:0 et 49 à 60% de ce dernier sont désaturés en C18:1*cis9* (De Ofeu Aguiar Prado 2018).

En définitive, les AG des produits terminaux des ruminants sont complètement remodelés depuis leur arrivée dans le rumen jusqu'à leur distribution dans l'organisme. Le type de CLA déposés dans les tissus dépend du type d'alimentation, la formation de *trans10* ne pouvant se faire que si la proportion de concentrés le permet. Une grande part des AG tissulaires sont saturés. La $\Delta 9$ -désaturase présente un rôle primordial dans la désaturation des AG.

Nous avons vu que les différentes enzymes de l'hôte sont spécifiques d'un ensemble de substrats, dont la formation se fait par le microbiote bactérien. Nous allons étudier celui-ci en essayant entre autres de déterminer les bactéries qui orientent plutôt vers du *trans10* ou du *trans11*.

III) Caractéristiques du microbiote ruminal ovin

Les ruminants sont des polygastriques ne possédant pas directement les enzymes nécessaires à la digestion des glucides pariétaux présents dans leur alimentation. C'est l'association symbiotique avec les micro-organismes du rumen qui leur permet de tirer profit de ces glucides pariétaux, mais également des glucides cytoplasmiques et autres nutriments contenus dans les cellules végétales. Les micro-organismes sont présents dans les pré-estomacs des ruminants. Avant d'étudier le microbiote bactérien, nous allons décrire l'anatomie ainsi que les paramètres physico-chimiques de ces pré-estomacs.

A) Anatomie et caractéristiques physico-chimiques des pré-estomacs des ruminants

a. Anatomie de l'estomac d'un polygastrique

L'estomac des ruminants est pluriloculaire. Il est composé de trois pré-estomacs non sécrétoires, que sont le réseau, le rumen et le feuillet, et d'un estomac glandulaire, la

caillette (figure 21). L'ensemble est très volumineux et occupe les 4/5^{ème} de la cavité abdominale (Mogicato 2015).

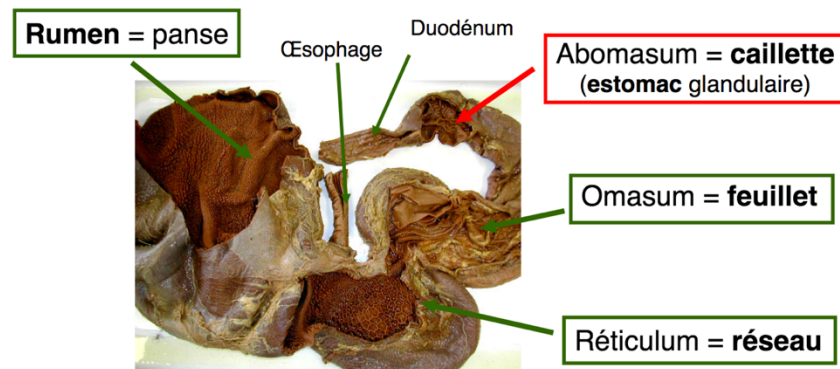


Figure 21 : Étalement des pré-estomacs non sécrétoires et de l'estomac glandulaire d'un bovin à l'autopsie (Ferran 2017).

Les aliments arrivent dans le réseau via l'œsophage au niveau du cardia, qui communique avec le rumen, on parle de réticulo-rumen. Les petites particules et l'eau restent peu dans le réticulo-rumen et transitent rapidement vers le reste des estomacs. En revanche, les fibres peuvent y rester deux à trois jours, le temps qu'elles subissent diverses dégradations. Une fois celles-ci terminées, le bol ruminal transite via l'orifice réticulo-omasal vers le feuillet puis la caillette. Le réseau est contre le diaphragme, à gauche, tandis que le feuillet et la caillette sont à droite de l'animal. Les pré-estomacs sont recouverts d'un épithélium pluristratifié et sont entourés d'une forte musculature qui permet le brassage du bol alimentaire (Bannink, Tamminga 2005).

a.1 : Le réseau

Le réseau présente une structure hexagonale en nids d'abeille, formée de papilles regroupées en cellules réticulaires (figure 22). Lors de la rumination, il y a des contractions rétrogrades associées à une ouverture du cardia, ce qui fait remonter le bol mérycique vers l'œsophage.



Figure 22 : Paroi interne du réseau d'un ruminant (Ferran 2017)

Ses rôles principaux sont le stockage des éléments déglutis, notamment les éléments lourds, la fermentation microbienne par son association avec le rumen, et la vidange vers le feuillet.

a.2 : Le rumen

Le rumen des ovins a une capacité de 5 à 8 litres (Goopy et al. 2014; Baumont, Deswysen 1991) et représente 64 à 71% du volume du tube digestif et 9 à 13% du volume total corporel (Flint 1997). Il est constitué de deux sacs, le sac dorsal et le sac ventral, ainsi que de deux cul-de-sac, également dorsal et ventral, séparés par des sillons. Le sac ventral du rumen possède un épithélium surélevé en papilles (figure 23), dont les rôles sont le brassage et l'absorption des nutriments, notamment les AGV libérés par fermentation microbienne (Mogicato 2015).



Figure 23 : Paroi interne du sac ventral du rumen d'un ruminant (Mogicato 2015)

Les aliments ne peuvent quitter le réticulo-rumen que lorsque les particules atteignent moins de deux millimètres. L'orifice de sortie du réticulo-rumen, qui sépare le réseau du feuillet, maintient les fourrages en fermentation anaérobie à l'intérieur du réticulo-rumen (Jarrige et al. 1995).

a.3 : Le feuillet

Le feuillet est moins développé chez les petits ruminants que chez les bovins. Il contient au plus un demi-litre chez le mouton adulte (Jarrige et al. 1995) et est composé de lames parallèles attachées à la grande courbure, qui constituent une très grande surface d'absorption. Son rôle est la régulation du transit entre le réticulo-rumen et la caillette, il agit comme une pompe qui se dilate pour absorber les aliments du réseau puis les fait passer dans la caillette par contraction. Il régule également les aliments, retenant les solides au fond des lames (figure 24) (Mogicato 2015).



Figure 24 : Parois internes du feuillet (Ferran 2017)

Nous allons maintenant nous focaliser sur un de ces pré-estomacs, le rumen, en parlant des conditions physico-chimiques qui le caractérisent et des bactéries qui l'occupent, avant de se concentrer sur celles capables de réaliser la BH ainsi que ses étapes préalables d'hydrolyse.

b. Caractéristiques physico-chimiques du milieu ruminal

Dans le grand compartiment qu'est le rumen, les gaz, solides et liquides occupent un territoire bien défini, du fait de leurs tailles et de leurs densités. Les gaz occupent la partie dorsale, les grosses particules alimentaires occupent le milieu du rumen flottant sur la phase liquide qui occupe la partie ventrale. Le réticulo-rumen présente les caractéristiques essentielles d'un « fermenteur ». En premier lieu, des conditions d'anaérobiose sont maintenues en milieu central et ventral, tandis que des bactéries aéro-anaérobies se situent en partie dorsale (Membrive 2016). Les conditions d'anaérobiose permettent la réalisation des fermentations microbiennes. Le pH du rumen est compris entre 5,5 et 7,3. Ce pH diminue de manière significative deux à six heures après la prise alimentaire par production d'AGV et est tamponné par l'apport de bicarbonates dans la salive. Cette dernière, dont la production est de 3 à 16 litres par jour chez les ovins (Wilson 1963), riche en bicarbonates et en phosphates, a un rôle important dans le bon développement microbien puisqu'elle permet un contrôle de la teneur hydrique en plus du pH. Le milieu ruminal est ainsi un milieu riche en eau (85 à 90%) qui présente un apport régulier de nutriments. La température du rumen se situe entre 39 et 40°C. Les populations microbiennes sont ainsi adaptées à ces conditions (Jarrige et al. 1995).

B) La population bactérienne ruminale

On estime à plus de 5000 le nombre d'espèces bactériennes dans l'écosystème microbien du rumen (Kim et al. 2011a). Les chiffres avancés concernent les bovins et recensent 10^{10} à 10^{11} bactéries par gramme de contenu ruminal (White et al. 1998; Zened et al. 2021). De fait, la diversité microbienne du tractus gastro-intestinal des ruminants est supérieure à celle de l'homme (Morgavi et al. 2013).

a. Méthodes de séquençage

La diversité microbienne au sein de l'écosystème ruminal a depuis longtemps été étudiée, davantage chez les bovins que chez les ovins, et il existe une multitude de méthodes moléculaires qui, ensemble, permettent d'approcher au mieux la compréhension de cet écosystème, sans pour autant le caractériser dans son entièreté. Il est important de distinguer identification, quantification et expression, selon la cible nucléotidique étudiée. C'est ainsi que l'on distingue les méthodes fondées sur l'analyse de l'ADN qui visent davantage à identifier les micro-organismes, des méthodes basées sur les ARN messagers qui mesurent l'activité de ces micro-organismes (White et al. 1998).

Un exemple de méthode d'analyse de l'ADN est l'analyse par polymorphisme de taille des fragments de restriction, ou RFLP d'après son nom anglophone. Cette méthode a été utilisée dans les années 1990 pour mettre en évidence la diversité des espèces en étudiant principalement les espèces *Fibrobacter succinogenes*, *Selenomonas ruminantium* et *Butyvirbio fibrisolvens* (White et al. 1998). Les méthodes basées sur le gène codant pour l'ARNr 16S sont quant à elles des techniques d'analyses de métagénomique ciblée permettant de détecter les micro-organismes présents dans des échantillons complexes en s'affranchissant des étapes de culture ou d'enrichissement. Elles se basent sur la comparaison des séquences étudiées avec une base de données et ont été utilisées pour l'étude du microbiote pour la première fois par Stahl et al. en 1988 (Stahl et al. 1988). Les gènes codant pour l'ARNr 16S sont des gènes ubiquitaires présentant à la fois des régions très conservées, permettant l'utilisation d'amorces complémentaires à ces régions pour amplifier ces gènes chez la plupart des micro-organismes, et des séquences variables, propres à une espèce, un genre ou une famille. De plus, ces gènes sont peu soumis aux transferts horizontaux, d'où le choix en tant que marqueurs en analyse taxonomique (Falentin et

al. 2019). En revanche, cette technique ne permet pas de faire de quantification bactérienne.

b. Classification physiologique des principales bactéries ruminales

En 2015, l'étude d'Henderson et de ses collaborateurs a montré que la composition microbienne ruminale varie en fonction du régime alimentaire et de l'hôte mais « *qu'un microbiome commun existe entre espèces de ruminants et à l'échelle du globe* » (Henderson et al. 2015). Dans cette étude, 742 échantillons de contenus ruminiaux ont été prélevés sur 32 ruminants d'espèces différentes et dans 35 pays. L'expérience a montré que les 30 groupes bactériens les plus abondantes étaient retrouvées dans plus de 90% des échantillons. De fait, si l'on considère les caractéristiques communes aux bactéries ruminales, nous pouvons les classer selon des critères morphologiques ou physiologiques comme par exemple selon les substrats qu'elles dégradent. Cette classification permet de distinguer les bactéries fibrolytiques, amylolytiques, hémicellulolytiques, pectinolytiques, protéolytiques, lipolytiques.... Les bactéries fibrolytiques et amylolytiques sont majoritaires dans le rumen (Bannink, Tamminga 2005). Les bactéries cellulolytiques sécrètent des cellulases capables de cliver les liaisons $\beta(1-4)$ de la cellulose libérant ainsi des dimères de glucose appelés cellobioses. Ces bactéries sont toujours minoritaires en proportion par rapport aux amylolytiques et sont favorisées par une alimentation riche en fourrage. Elles produisent davantage d'acétate (C2) que les amylolytiques, mais également du propionate (C3) et un peu de butyrate (C4). Leur pH optimal est un pH supérieur à 6. Les espèces cellulolytiques dominantes sont *Fibrobacter succinogenes* pour les formes bacillaires et *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens* pour les formes en coques (Jarrige et al. 1995). Les bactéries amylolytiques dégradent l'amidon et sont favorisées par un régime riche en concentrés avec un pH optimal inférieur à 6 (Cotta 1988). Elles produisent davantage de propionate que les cellulolytiques. Les bactéries amylolytiques principales sont *Selenomonas ruminantium*, *Ruminobacter amylophilus* et *Prevotella ruminicola* (Cotta 1988). Si l'on s'intéresse à quelques espèces bactériennes ayant d'autres activités que glucidolytiques, nous pouvons citer *Butyrivibrio fibrisolvens* qui participe à l'hydrogénation des lipides et à la protéolyse, *Prevotella ruminicola* qui participe également à la protéolyse et la fermentation des peptides, *Selenomonas ruminantium*, favorisée par des régimes riches en céréales et capable de fermenter une vingtaine de substrats carbonés (Jarrige et al. 1995).

Certaines espèces sont en revanche très spécialisées et occupent des niches nutritionnelles très étroites, comme *Anaerovibrio lipolytica* qui n'hydrolyse que les lipides et ne fermente que le glycérol et le fructose. Le tableau 1 résume les principales espèces bactériennes du rumen et les substrats qu'elles hydrolysent.

Tableau 1 : Substrats hydrolysés par les principales espèces bactériennes du rumen (Jarrige et al. 1995; Cuvelier et al. 2005b)

Substrats hydrolysés	Cellulose	Hémicellulose	Amidon	Pectines	Triglycérides	Protéines
Espèces bactériennes						
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	+	+	-	+	-	-
<i>Ruminococcus albus</i>	+	+	-	+		-
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	+	+	-	+		-
<i>Butyrvibrio fibrisolvens</i>	-	+	+	+		+
<i>Prevotella ruminicola</i>	-	+	+	+		+
<i>Selenomonas ruminantium</i>	-	-	+			+
<i>Streptococcus bovis</i>	-	-	+	+		+
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	-	-	+	-		+
<i>Succinomonas amylolytica</i>	-	-	-	+		
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	-	-	+	+	+	
<i>Anaerovibrio lipolytica</i>	-	-	-		+	

c. Classification phylogénétique des principaux taxons

Si l'on s'intéresse à la classification phylogénétique, les deux phyla majoritaires sont les Firmicutes et les Bacteroidetes, que l'on s'intéresse aux bactéries du contenu ruminal ou à celles attachées à l'épithélium (Sadet-Bourgeteau et al. 2010). L'établissement d'une méta-analyse exhaustive du microbiote ruminal des ovins est impossible à ce jour, mais les nombreuses données disponibles rapportent une vingtaine de phyla identifiés dans le rumen des ovins (Kim et al. 2011b).

c.1 : Les Firmicutes

Les Firmicutes sont des bactéries Gram positif divisées en six classes d'après le Catalogue of Life 2021 (Huijbers 2021) dominées par la classe des Clostridia dont les familles les plus abondantes sont les Lachnospiraceae et les Ruminococcaceae, appartenant à l'ordre des Clostridiales (Kim et al. 2011b). Dans l'étude de Kim et al. (2011), 90,6% des Firmicutes appartiennent à la classe des Clostridies, et au sein de cette classe, 23,8% et 25,8% des bactéries appartiennent respectivement aux Lachnospiraceae et aux Ruminococcaceae. Enfin, les genres principaux sont *Butyrvibrio*, *Acetivibrio*, *Ruminococcus* et *Succiniclasticum* (Kim et al. 2011b).

Comme espèces fibrolytiques et hémicellulolytiques appartenant aux Firmicutes, citons par exemple *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens*, et comme amylolytique et protéolytique, *Selenomonas ruminantium* (Sadet 2008).

c.2 : Les Bacteroidetes

Les Bacteroidetes sont des bactéries Gram négatif retrouvées dans le tube digestif de très nombreuses espèces. Ce phylum contient quatre classes d'après le Catalogue of Life 2021, avec la classe des Bacteroidia en chef de file (Huijbers 2021). L'ordre des Bacteroidales est le seul représentant de cette classe, on y trouve le genre *Prevotella*, majoritaire au sein du rumen et appartenant à la famille des Prevotellaceae (Stewart et al. 1997). Le genre *Prevotella* représente autour de 50% des Bacteroidetes du rumen et 10% (Kim et al. 2011b) à 30% des bactéries ruminales (Lopes et al. 2015). Les bactéries de ce genre possèdent des activités hémicellulolytique et amylolytique (Sadet 2008).

c.3 : Les autres phyla

Les autres bactéries du rumen appartiennent aux phyla des Proteobacteria (3 à 5%), des Actinobacteria (2,5%), et en moindre abondance des Fibrobacteres et des Spirochaetes (Whitford et al. 1998). C'est au sein des Fibrobacteres que la première espèce fibrolytique importante a été isolée en culture pure (Jarrige et al. 1995).

Le représentant le plus connu des Proteobacteria est *Escherichia coli*, une des bactéries les plus représentées dans le tractus digestif des humains. Les Proteobacteria sont divisées en six classes, toujours d'après le Catalogue of Life 2021. La plus représentée au sein du rumen est la classe des Gammaproteobacteria (Kim et al. 2011b). Elle regroupe les Aeromonadales comprenant notamment la famille des Succinivibrionaceae (Lopes et al. 2015).

C) Les bactéries impliquées dans la BH

a. Les bactéries capables d'hydrolyser les lipides

L'espèce bactérienne reconnue comme étant la plus lipolytique est *Anaerovibrio lipolytica*, qui a notamment pour substrats les triglycérides. Toutefois, les lipases qu'elle utilise n'hydrolysent ni les galactolipides ni les phospholipides (Henderson 1971). Pourtant, dans les régimes riches en fourrages, sa proportion reste importante, suggérant la possibilité qu'elle réalise d'autres activités, comme la fermentation du

glycérol (Lourenço et al. 2010). Son génome contient trois gènes codant pour des lipases, davantage actives sur les acides laurique et myristique que sur les acides palmitique et stéarique. L'abondance relative d'*Anaerovibrio lipolytica*, estimée par séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S en pourcentage des séquences totales, serait de 0,05% (Enjalbert et al. 2017).

D'autres bactéries appartenant au genre *Butyrivibrio* possèdent une activité estérase, et ont la capacité de lyser les phospholipides et les galactolipides (Hazlewood, Dawson 1979).

La production de phospholipases a notamment été observée chez une faible proportion de souches bactériennes parmi lesquelles des souches non fibrolytiques de *Butyrivibrio fibrisolvens* (Jarrige et al. 1995). Enfin, les genres *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus* et *Selenomonas* présentent une activité lipolytique (Enjalbert et al. 2017).

b. Les bactéries capables de réaliser la BH

Les études pionnières de Polan et al (1964) citent *Butyrivibrio fibrisolvens* comme l'espèce bactérienne majeure réalisant la BH de l'AL avec la formation de CLA et d'acide vaccénique, sans qu'elle soit capable de réaliser la formation d'acide stéarique (Polan et al. 1964). Elle réduit également l'AAL en intermédiaires *trans*. L'abondance relative du genre *Butyrivibrio* estimée en pourcentage des séquences totales via le gène codant pour l'ARNr 16S serait de 3 à 4%, dont 0,25% de *Butyrivibrio fibrisolvens* (Enjalbert et al. 2017). Ce n'est que plus tard que la dernière étape de transformation des C18:1*trans* en C18:0 fut attribuée à l'espèce *Butyrivibrio proteoclasticus*, proche phylogénétiquement de *Butyrivibrio hungatei* et anciennement appelée *Clostridium proteoclasticum* (Lourenço et al. 2010). *B. proteoclasticus* est le seul producteur d'acide stéarique bien défini (Maia et al. 2007; Enjalbert et al. 2017). Cette espèce ne serait présente qu'au niveau de la partie solide du rumen, y réalisant ainsi les dernières étapes de BH (Lourenço et al. 2010). En 1997, Harfoot et Hazlewood ont classé en deux groupes les différentes espèces de bactéries capables de biohydrogéner les AGI: le groupe A, composé de bactéries capables d'hydrogéner l'AL et AAL en acide vaccénique, avec notamment *Butyrivibrio fibrisolvens*, et le groupe B capable de réaliser les dernières étapes d'hydrogénation, conduisant à la saturation en acide stéarique (Harfoot, Hazlewood 1997).

La première étape de BH de l'AAL et l'AL, soit l'isomérisation en $\Delta 12$, à l'origine respectivement et majoritairement du CLA C18:3*cis*9,*trans*11,*cis*15 ou du C18:2*cis*9,*trans*11 est ainsi réalisée par *Butyrivibrio fibrisolvens*. Cependant, d'autres bactéries appartenant aux genres *Clostridium*, *Pseudobutyrvibrio*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, *Eubacteria*, *Roseburia*, *Enterococcus* et *Pediococcus* sont capables de réaliser la formation du CLA-*cis*9,*trans*11 (Enjalbert et al. 2017). D'après Maia et al. (2007), *Clostridium aminophilum* et *Mitsuokella multiacidus* participent à la formation d'AO et *Fibrobacter succinogenes* à l'acide palmitique. Il a également été démontré que des espèces bactériennes mineures comme *Megasphaera elsdenii* et *Propionibacterium acnes* produisaient du CLA-*trans*10,*cis*12 à partir d'AL (Doreau et al. 2012; Lourenço et al. 2010; Bessa et al. 2015). *Ruminococcus albus* produit également une large proportion de C18:1*trans*10 (Kemp et al. 1975; Enjalbert et al. 2017) et *Butyrivibrio fibrisolvens* serait capable de métaboliser de faibles quantités de C18:1*trans*10 (Buccioni et al. 2012). Les figures 25 et 26 synthétisent les principales espèces bactériennes impliquées dans la BH ainsi que les enzymes qu'elles utilisent.

Enzyme	Origin	Localization	Optimal pH	Amino-acids	Molecular weight (kDa)	Reference
Lipases	<i>Anaerovibrio lipolyticus</i>	Extracellular	7-4	248-492	28-56	Henderson (1971); Privé et al. (2013)
Lipase	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	8-0	-	29	Unni et al. (2016)
Lipases	Rumen metagenome	-	7-5	-	-	Liu et al. (2009); Privé et al. (2015)
$\Delta 12$ isomerase	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	Membrane	7-0-7-2	-	-	Kepler and Tove (1967)
$\Delta 9$ isomerase	<i>Propionibacterium acnes</i>	Cytosol	7-2-7-5	424	48	Deng et al. (2007); Farmani et al. (2010)
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 CLA reductase	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	Membrane	7-2-8-2	-	53	Hughes et al. (1982); Fukuda et al. (2007)

Figure 25 : Enzymes bactériennes connues comme étant impliquées dans la lipolyse et la BH (Enjalbert et al. 2017)

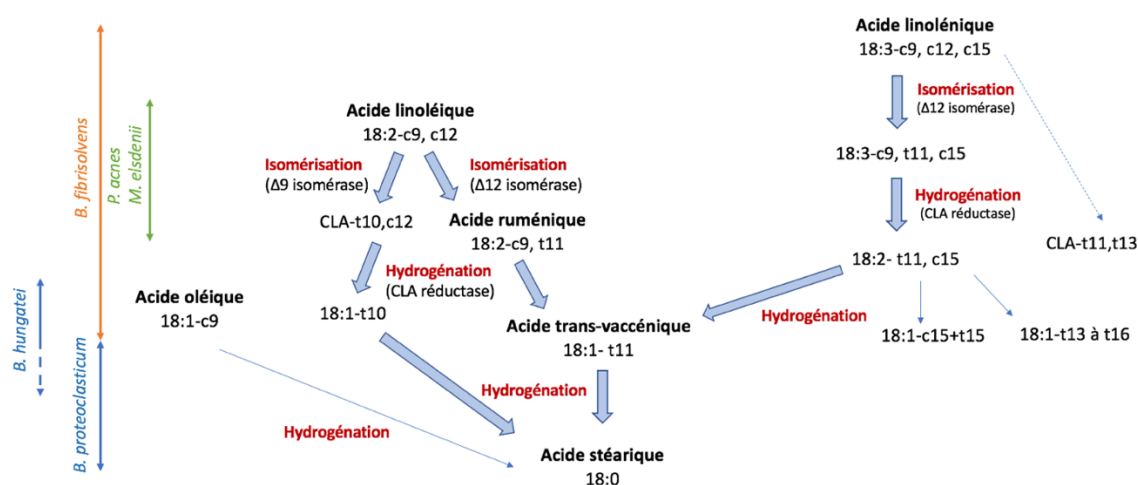


Figure 26 : Principales espèces bactériennes capables de réaliser la BH des C18 principaux (Enjalbert et al. 2017)

De nombreux facteurs de variation, principalement alimentaires, influent sur cet écosystème bactérien ruminal.

D) Facteurs de variation de l'écosystème bactérien ruminal

a. *Influence des conditions physico-chimiques du rumen*

En 1999, l'étude menée par Tajima et al. réalisée sur des vaches Prim' Holstein nourries avec une ration mixte à base de fourrages et de concentrés montre que les bactéries diffèrent qualitativement et quantitativement selon que l'on étudie la phase solide ou liquide du rumen (Tajima et al. 1999). En effet, comme décrit précédemment, le rumen est segmenté avec, de bas en haut, une phase solide, une phase liquide et une phase gazeuse et les bactéries se répartissent différemment au sein de ces phases. Dans cette étude, les Firmicutes sont majoritaires quelle que soit la phase (52% et 71% respectivement pour la phase liquide et solide), suivis des Bacteroidetes (entre 26 et 38%). Chez les ovins, la proportion de Bacteroidetes est plus importante que chez les bovins (Larue et al. 2005). Ces proportions ne sont cependant pas constantes selon les études et varient notamment selon le régime, autre source de variation du microbiote (Sadet-Bourgeteau et al. 2010). Une grande différence dans l'étude de Tajima et al. est l'absence de Proteobacteria retrouvées dans la phase solide, contre 4,7% dans la phase liquide, ce qui se justifie par une plus grande activité amylolytique et protéolytique dans la phase liquide (Tajima et al. 1999). Les variations de pH ruminal influent également sur la population bactérienne. Ces variations sont créées par des variations de régime. Lors d'une transition d'un régime fourrage vers un régime riche en concentrés, l'accumulation d'AGV synthétisés plus rapidement provoque une diminution du pH qui, selon le degré de diminution, favorise la prolifération des streptocoques, des lactobacilles et du genre *Megasphaera* qui utilisent le lactate alors que le genre *Butyrivibrio* et les autres espèces fibrolytiques sensibles aux pH faibles prolifèrent moins, entraînant une diminution de la fibrolyse (Jarrige et al. 1995). Une diminution de la taille des particules ainsi qu'un défaut de salivation entraînent également une baisse de pH. Un pH faible (inférieur à 7) inhibe l'activité de *B. fibrisolvens*, dont l'activité est optimale pour un pH entre 7 et 7,2 (Lourenço et al. 2010). Une diminution du pH influence donc négativement la BH. C'est ainsi que sous un régime contenant plus de 70 % de concentrés, les pourcentages moyens d'hydrogénation pour l'AL et l'AAL passent respectivement sous les 60 et 70 % (Doreau, Chilliard 1997). L'alimentation a une forte influence sur les proportions des

différents phyla. Classiquement, les rations les plus riches en fourrages (et par définition pauvres en concentrés) résultent en une proportion de Firmicutes plus importante tandis que les rations riches en concentrés favorisent les Bacteroidetes (Sadet-Bourgeteau et al. 2010). Cela est un peu plus variable pour les Proteobacteria. Au sein de la famille des Succinovibrionaceae, le genre *Ruminobacter* semble plutôt favorisé par une alimentation riche en fourrages et le genre *Succinivibrio* par une alimentation riche en concentrés (Belanche et al. 2019). En effet, l'espèce *Succinivibrio dextrinosolvens* est décrite comme amylolytique (Sadet 2008).

b. Influence de la teneur en AGPI

Les AGI ont un effet bactériostatique beaucoup plus important que les AGS (Lourenço et al. 2010). En effet, de nombreux AGPI ont un effet toxique envers les micro-organismes (Maia et al. 2007) et ont donc un impact sur la BH. Plus l'AG est insaturé, plus la toxicité sur les micro-organismes est importante. La configuration stérique de l'AG influe également sur cette toxicité, par exemple l'AAL est plus encombrant que l'AL. L'huile de lin, riche en AAL, inhibe ainsi davantage les bactéries fibrolytiques comme *B. fibrisolvens*, *F. succinogenes* et *Ruminococcus flavefaciens* ainsi que la production d'AGV que les autres huiles (Maia et al. 2010).

La BH, en diminuant la proportion d'AGPI, permet ainsi notamment la survie de *B. fibrisolvens* face à l'AAL, souvent présent en plus grande quantité dans les fourrages. Elle peut ainsi être vue comme un processus de détoxification, en plus d'un mécanisme d'obtention d'un pouvoir réducteur. La toxicité peut s'expliquer de plusieurs façons, mais serait davantage due à une perturbation fonctionnelle des bactéries que structurelle (Maia et al. 2010). Concernant la perturbation structurelle, les doubles liaisons des AGPI altèrent la forme des molécules en modifiant la bicouche lipidique des membranes. D'après l'étude de Maia et al. (2010), il ne s'agirait pas de la raison principale de la toxicité envers les bactéries. Une autre explication serait la modification de la force proton motrice par la diffusion passive des AG libres à travers les membranes, modifiant le potentiel membranaire en facilitant la fuite d'ions, à l'origine de déséquilibres. Enfin, l'effet majeur serait métabolique. Dans cette même étude, tous les acyl-CoEnzymeA, exceptés l'acétoacétylCoA ont diminué de plus de 96% quand de l'AL a été ajouté au milieu. Parmi les groupes de *Butyrivibrio*, les espèces les plus sensibles sont les productrices de butyrate via la butyrate kinase plutôt que via l'acylCoA transférase. *Butyrivibrio hungatei* et *Butyrivibrio*

proteoclasticus sont très sensibles à l'effet toxique des AGI (Doreau et al. 2012), et ce davantage que le reste des *Butyrivibrio* et *Pseudobutyribrio* (Lourenço et al. 2010). Une hypothèse à cette différence de toxicité serait en effet l'activité butyrate kinase, le butyrate étant leur principal produit de fermentation après l'acétate (figure 27). *B. hungatei* et *B. proteoclasticus* ont une activité butyrate kinase supérieure à 600 U/mg de protéines tandis que les autres ont une activité plus faible (Paillard et al. 2007 ; Lourenço et al. 2010). Les lactates exacerbent la toxicité de l'AL sur *Butyrivibrio proteoclasticum* (Lourenço et al. 2010).

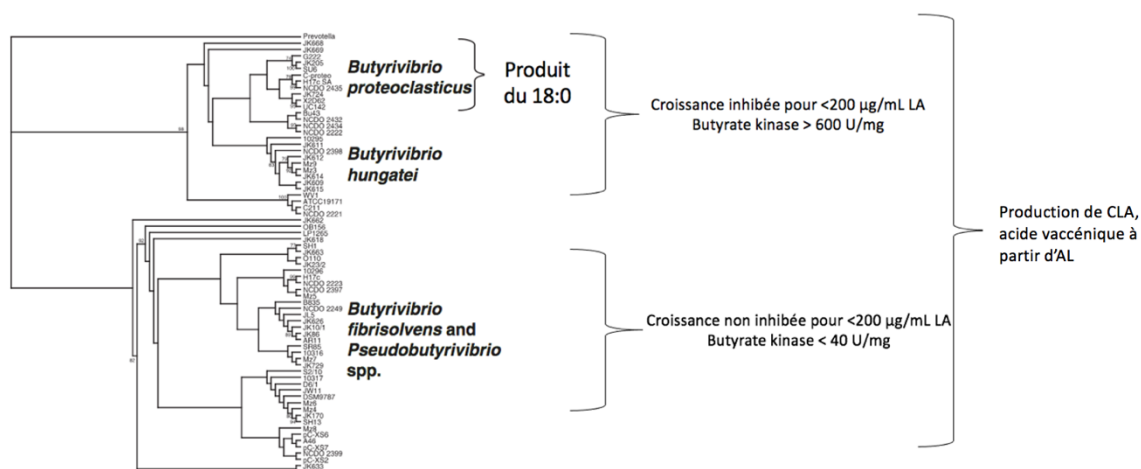


Figure 27 : Relation entre la phylogénie, la formation des produits de BH de l'AL, la sensibilité à l'AL et les mécanismes de formation du butyrate chez les *Butyrivibrio* (Lourenço et al. 2010)

D'après l'étude de Maia et al de 2007, les bactéries fibrolytiques ne se développent pas lorsque la quantité d'AGPI dépasse 50µg/mL (Maia et al. 2007). Les espèces les plus résistantes sont les membres des genres *Prevotella*, *Megasphaera*, *Selenomonas*, *Veillonella* et *Anaerovibrio*.

En définitive, l'écosystème ruminal, qui est habité par une communauté bactérienne, est soumis à de nombreuses variations qui dépendent principalement des conditions physico-chimiques du milieu ruminal mais également de la nature des aliments qui y parviennent. Si l'on s'intéresse aux lipides, ceux qui influent le plus sur le microbiote sont les AGI et notamment les AGPI qui présentent une toxicité envers les micro-organismes. La BH peut ainsi être vu comme un mécanisme de défense visant à minimiser les effets négatifs de ces AGPI sur les bactéries ruminales. Par ailleurs, plus la ration est riche en fourrages et plus la BH est importante donc plus la proportion d'AGPI à la sortie du rumen est faible. Enfin, sous un régime riche en fourrages, les

quantités d'AG n-3, d'acide vaccénique et de CLA-*cis9,trans11*, soit les AG bénéfiques en santé humaine, sont augmentées dans la viande et le lait (Lourenço et al. 2010).

Dans cette première partie, nous avons vu que la part de matières grasses dans le régime des ruminants est faible, et pourtant elles ont un rôle essentiel sur le plan nutritionnel à la fois de l'animal et des consommateurs. Des remodelages importants ont lieu dans le grand compartiment qu'est le rumen, mais aussi au cours du long parcours jusqu'à leur lieu de stockage final. Le microbiote bactérien ruminal réalise les différentes réactions de transformation des AG alimentaires, et de fait impacte le profil en AG retrouvé dans les différents tissus graisseux. Le but de notre étude est de comprendre le lien entre les performances zootechniques d'agneaux soumis à deux régimes, le profil en AG ruminiaux et le microbiote bactérien. Nous nous sommes demandé s'il existait des corrélations entre des AG ruminiaux et certaines communautés bactériennes. Nous avons également étudié la répartition de ces AG et communautés bactériennes selon le régime. Un focus a été réalisé sur deux AG majeurs, le C18:1*trans10* et le C18:1*trans11*. Enfin, le gain moyen quotidien, l'épaisseur de gras dorsal ainsi que l'épaisseur de muscle des agneaux en fin de chaque phase alimentaire ont été mesurés et reliés aux proportions d'AG ruminiaux et d'espèces bactériennes.

Partie 2 : Performances zootechniques des ovins de l'étude soumis à deux régimes, profils en AG et lien avec les bactéries du rumen

I) Présentation de l'étude

A) Présentation du projet dans lequel s'inscrit mon étude

L'étude que j'ai menée dans le cadre de ma thèse s'inscrit dans un projet de l'Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) dont le but principal est de comprendre le lien entre l'activité des micro-organismes présents dans le rumen, le métabolisme de l'hôte et l'efficacité alimentaire d'agneaux mâles de race Romane. L'efficacité alimentaire consiste à évaluer la quantité d'aliments nécessaires pour obtenir une unité de produit animal (viande, œuf, lait) (Cantalapiedra-Hijar et al. 2020).

Plus spécifiquement, le projet vise à maintenir les productions ovines carnées tout en limitant les intrants alimentaires, les rejets de polluants dans l'environnement et la compétition pour les ressources utilisées par l'Homme. L'intérêt de cette étude est donc à la fois économique, le coût de l'alimentation par brebis représentant environ 70% des coûts totaux en élevage ovin (Raineri et al. 2015), et environnemental, le rejet de gaz à effet de serre issus des productions animales représentant 9 à 11% des gaz à effet de serre rejetés totaux (Gerber et al. 2015).

B) Présentation de la race ovine Romane et du mode de sélection des individus participant à l'étude

Mon étude s'intéresse plus particulièrement aux AG longs produits et transformés au sein du rumen par l'intervention du microbiote.

Les agneaux participant à l'étude sont des agneaux mâles de race Romane. Ils font partie de deux lignées sélectionnées de façon divergente sur la consommation résiduelle. La consommation alimentaire résiduelle correspond à la différence entre l'ingestion réelle et l'ingestion théorique, autrement appelée « Residual Feed Intake » (RFI). Une consommation résiduelle négative caractérise les animaux les plus efficaces et une consommation résiduelle positive les plus inefficaces. Les lignées divergentes permettent de maximiser les écarts entre animaux : il y a sélection des « très bons » (rfi -) et des « très mauvais » (rfi +).

Chaque année, l'unité expérimentale de La Sapinière phénotype des agneaux Romane pour leurs aptitudes bouchères et leur consommation résiduelle. Dès 90 jours d'âge, soit après sevrage, les agneaux sont étudiés sur une période de 6 semaines durant laquelle ils sont pesés (au début et à la fin du contrôle) et échographiés (au milieu et à la fin du contrôle) au niveau du muscle *longissimus dorsi* afin de mesurer les épaisseurs de muscle et de gras dorsal. La Consommation Moyenne Journalière (CMJ) en concentrés est enregistrée grâce à des distributeurs automatiques de concentrés (DAC) présents dans chaque lot et offrant une alimentation *ad libitum*. Le Gain Moyen Quotidien (GMQ) est calculé grâce à ces mesures. La consommation résiduelle, ou RFI, critère d'efficacité alimentaire et de sélection génétique, est obtenue par une régression linéaire. Il s'agit du résidu de la régression linéaire multiple de la consommation par les différents facteurs de production : $CMJ = \mu + \alpha_1 P^{0,75} + \alpha_2 GMQ + \alpha_3 EpGrasDorsal + \alpha_4 EpMuscle + RFI$.

D'autres informations concernant le comportement alimentaire sont fournies par le DAC, à savoir la quantité de concentrés ingérée par visite, la durée des visites, le nombre de visites par jour ainsi que l'intervalle de temps entre chaque visite.

Un index génétique est ainsi déterminé sur les animaux de l'étude sur la base des performances des animaux et de leurs apparentés.

En 2013 et 2014, des mâles extrêmes sur leur valeur génétique pour la RFI ont été sélectionnés et croisés avec des brebis Romanes non sélectionnées, ce qui a donné la première génération des lignées divergentes (2015-2016). Notre étude porte sur les générations 2 (2017-2018) et 3 (2019-2020), issues respectivement des générations 1 et 2.

La brebis Romane, aussi appelée INRA 401, est issue d'un croisement entre la race Romanov, originaire de Russie, utilisée pour sa prolificité élevée, et la race Berrichon du Cher, utilisée pour sa productivité bouchère (figure 28). La race combine ainsi ces deux propriétés (*France génétique Elevage - Romane 2015*).



Figure 28 : Bélier Berrichon du Cher (gauche), brebis Romanov (milieu) = brebis Romane (INRA 401) (droite) (*France génétique élevage ; Geode*)

C) Présentation générale du protocole de l'étude réalisée sur les générations issues de la sélection génétique

Les agneaux des G2 et G3 ont suivi le même protocole de contrôle individuel au DAC que décrit précédemment. Autour de 10 semaines d'âge, une centaine d'agneaux sont allotés par 15 à 20 dans 5 à 8 enclos, avec un DAC par enclos (figure 29). Après 2 semaines d'adaptation, les différents facteurs zootechniques évoqués précédemment sont mesurés pendant environ 6 semaines, durant lesquelles les moutons ont un régime alimentaire 100% à base de concentrés. Suite à cette première phase, autour de 18 semaines d'âge, il y a conservation d'une soixantaine d'agneaux sélectionnés sur leur valeur génétique « extrême ». Une transition alimentaire est réalisée, avec un passage à 24 semaines d'âge à une alimentation constituée d'un tiers de concentrés (≈ 700 g de concentrés) et deux tiers de foin de dactyle distribué grâce à des Distributeurs Automatiques de Fourrage (DAF), dont le principe est basé sur la pesée en continu de l'auge dont l'accès est contrôlé par l'identification des animaux (figure 30). À chaque visite d'un individu dans le DAF, la quantité ingérée est déduite de différences de pesées entre le début et la fin de la visite. La période de mesure au DAF dure 6 semaines également. À l'issue de chaque période de contrôle (DAC et DAF), des prélèvements de contenus ruminiaux par sonde sont réalisés pour étudier le microbiote et le métabolome, avec notamment les AG longs et volatils, par des méthodes que nous allons détailler.

Pendant la phase DAC, le régime était constitué à 100% de concentrés commerciaux contenant de la pulpe de betterave, du son de blé, de l'orge, du maïs, des tourteaux de colza et de tournesol ainsi que des granulés de luzerne. Pendant la phase DAF, les concentrés étaient constitués d'un mélange de blé, orge, son de blé et farine de colza. Les compositions chimiques des aliments ont été déterminées selon les mesures de l'Association des Chimistes Analytiques Officiels (Association of Official Analytical Chemists 1998). La fibre détergente neutre a été déterminée selon les mesures de Van Soest et al. (1991) (Van Soest et al. 1991). Les résultats des analyses sont présentés dans le tableau 2. Les compositions en AG dans les concentrés et fourrages des différentes phases sont détaillées dans le tableau 3.

Tableau 2 : Composition chimique des aliments pour les années 2018, 2019 et 2020 (C = Concentré ; F = Fourrages ; C1 = Concentrés de la phase 1 soit la phase d'alimentation 100% à base de concentrés ; C2 = Concentrés de la phase 2 soit la phase d'alimentation avec 1/3 de concentrés et 2/3 de fourrages)

	C1_2018	C1_2019	C1_2020	C2_2018	C2_2019	C2_2020	F_2018	F_2019 (été)	F_2019 (automne)	F_2020 (automne)
Matière sèche (g/kg)	905	888	883	882	874	894	914	914	916	900
Protéine brute	17,3	17,7	17,6	18,2	18,4	17,6	6,5	8,6	6,7	9,4
Fibre brute	14,9	14,7	14,5	10,9	10	10,2	37,3	35,5	35,6	38,0
Graisse brute	1,9	3,4	2,5	4	0,35	3,6				

Tableau 3 : Pourcentages des principaux AG dans les aliments concentrés (CON) et fourrages (FOR) en pourcentage des AG totaux, pour les années 2018, 2019 et 2020 ; Ph1 = Phase 1 soit la phase d'alimentation 100% à base de concentrés, Ph2 = Phase 2, soit la phase d'alimentation avec 1/3 de concentrés et 2/3 de fourrages

	CON18-Ph1	CON18-Ph2	CON19-Ph1	CON19-Ph2	CON20-Ph1	CON20-Ph2	For-2018-Ph2rep	For-2019-Ph2rep	For-2020-Ph2rep
	% of total FA								
C14:0	0.42	0.34	0.26	0.11	0.14	0.21	0.56	0.61	0.43
C16:0	32.30	21.73	25.91	21.42	18.94	19.17	26.17	18.23	19.93
C16:1t3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.78	0.88	1.09
C16:1c9	0.68	0.93	0.40	1.55	1.00	0.21	0.00	0.00	0.00
C18:0	8.02	4.94	5.14	4.02	2.19	1.85	5.83	5.13	5.48
C18:1c9	32.76	34.83	29.48	25.06	22.53	19.90	5.28	5.73	6.09
C18:1c11	2.08	2.79	1.99	2.33	2.48	1.21	0.41	0.68	0.59
C18:2n-6	19.34	29.37	31.91	39.51	47.68	51.77	14.10	11.55	14.34
C20:0	0.61	0.52	0.45	0.37	0.19	0.27	0.96	1.85	2.11
C18:3n-3	1.59	2.67	2.80	3.25	3.33	4.10	30.82	17.44	20.69
C20:1	0.64	0.62	0.56	0.32	0.61	0.59	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.59	0.53	0.47	0.63	0.29	0.26	1.27	1.14	1.26
C24:0	0.62	0.49	0.44	0.89	0.42	0.25	3.91	1.78	2.14
Aldehyde-26:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.10	21.42	14.92
C26:0	0.35	0.24	0.20	0.52	0.22	0.21	1.63	4.98	4.14
Aldehyde-28:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.65	5.41	4.08
C28:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.51	3.16	2.70
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Il n'y a pas de différences entre la quantité d'AL et d'acide stéarique entre les deux régimes pour les trois années cumulées. En revanche, le régime DAF comporte plus d'AAL, de C26:0 et de C28:0 en plus de la présence de deux aldéhydes comptant 16 et 28 carbones dans le fourrage. À l'inverse, le régime DAC comporte plus d'AO. Le profil en AG de l'aliment est un facteur à prendre en compte dans l'étude des variations des profils en AG ruminiaux.



Figure 29 : Un agneau au distributeur automatique de concentrés



Figure 30 : Un distributeur automatique de fourrages

II) Matériel et méthodes

A) Prélèvement de contenu ruminal et échantillonnage

Le prélèvement de contenu ruminal se fait par aspiration à travers une sonde œsophagienne via une pompe à vide (figure 31). L'animal est contenu de sorte à éviter les blessures. Les moutons sont normalement à jeun depuis la veille au soir. La sonde est rincée à l'eau chaude entre chaque animal et la pompe ne fonctionne qu'au moment où la sonde atteint le cardia, afin de limiter la contamination salivaire. Une fois prélevé, le contenu ruminal est identifié et échantillonné au sein d'un microtube de 2 μ L destiné au séquençage du gène codant l'ARN ribosomal 16S et d'un pot de 60 mL pour l'analyse des AG longs du rumen par chromatographie en phase gazeuse (CPG). Juste après échantillonnage, les tubes destinés à l'analyse du microbiote sont placés dans de l'azote liquide puis transférés dans un congélateur à -80°C . Les échantillons destinés à l'analyse par CPG sont conservés dans de la glace carbonique puis transférés dans un congélateur à -20°C .



Figure 31 : Prélèvement de contenu ruminal à l'unité expérimentale P3R de Bourges (INRAE)

B) Analyse des AG longs par CPG

a. Préparation des échantillons

L'analyse des AG longs par CPG a été adaptée de la méthode de Sousa et al. (2013) et menée au laboratoire de productions animales de la faculté de médecine vétérinaire de Lisbonne (FMV Lisboa) (Sousa et al. 2013).

Les échantillons de contenu ruminal ont d'abord été lyophilisés, et 250 mg de ce contenu ont été introduits dans des tubes en verre sertis de bouchons en téflon afin d'éviter l'évaporation des AG lors de l'incubation. À ces tubes ont été ajoutés 1 mL de toluène et 1 mL d'un standard interne d'acide nonadécanoïque (C19:0) à la concentration d'1 mg/mL dans de l'hexane. Les tubes ont ensuite été placés dans un sonicateur pendant 10 minutes afin de favoriser la dissolution des composés hydrophobes du lyophilisat dans les solvants apolaires. L'étape suivante est la méthylation en deux temps : d'abord par catalyse basique puis acide, l'objectif étant d'obtenir des esters méthyliques d'AG (EMAG). Pour cela, 2 mL de méthanolate de sodium à 0,5 mol/L ont été ajoutés aux tubes, agités pendant 10 secondes puis placés dans un bain-marie à 50°C pendant 15 minutes. Après refroidissement à température ambiante, 3 mL d'une solution d'acide chlorhydrique à 1,25 mol/L dans du méthanol ont été ajoutés dans les tubes. L'ensemble a à nouveau été agité de façon régulière à 40 mouvements par minute dans un bain-marie à 80°C pendant 20 minutes. Après refroidissement, 2 mL d'une solution aqueuse de carbonate de potassium (K₂CO₃) à 6% ont été ajoutés. Cet ajout présente le double intérêt de neutraliser l'échantillon et de le séparer en deux phases, une phase aqueuse de densité supérieure, et une phase organique contenant les EMAG, par la formation d'un précipité. Afin de protéger les EMAG de l'oxydation, 2 mL de n-hexane contenant 25 mg/L d'hydroxytoluène butylé (BHT) ont été introduits dans les tubes. Ces derniers ont ensuite été agités puis centrifugés à 350 g pendant 5 minutes à température ambiante afin de récupérer le surnageant dans un nouveau tube contenant 0,5 g de sulfate de sodium anhydre. La récupération du surnageant après ajout de n-hexane, agitation et centrifugation, a été réalisée une seconde fois et le surnageant récupéré la deuxième fois a été ajouté au premier, puis les tubes les contenant ont été agités. Le rôle du sulfate de sodium anhydre est d'éliminer les potentiels résidus aqueux. La phase liquide a ensuite été transférée dans des tubes en verre pour évaporation de l'hexane sous flux constant de diazote à 37°C. À l'issue de cette évaporation, le contenu des tubes a été re-suspendu dans 1 mL d'hexane et transféré dans des flacons d'injection. L'ensemble des étapes est résumé dans la figure 32.

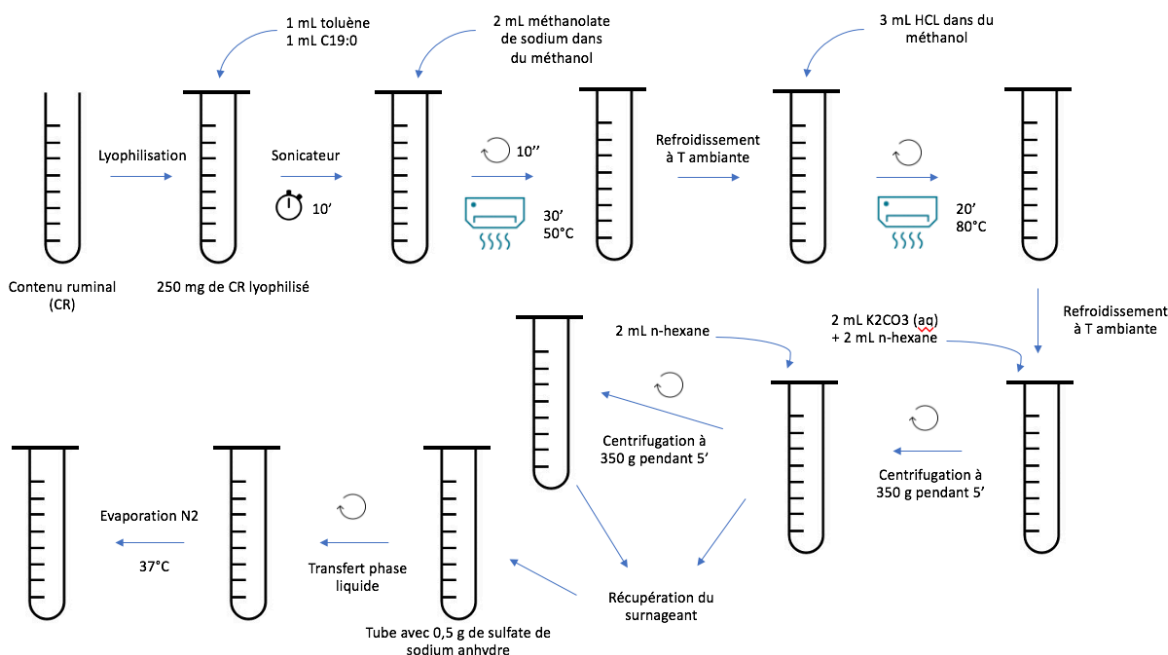


Figure 32 : Préparation des échantillons destinés à l'analyse des AG longs par CPG

b. Analyse chromatographique

Une fois les échantillons préparés, les EMAG ont été analysés par un chromatographe Shimadzu GC 2010 Plus (Shimadzu, Kyoto, Japon) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. Les températures de l'injecteur et du détecteur étaient respectivement de 250°C et 280°C. Au cours du processus, une température de 50°C a été maintenue pendant une minute puis augmentée progressivement de 50°C/minute jusqu'à 150°C, maintenue à cette température pendant 20 minutes puis augmentée progressivement de 1°C/minute jusqu'à 190°C puis de 2°C/minute jusqu'à 220°C et maintenue à cette température pendant 40 minutes. La séparation a été réalisée sous flux constant d'hélium à 1 ml/minute avec un split ratio de 50:1 ou de 100:1 selon la concentration initiale des échantillons.

c. Intégration des échantillons

Les échantillons ont été intégrés à partir des temps de rétention obtenus par CPG couplée à de la spectrométrie de masse (GC-MS) permettant une séparation efficace des composés d'un échantillon et leur identification grâce à leur rapport masse/charge. Cette intégration a été réalisée à l'aide du logiciel GCsolution (Shimadzu, Kyoto, Japon). Les aires obtenues ont été corrigées en fonction de la réponse relative obtenue à partir de dilutions en série de standards de concentration connue ramenée à la réponse de l'acide gras le plus concentré, à savoir l'acide stéarique (C18:0). Les

réponses relatives obtenues sont d'autant plus proches de 1 que le nombre de carbones du methyl-ester d'AG dosé est proche de la référence choisie, avec une réponse relative plus faible pour un nombre inférieur de carbones et une réponse plus forte pour un nombre plus élevé de carbones du fait de la différence de polarité entre les différentes molécules. Entre l'ester d'acide laurique (C12:0) et l'ester d'acide montanique (C28:0), les réponses relatives sont comprises entre 0,93 et 1,06 donc les coefficients de correction, qui sont l'inverse des réponses relatives sont compris entre 1,08 et 0,94. C'est ainsi qu'un coefficient de correction de 1, équivalent à la moyenne des coefficients de correction, a été appliqué pour les esters méthyliques d'acides gras dont nous ne disposons pas de standard. Une fois les aires corrigées obtenues, les concentrations des différents EMAG dans l'échantillon initial ont été déterminées par la formule $C_x = (A_x / A_{si}) \times C_{si}$ avec C_x et C_{si} les concentrations de l'EMAG et du standard interne (C19:0) et A_x et A_{si} leurs aires respectives.

C) Analyse de la communauté microbienne ruminale par séquençage du gène codant l'ARNr 16S

a. *Extraction et amplification*

Une fois prélevés, les échantillons de contenu ruminal destinés au séquençage du gène codant l'ARNr 16S ont été stockés à -80°C jusqu'à l'extraction de l'ADN conformément au kit « ZR-96 Soil Microbe DNA Kit » (Zymo Research, Irvine, États-Unis d'Amérique). L'ADN purifié a ensuite subi diverses dilutions et centrifugations avant d'être amplifié. L'amplification du gène codant l'ARN 16S pour identification des bactéries ruminales s'est faite avec les amorces suivantes : CTTCCCTACACGACGCYCYCCGATCTGTGYCAGCMGCCGCGGTA (Forward) et GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTCCCGYCAATTCMTTRAGT (Reverse).

Une fois la polymérisation réalisée, la présence d'ADN a été vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose avec tampon TBE (Tris, Borate, EDTA). La présence d'une bande de migration dans tous les échantillons et d'une absence de bande pour le témoin négatif a permis de valider l'amplification. Les échantillons amplifiés, ou amplicons, ont ensuite été ajoutés à une plateforme de séquençage GeT-PlaGE où une deuxième amplification a été réalisée en utilisant des amorces présentant une séquence-étiquette différente pour chaque puits, permettant de marquer chaque échantillon. À l'issue de cette seconde amplification, les échantillons ont été groupés

et séquencés en une seule fois sur un séquenceur Miseq (Illumina, San Diego, États-Unis d'Amérique).

b. Traitement bio-informatique

b.1. : Pré-traitement

Le séquençage permet d'obtenir des lectures d'environ 250 nucléotides qui ont été traitées à l'aide du logiciel FROGS (Find Rapidly OTUs with Galaxy Solution) (Escudé et al. 2018). FROGS est un logiciel développé par l'INRAE de Toulouse et Sigenae permettant de produire une table d'abondance des OTUs avec leur affiliation taxonomique (Falentin et al. 2019). Une OTU (Operational Taxonomic Unit) est une unité taxonomique opérationnelle permettant de regrouper des séquences présentant un certain pourcentage de similarité ou de divergence d'après les bases nucléiques qui les composent. L'affiliation taxonomique des OTUs 16S est généralement bien précise jusqu'au niveau du genre et parfois jusqu'à l'espèce (Falentin et al. 2019).

Les lectures obtenues grâce aux amorces « Forward » et « Reverse » ont été jointes pour former des séquences plus longues, par recouplement. La longueur totale de la séquence, entre 400 et 500 nucléotides, équivaut ainsi à la somme des longueurs des fragments amputée de la zone de superposition. Cette étape, que l'on nomme déréplication, permet de regrouper toutes les séquences identiques et de compter le nombre d'occurrences de la séquence. Ensuite, les séquences dérépliquées ne contenant pas les bonnes amorces, celles contenant des nucléotides ambigus ou celles ne présentant pas la bonne longueur (trop courtes ou trop longues) ont été éliminées.

b.2. : Clustering

Vient enfin l'étape dite de clusterisation. Les séquences sont regroupées selon leur degré d'identité. Une approche classique est de considérer une séquence comme le centroïde d'une unité taxonomique opérationnelle (OTU) et de comparer les autres séquences à celle-ci en considérant un seuil global de différence, t , à partir duquel la séquence sera rejetée de l'OTU (figure 33a). Ce seuil est généralement de 3% lorsque les OTU se veulent représentatives d'espèces mais quelques auteurs préconisent de le réduire à 1%. Le principal défaut de cette méthode est l'absence de réévaluation du centroïde qui rend la clusterisation sensible au choix de la première séquence. On voit sur la figure 33a que deux séquences très proches peuvent être placées dans deux

OTUs différentes avec cette méthode. La méthode utilisée dans le logiciel FROGS est appelée SWARM (Mahé et al. 2014). Elle considère les amplicons comme des éléments appartenant à un espace et définit les distances entre deux séquences par le nombre de nucléotides qui diffèrent entre les deux (figure 33b). Une OTU est créée à partir de la première séquence, puis toutes les séquences présentant moins de d différences sont agglomérées au cluster et deviennent des nouveaux points de départ. Comme la séquence choisie comme point de départ ne reste pas nécessairement au centre du cluster, cette méthode est indépendante du tirage initial.

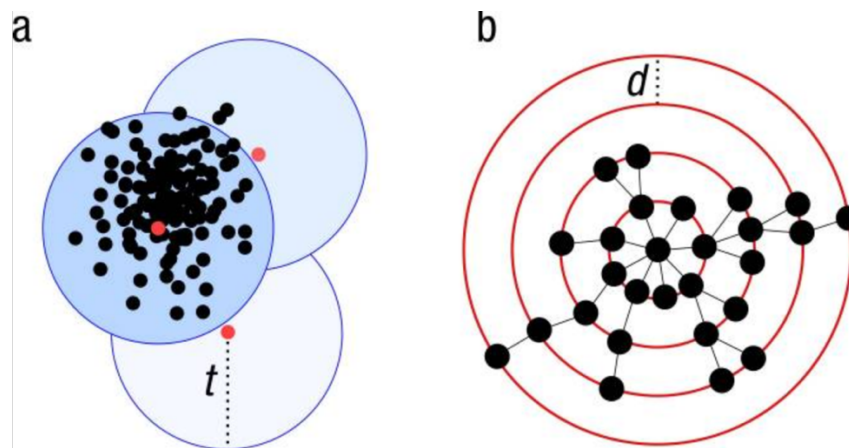


Figure 33 : (a) Méthode de clustering reposant sur la définition d'un centroïde et de seuils d'apparement ; (b) Méthode Swarm reposant sur l'exploration d'un espace d'amplicons (Mahé et al. 2014)

Ainsi, en considérant les possibles erreurs de séquençage et les mutations ponctuelles, un cluster et donc une unité taxonomique opérationnelle correspond à une espèce bactérienne.

b.3. : Nettoyage des chimères

Une étape importante est l'élimination des chimères, formées au cours du processus de polymérisation lorsqu'un fragment d'ADN issu d'une réplication avortée sert d'amorce au cycle suivant. Une séquence chimérique se forme ainsi lorsque la séquence en cours d'élongation se détache de sa matrice et se ré-hybride à un brin matrice différent lors des cycles suivants (figure 34).

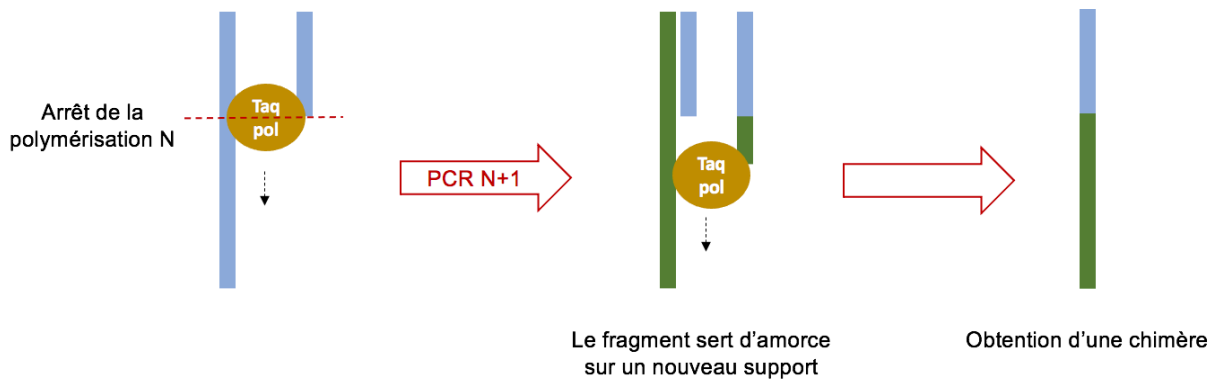


Figure 34 : Schéma explicatif de la chimérisation lors d'une polymérisation en chaîne

Une chimère contient ainsi une partie de séquence appartenant à une espèce A et une partie de séquence appartenant à une espèce B. Pour les éliminer, le logiciel FROGS procède à une validation croisée grâce à la fonctionnalité VSEARCH. Une séquence sera considérée chimérique uniquement si les fragments composants l'hybride et identifiés à l'aide d'une base de données faisaient aussi partie de l'échantillon (Escudié et al. 2018; Falentin et al. 2019).

b.4. : Filtration

À l'issue de la construction des OTUs, l'étape de filtrage sert à éliminer les clusters selon leur abondance. En effet, les OTUs de faible abondance sont majoritairement des chimères ou des lectures avec des erreurs de séquençage (Falentin et al. 2019). Bokulich et ses collaborateurs recommandent l'utilisation d'un seuil à 0,005% du total des séquences pour déterminer les clusters qui seront laissés de côtés et considérés artéfactuels (Bokulich et al. 2013).

b.5. : Assignation taxonomique

Les clusters ainsi formés sont affiliés grâce aux données taxonomiques contenues dans la banque de séquences Silva (version 132). Silva est une des banques de référence d'ARNr 16S les plus riches et est mise à jour très fréquemment (Falentin et al. 2019).

À l'issue de ce processus, on obtient une table d'abondance d'OTUs par échantillon. La quantité de séquences obtenues par échantillon est variable et dépend des caractéristiques de celui-ci. Par exemple, la contamination salivaire lors des prélèvements ruminants est source de variations.

La figure 35 résume les différentes étapes de traitement bioinformatique.

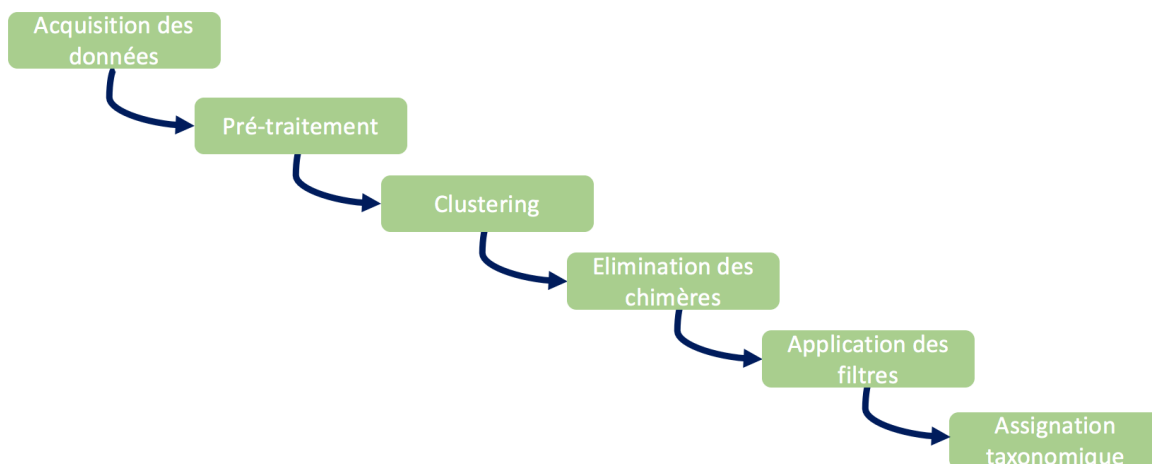


Figure 35 : Représentation schématique du pipeline bioinformatique appliqué aux données de séquençage

D) Méthodes d'analyse des profils en AG ruminiaux

a. Pourcentage de biohydrogénation

Pour évaluer l'avancée de la BH, soit le pourcentage de BH, nous avons utilisé la formule suivante, d'après Francisco et al. :

$$BC(\%) = \left(\frac{18 : 0r}{(c9, 18 : 1d - c9, 18 : 1r) + (18 : 2n6d - 18 : 2n6r) + (18 : 3n3d - 18 : 3n3r) + 18 : 0d} \right) \times 100$$

avec 18:0r le pourcentage de 18:0 parmi les C18 totaux, c9,18:1d/r, 18:2n6d/r et 18:3n3d/r les pourcentages respectivement de C18:1c9, C18:2n-6 et C18:3n-3 dans l'aliment ou dans le rumen parmi les C18 totaux ; 18:0d le pourcentage de C18:0 dans l'aliment parmi les C18 de l'aliment (Francisco et al. 2019).

b. Sélection des extrêmes trans10 et trans11

Pour les trois années étudiées, 161 moutons sont passés au DAF après avoir passés l'étape du DAC. Nous avons ainsi réalisé deux prélèvements sur ces moutons, à l'issue de chaque phase. Sur ces 161 individus, nous avons sélectionné les extrêmes pour les deux AG ruminiaux d'intérêt, le C18:1trans10 et le C18:1trans11, sous les deux régimes (figures 36 et 37). Pour chacun des régimes, deux groupes ont été mis en évidence : le groupe 1 qui regroupe les individus présentant une forte proportion de trans10 dans le rumen par rapport aux autres, et le groupe 2 qui regroupe ceux ayant une forte proportion de trans11 par rapport aux autres. Le seuil de sélection de ces extrêmes a été fixé au troisième quartile. Le groupe 1 comprend les individus dont la

proportion de *trans10* est supérieure à 18,3 et le groupe 2 comprend les individus dont la proportion de *trans11* est supérieure à 3,75. On exclut les individus qui appartiennent aux deux groupes (figure 36).

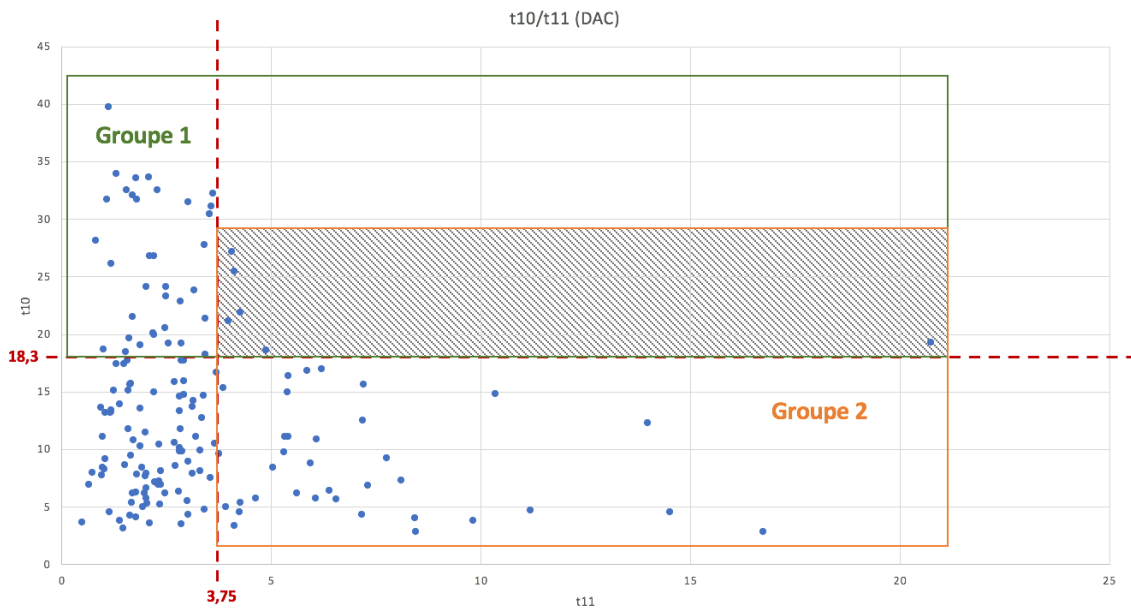


Figure 36 : Proportion de *trans10* en fonction de celle en *trans11* sous DAC pour les 161 moutons ayant subi 2 prélèvements et sélection des extrêmes

Nous avons effectué la même sélection d'extrêmes sous DAF (figure 37).

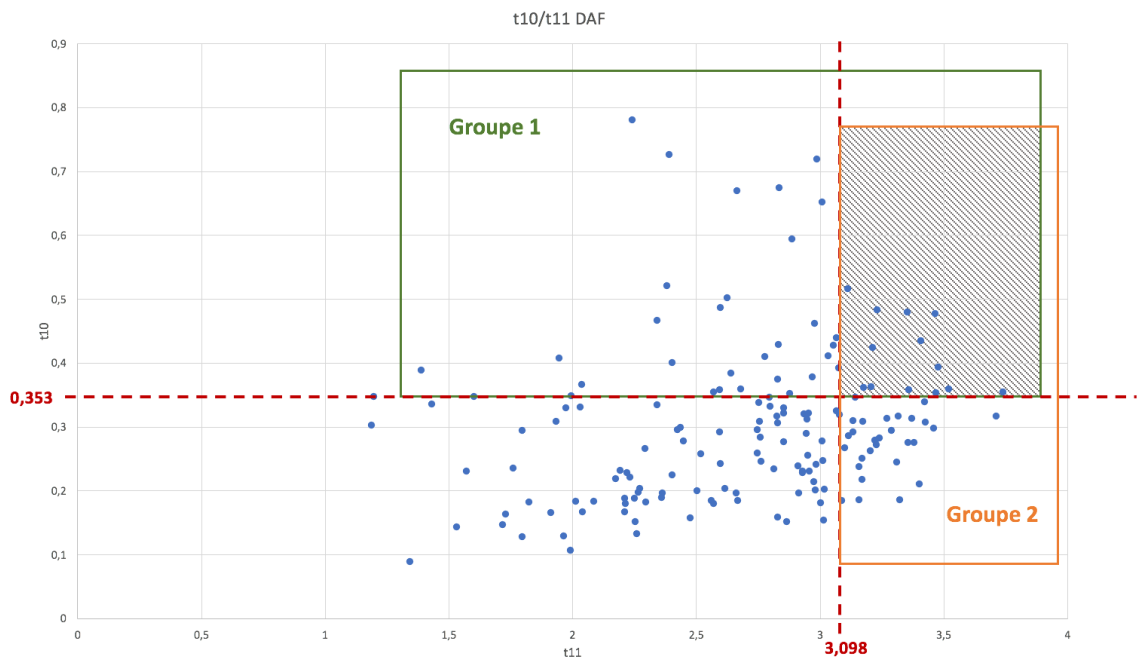


Figure 37 : Proportion de *trans10* en fonction de celle en *trans11* sous DAF pour les 161 moutons ayant subi 2 prélèvements et sélection des extrêmes

D) Méthodes d'analyses des données sur R studio

a. *Analyse en Composante Principale (ACP)*

Différentes Analyses en Composante Principale (ACP) ont été réalisées avec la fonction `pca()` du package `mixOmics` sur R studio. L'ACP permet de résumer l'information contenue dans un jeu de données en variables synthétiques appelées composantes principales. Ces composantes maximisent la variabilité du jeu de données de manière simple, sur 2 ou 3 axes. Les cercles de corrélation des variables les plus discriminantes ont été réalisés en utilisant un seuil de 0,7.

b. *PLS-DA*

La régression des moindres carrés partiels (PLS) combine les caractéristiques de l'ACP et de la régression multiple. Elle est souvent utilisée lorsque l'on veut prédire un ensemble de variables dépendant d'un nombre important de variables explicatives. La PLS-DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis) est une extension de la régression PLS dédiée à la prédiction d'une variable qualitative. Son utilisation s'est faite via la fonction `plsda()` du package `mixOmics`.

c. *sPLS*

Cette méthode permet de mettre en relation deux groupes de variables quantitatives. La fonction utilisée est `sPLS()` du package `mixOmics`. On peut ainsi réaliser un réseau montrant les plus fortes corrélations entre les variables d'un groupe et celles d'un autre groupe. Les seuils ont été choisis en fonction de la corrélation maximale afin de présenter les corrélations principales mises en évidence.

A l'issue des `sPLS`, des matrices de corrélation ont été réalisées via la fonction `network()` du package `mixOmics`. Nous avons gardé uniquement les clusters dont les proportions sont supérieures à 10% du total, les corrélations supérieures en valeur absolue à 0,3 et dont la p-valeur corrigée pour les tests multiples par la méthode FDR (False Discovery Rate) est significative, soit supérieure à 0,05.

Enfin, assez classiquement, des tests de Student ont été réalisés, avec un seuil de confiance à 95%.

III) Résultats

A) Proportions des principaux taxons comparées sous les deux régimes

Quel que soit le régime, les deux phyla prédominants sont les Firmicutes et les Bacteroidetes, avec un rapport Bacteroidetes/Firmicutes de 51/46 sous le régime DAC contre 46/52 sous le régime DAF (figure 38). La consommation de fourrages entraîne ainsi une légère augmentation de la proportion de Firmicutes (p -valeur = $7,6 \cdot 10^{-11}$), même si les proportions des deux phyla principaux sont à peu près équivalentes. Le phylum des Actinobacteria est le troisième phylum majoritaire sous le régime DAC, bien que nettement inférieur aux deux premiers, avec une proportion de 2%. On répertorie 15 phyla au total.

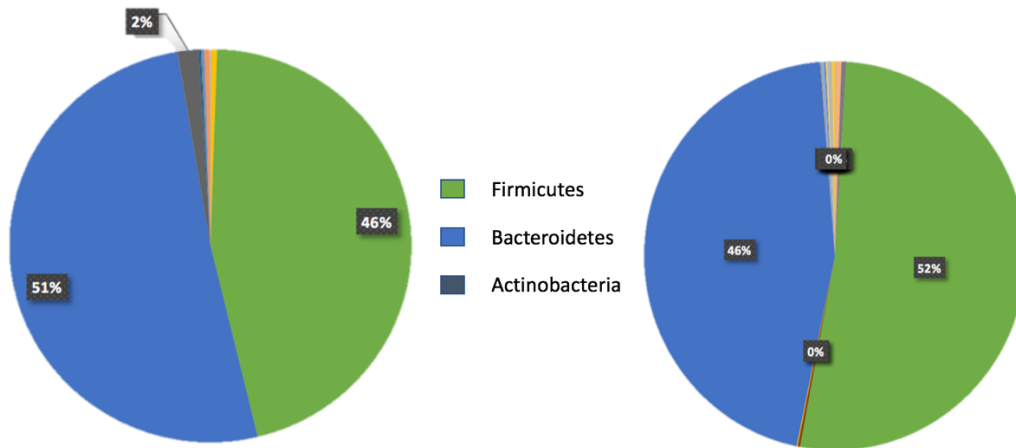


Figure 38 : Proportion des phyla sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) pour les trois années de l'étude. Phyla non représentés dans la légende et de proportions faibles : Planctomycetes, Verrucomicrobia, Fusobacteria, Proteobacteria, Synergistetes, Lentisphaerae, Tenericutes, Cyanobacteria, Fibrobacteres, Spirochaetes, Chloroflexi, WPS_2

En parallèle de la diminution des Bacteroidetes et de l'augmentation des Firmicutes sous le régime à base de fourrages, la proportion de la seule classe du premier phylum diminue de 51% à 46% (p -valeur = $2,8 \cdot 10^{-9}$) et celle des Clostridia, classe majoritaire des Firmicutes, augmente de 38% à 47% (p -valeur = $7,7 \cdot 10^{-19}$), respectivement du régime DAC au DAF (figure 39). Trois autres classes ont une proportion supérieure à 2% sous le régime DAC, il s'agit des Coriobacteriia (2%) appartenant au phylum des Actinobacteria, des Negativicutes (4%) et des Erysipelotrichia (4%), tous deux appartenant au phylum des Firmicutes. Seule la proportion des Negativicutes reste à peu près stable sous le régime DAF (5%), les autres diminuant. La dernière classe des Firmicutes, soit celle des Bacilli, a une proportion inférieure à 1%.

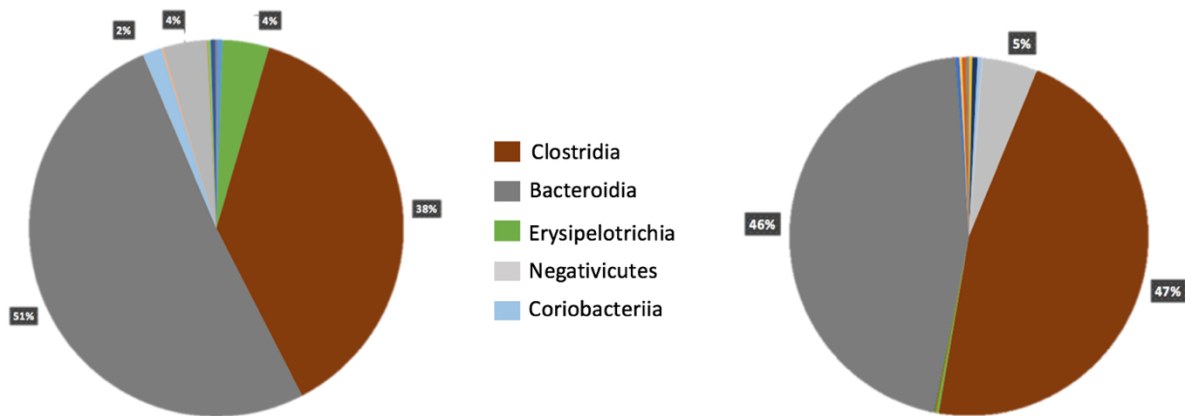


Figure 39 : Proportion des différentes classes sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) pour les trois années de l'étude. Classes non représentées dans la légende et de proportions faibles : *Planctomycetacia*, *Verrucomicrobiae*, *Fusobacteriia*, *Bacilli*, *Gammaproteobacteria*, *Synergistia*, *Lentisphaeria*, *Mollicutes*, *Melainabacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Fibrobacteria*, *Spirochaetia*, *Anaerolinea*, *unknown_class*

La classe des Bacteroidia, appartenant au phylum des Bacteroidetes tout comme les quatre classes appartenant au phylum des Firmicutes, n'ont qu'un seul ordre pour représentant. On retrouve donc logiquement les mêmes proportions de Bacteroidales, Clostridiales, Selenomonadales et Erysipelotrichales que celles respectivement des Bacteroidia, Clostridia, Negativicutes et Erysipelotrichia sous les deux régimes.

Intéressons-nous maintenant aux familles des deux principales classes de bactéries. Chez les Bacteroidales, onze familles ont été répertoriées dans nos échantillons, avec une très nette majorité de Prevotellaceae (97% sous le régime DAC, 72% sous le régime DAF ; p -valeur = $2,4 \cdot 10^{-85}$). Le recul des Prevotellaceae sous le régime à base de fourrages se fait notamment au profit de la famille F082 qui passe de 1% à 14% sous le régime DAF (p -valeur = $4,1 \cdot 10^{-70}$) (figure 40).

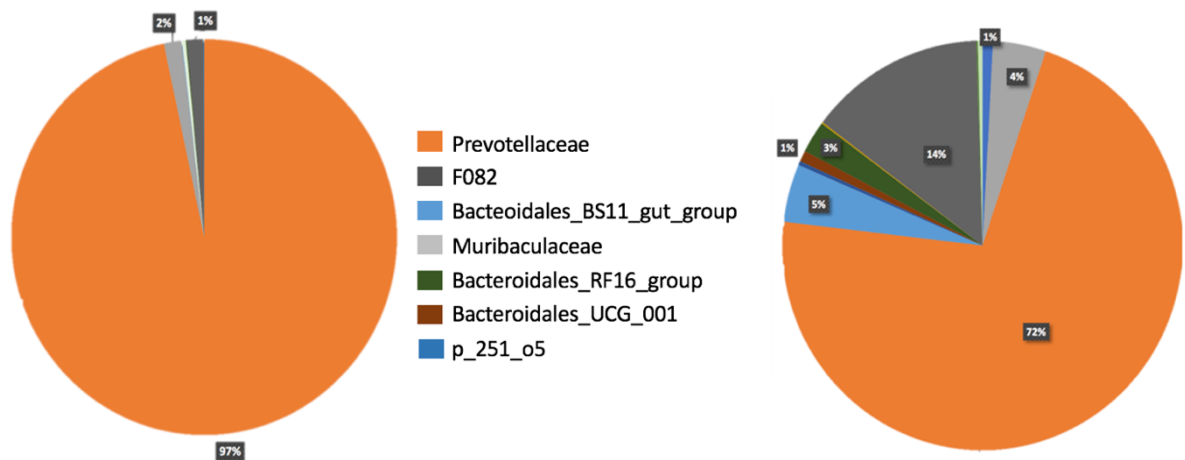


Figure 40 : Proportion des différentes familles au sein de l'ordre des Bacteroidales sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) pour les trois années de l'étude. Familles non représentées dans la légende et de proportions faibles : *Marinilabiliaceae*, *p_2534_1885_gut_group*, *unknown_family*, *Bacteroidetes_BD2_2*

Chez les Clostridiales, la famille majoritaire sous le régime DAC est celle des Lachnospiraceae (64%), elle diminue significativement au profit des Christensenellaceae sous le régime DAF, qui représente 39%. La deuxième famille majoritaire est celle des Ruminococcaceae, aussi bien sous le régime DAC (29%) que sous le régime DAF (36%) (figure 41).

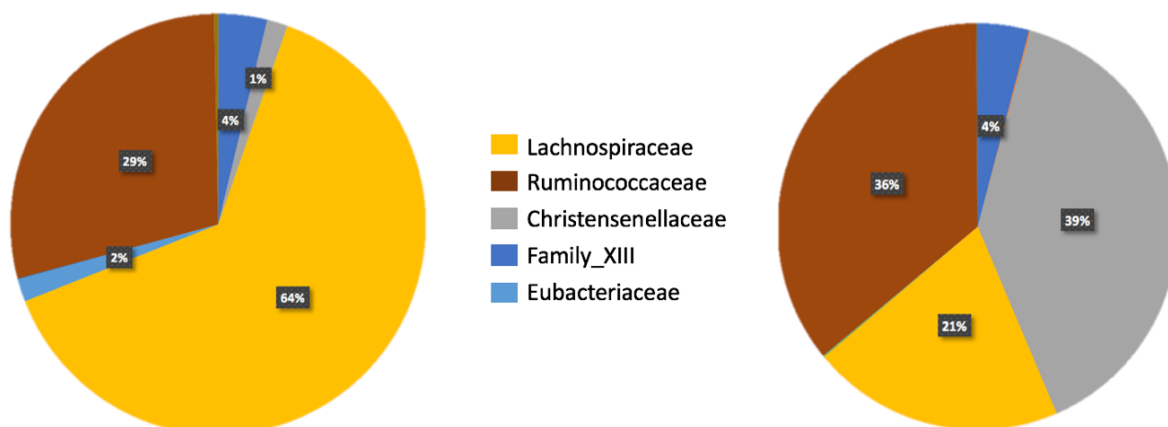


Figure 41 : Proportion des différentes familles au sein de l'ordre des Clostridiales sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) pour les trois années de l'étude. Familles non représentées dans la légende et de proportions faibles : Clostridiales_vadinBB60_group, vadinBE97, Clostridiaceae_1, Gracilibacteraceae, Defluviitaleaceae

Les trois genres les plus représentés sous le régime DAC sont les genres *Prevotella_1* (23%), *Prevotella_7* (21%) et le groupe des *Lachnospiraceae_NK3A20* (12%). Sous le régime DAF, il s'agit du genre *Prevotella_1* (22%) et des groupes *Christensenellaceae_R7* (18%), *Rikenellaceae_RC9_gut* (9%) et *Ruminococcaceae_NK4A214* (6%). Tous les autres genres représentent moins de 3% des genres totaux. Enfin, très peu d'OTU ont pu être affiliées jusqu'au rang taxonomique de l'espèce.

B) Répartition des AG au sein du rumen sous les deux régimes et facteurs de variations de cette répartition

a. Analyse descriptive des proportions d'AG

Nous avons travaillé à partir de pourcentages d'AG. La figure 42 montre l'ACP réalisée sur les pourcentages d'AG ruminiaux (en pourcentages d'AG ruminiaux totaux). Les deux premières composantes de l'ACP permettent de représenter 88% de la variation du jeu de données. La coloration des régimes (DAC ou DAF) permet d'affirmer que le régime est un facteur majeur de variation des profils en AG. De plus, nous pouvons voir que les pourcentages d'AG sont plus dispersés sous DAC, ce qui suggère que les proportions d'AG ruminiaux sont moins variables au DAC qu'au DAF.

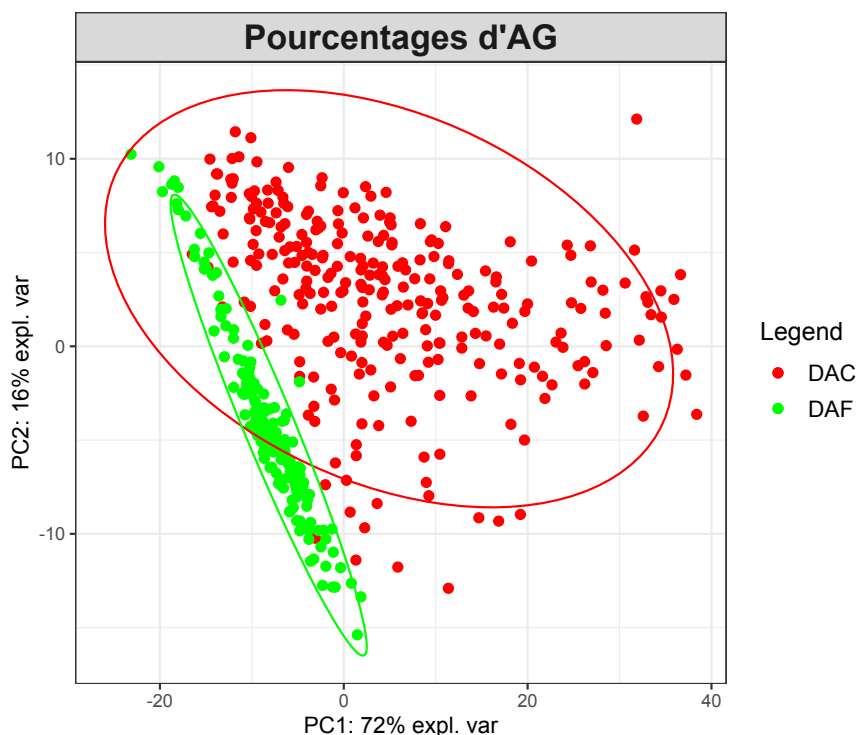


Figure 42 : Analyse en Composante Principale des AG ruminiaux selon le régime

Afin de voir les AG les plus discriminants, nous avons tracé le cercle des corrélations qui discrimine clairement les régimes (figure 43).

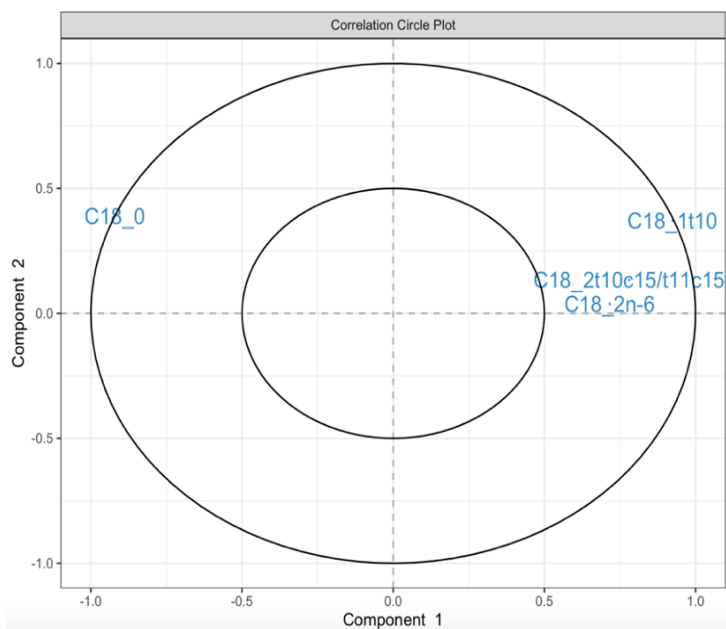


Figure 43 : Cercle de corrélation des AG sous les deux régimes avec un seuil de 0,7

Les AG les plus explicatifs entre les deux régimes sont le C18:0, le C18:1*trans*10, le C18:2*trans*10,*cis*15, le C18:2*trans*11,*cis*15 et le C18:2n-6. Le régime DAC semble favoriser les AGI tandis qu'il s'agit des AGS pour le régime DAF.

Nous nous sommes intéressés aux proportions d'AG par régime, en les regroupant par classes. Nous retrouvons ainsi les AGS, AGMI, AGPI et les AG d'origine microbienne (figure 44).



Figure 44 : Répartition des classes d'AG (en % d'AG totaux) dans le rumen sous les deux régimes

Nous pouvons voir que sous le régime DAF, la proportion d'AGS est de 70% en pourcentage d'AG totaux, contre 56% sous le régime DAC ($p\text{-valeur} = 2,1 \cdot 10^{-5}$), et celle d'AG d'origine microbienne est de 10%, contre 7% sous DAC ($p\text{-valeur} = 0,031$). La proportion d'AGMI est supérieure sous le régime DAC (30% contre 10%, $p\text{-valeur} = 0,0066$) et celle d'AGPI est sensiblement équivalente et faible (autour de 6%). En détaillant cette dernière classe (figure 45), nous pouvons voir que la proportion des AG d'origine microbienne sous le régime DAF est toujours significativement supérieure à celle du régime DAC, sauf les AG oxo-C18:0 et DMA-C18:1*cis*9. On voit ainsi que les AG ramifiés sont plus abondants sous le régime DAF. D'après une analyse du foin de dactyle réalisée par une chercheuse de la faculté de Lisbonne pour étayer son hypothèse, les proportions de DMA-C26:0 et DMA-C28:0 sous DAF seraient dues à la nature du fourrage. Cela est en effet cohérent avec les aldéhydes identifiés dans le foin de dactyle (tableau 2).

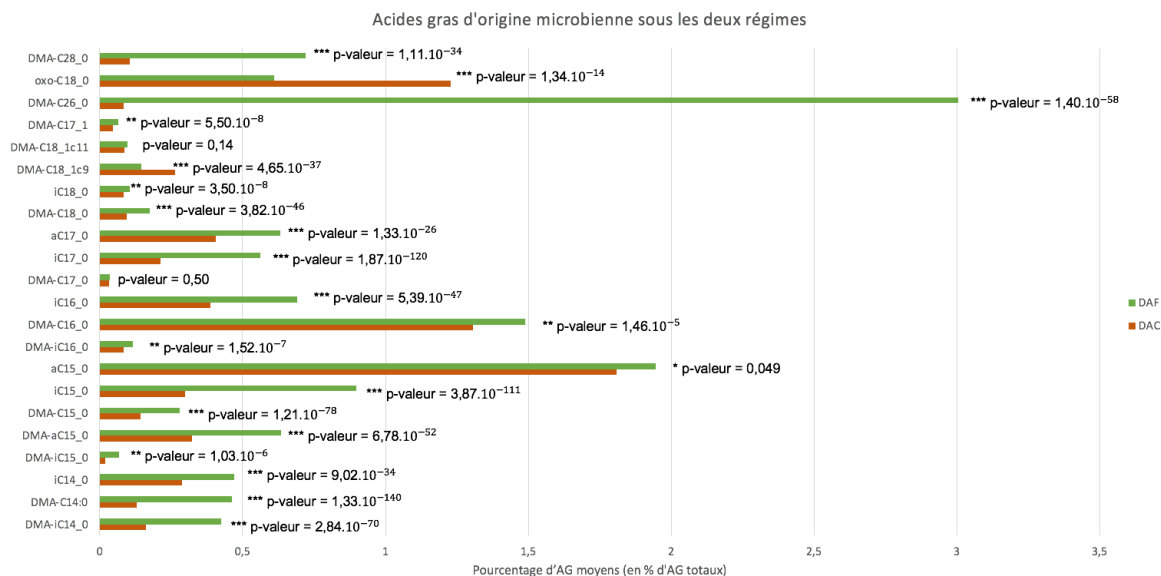


Figure 45 : Pourcentages d'AG d'origine microbienne (en pourcentages d'AG totaux) sous les deux régimes

b. Pourcentage de biohydrogénation

Comme nous avons pu le voir plus haut, la quantité d'AGS est la plus importante sous le régime DAF, où la BH est donc plus complète. Pour évaluer l'avancée de la BH, nous avons calculé les pourcentages de BH sous les deux régimes. Les résultats sont présentés dans le tableau 4 et la figure 46.

Tableau 4 : Pourcentage de BH sous les deux régimes

	Moyenne	Écart type	Maximum	Minimum
DAC	62,2 %	16,3%	90,8 %	15,4 %
DAF	89,4 %	2,1%	95,3 %	83,7 %

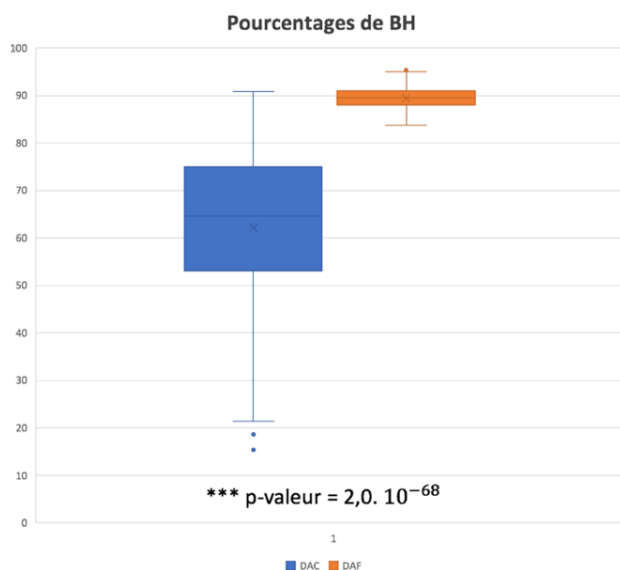


Figure 46 : Représentation graphique des pourcentages de BH sous les deux régimes

Le pourcentage moyen de BH est significativement plus élevé sous le régime DAF que sous le régime DAC (p-valeur = $2,0 \cdot 10^{-68}$).

Nous pouvons également voir que les pourcentages de BH sont beaucoup plus dispersés sous le régime DAC que sous le régime DAF, avec une valeur minimale de 15,4% sous DAC contre 83,7% sous DAF. L'hypothèse principale réside dans l'absence de fermeture des DAC en 2019 avec ainsi des moutons ayant eu accès à de la nourriture plus longtemps que les autres années. Ceux qui ont mangé plus tard ont un pourcentage de BH plus faible, car le temps pour la réaliser a été réduit, ce qui peut expliquer les écarts importants sous le régime DAC. La figure 47 montre la forte dispersion des pourcentages de BH sous le régime DAC en 2019, ce qui conforte notre hypothèse.

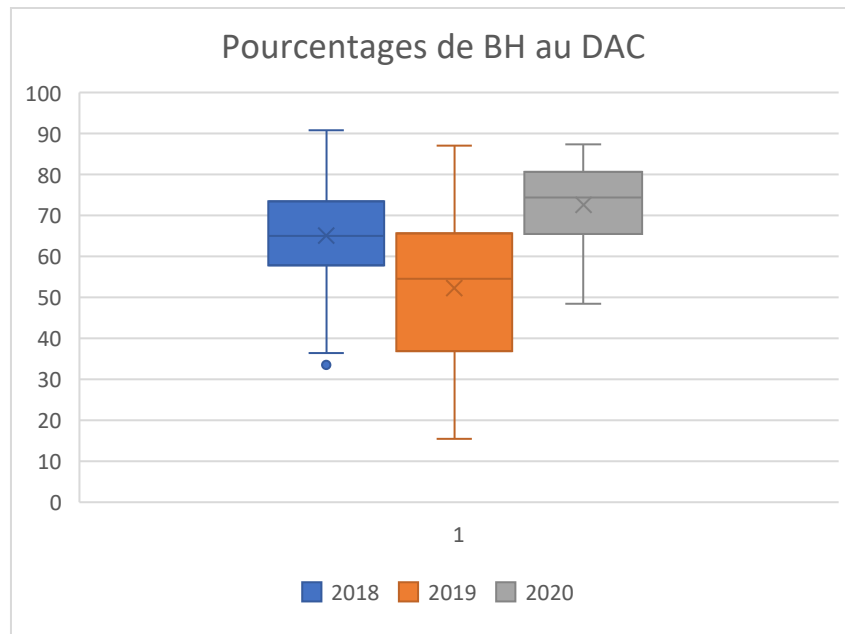


Figure 47 : Pourcentages de BH au DAC en 2018, 2019 et 2020

Pour étudier les AG les plus corrélés au pourcentage de BH, nous avons réalisé une sPLS pour discriminer les pourcentages de biohydrogénation à partir des acides gras ruminiaux (figure 48). Pour le régime DAC, de fortes corrélations ont été mises en évidence, un seuil de 0,7 a été fixé. Pour le régime DAF, il n'existe aucune corrélation supérieure à 0,46. Pour les représenter, nous avons fixé un seuil de 0,3 mais il ne s'agit ainsi pas de fortes corrélations.

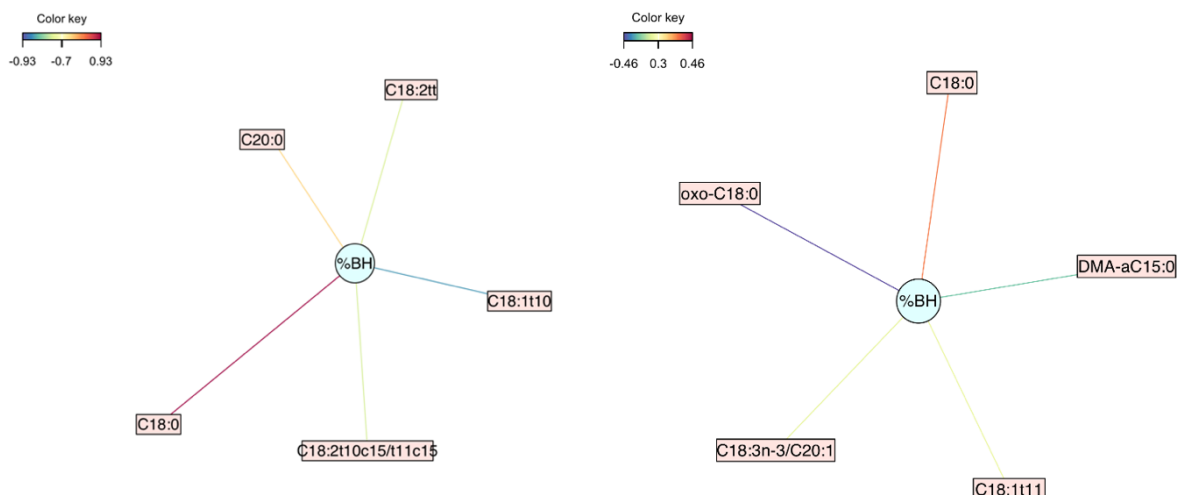


Figure 48 : réseaux des AG les plus corrélés au pourcentage de BH sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) selon la méthode sPLS (seuil = 0,7 à gauche ; 0,3 à droite)

Sous DAC, il était attendu de trouver une corrélation fortement positive (proche de 1) entre le taux de BH et la concentration en C18:0 qui se trouve au numérateur de la formule, ce résultat n'est donc pas interprétable. Nous ne nous intéressons qu'aux résultats impliquant des AG ne se trouvant pas dans la formule permettant de calculer le pourcentage de BH.

Une corrélation fortement négative a été mise en évidence avec le C18:1*trans*10. La BH semble donc s'arrêter au C18:1*trans*10 lorsque cette voie est favorisée. D'autres corrélations, un peu moins fortes, sont visibles. Nous avons une corrélation positive avec le C20:0 et deux corrélations négatives avec le C18:2tt et les C18:2*trans*10,*cis*15 ou *trans*11,*cis*15. Ces deux derniers AG ont été précédemment décrits comme discriminants entre les deux régimes (figure 43), dont l'abondance relative est favorisée par le régime DAC. Enfin, comme nous l'avons vu plus haut, les pourcentages de BH sous DAF sont assez peu dispersés et proches d'une valeur haute de 90%. Cela pourrait expliquer l'absence de corrélation avec des AG en particuliers, tous contribuant sans différenciation à un fort pourcentage de BH.

c. Formation de *trans*10

Nous nous sommes particulièrement intéressés aux proportions de deux AGMI majeurs que sont le C18:1*trans*10 et C18:1*trans*11 ainsi qu'au phénomène de « trans-shift », à savoir la déviation de la voie majoritaire conduisant à la formation de *trans*11, au profit de celle conduisant à la formation de *trans*10. Le C18:1*trans*10, décrit dans la figure 43 comme un AGMI discriminant, présente une proportion largement

supérieure sous un régime à base de concentrés que sous un régime à base de fourrages (13% contre 0,31%). Celle de C18:1*trans*11 est quant à elle assez stable (3,4% sous DAC contre 2,7% sous DAF), ce qui engendre une différence de ratio *trans*10/*trans*11 entre les deux régimes (p-valeur = $1,6 \cdot 10^{-33}$) (figure 49).

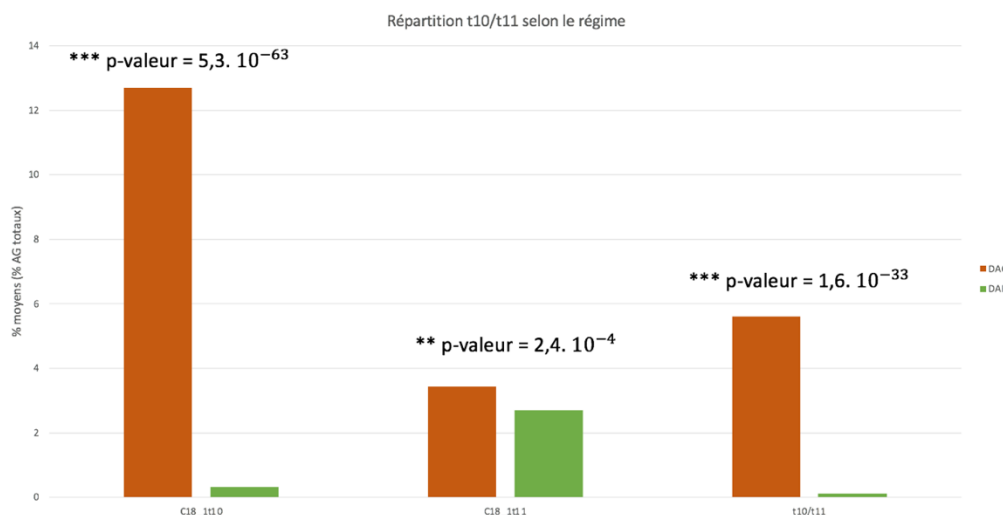


Figure 49 : Proportions de C18:1*trans*10 et C18:1*trans*11 en fonction du régime

Le ratio *trans*10/*trans*11 ruminal permet d'évaluer le degré de déviation des voies de BH. En pratique, il varie de 0,1 à 20. Il est généralement inférieur à 0,3 chez des animaux nourris à base de fourrages (Bessa, Alves, Santos-Silva 2015). Ici, il est en moyenne de 5,7 sous DAC contre 0,12 sous DAF.

La sélection des individus extrêmes montre que sous le régime DAC, le groupe 1 comprend 35 individus et le deuxième 34. Le détail des échantillons est présenté dans le tableau 5.

Tableau 5 : Détail des deux groupes extrêmes (Groupe 1 : *trans*10 / Groupe 2 : *trans*11) sous DAC

	Année	Lignée
Groupe 1	6 en 2018 28 en 2019 1 en 2020	15 rfi + 20 rfi -
Groupe 2	14 en 2018 17 en 2019 3 en 2020	16 rfi + 18 rfi -

Nous voyons que l'année 2020 est peu représentée par des extrêmes et que le groupe 1 comporte une majorité d'échantillons de 2019. Concernant les lignées, elles sont assez équitablement représentées.

Le pourcentage moyen de BH du groupe 1 est de 37,7% contre 70,0% pour le groupe 2 (p-valeur = $3,4 \cdot 10^{-12}$). Dans le groupe 2, les individus qui ont le plus faible pourcentage de BH sont ceux qui présentent une proportion de *trans10* assez proche du troisième quartile (18,3). On retrouve ainsi la corrélation négative entre la BH et la proportion de *trans10*. Nous pouvons expliquer l'abondance d'échantillons en 2019 par la variabilité de durée de mise à jeun par rapport aux deux autres années. Les individus ayant une durée de mise à jeun courte sont surreprésentés.

Sous le régime DAF, le groupe 1 comporte 26 individus, et le groupe 2 en contient 28. La zone de chevauchement entre les deux groupes est plus importante que sous DAC (figure 37). Il y a donc davantage d'individus qui produisent beaucoup de *trans11* lorsqu'ils produisent beaucoup de *trans10*. Le détail des échantillons est présenté dans le tableau 6.

Tableau 6 : Détail des deux groupes extrêmes (Groupe 1 : *trans10* / Groupe 2 : *trans11*) sous DAF

	Année	Lignée
Groupe 1	18 en 2018	16 rfi +
	8 en 2019	10 rfi -
Groupe 2	24 en 2019	14 rfi +
	4 en 2020	14 rfi -

Les deux groupes ont un pourcentage de BH moyen de 89,4% (groupe 1) et 88,5% (groupe 2) mais ils ne sont pas significativement différents (p-valeur = 0,110).

On voit que sous DAC, le groupe 2 est le plus dispersé (figure 36) tandis qu'il s'agit du groupe 1 sous DAF (figure 37). Nous avons cherché à étudier ce qui pouvait distinguer les deux groupes dans les deux régimes.

c.1. : Effet individu

Pour voir s'il existe un effet individu à la sensibilité au « trans-shift », autrement dit si les individus qui présentent une forte proportion de *trans10* sous le régime DAC conservent cette particularité sous DAF, nous avons regardé si des individus se retrouvaient dans les groupes 1 sous DAC et DAF. Nous avons qualifié ces individus de sensibles. Les individus que l'on a nommé résistants sont au contraire ceux qui se retrouvent dans le groupe 2 des deux régimes. Certains individus se retrouvent dans deux groupes différents sous DAC et DAF, nous les avons qualifiés de mixtes (tableau 7).

Tableau 7 : Nombres d'individus sensibles, résistants et mixtes face à la production de *trans10*

Individus sensibles	Individus résistants	Individus mixtes
8	6	13

Les proportions de *trans10* et *trans11* des forts producteurs de *trans11* (individus résistants) sont présentées dans le tableau 8.

Tableau 8 : Proportions de *trans10* et *trans11* des individus résistants

	DAC		DAF	
	<i>t10</i>	<i>t11</i>	<i>t10</i>	<i>t11</i>
194369	5,8	4,6	0,21	3,2
194401	4,6	4,2	0,28	3,4
194416	4,7	11,2	0,24	3,2
194461	6,9	7,3	0,31	3,4
194467	8,5	5,0	0,29	3,1
194531	12,3	14,0	0,26	3,2

Ainsi, 27 individus sont dans deux groupes, et environ la moitié de ces individus change de groupe en changeant de régime, ce qui laisse supposer une sorte de hasard et ne permet pas d'affirmer qu'il y a un effet individu dans la résistance au *trans-shift*. Les 6 individus forts producteurs de *trans11* sous DAC et DAF ont une proportion de *trans11* assez équivalente sous DAF et proche de la proportion maximale (3,7) tandis que les proportions sont plus dispersées sous DAC avec des valeurs entre 4,2 et 14,0, (pour une valeur maximale de 20,7).

c.2. : Effet du microbiote

Nous avons cherché à comparer le microbiote ruminal des individus des deux groupes. Pour cela, nous avons réalisé une PLS-DA pour discriminer les groupes 1 et 2 à partir des genres bactériens (figure 50).

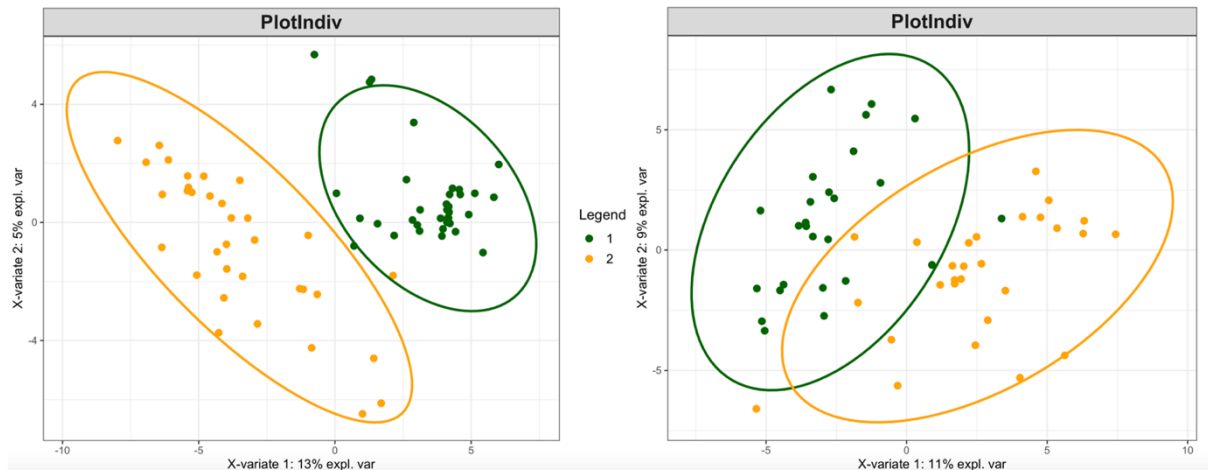


Figure 50 : PLS-DA des genres bactériens permettant de discriminer les groupes des extrêmes *trans10* (groupe 1) et *trans11* (groupe 2) sous DAC (gauche) et DAF (droite)

Les deux premières composantes de variables explicatives des variables « groupes » permettent de représenter 18% de la variation du jeu de données sous le régime DAC et 20% sous le régime DAF.

Sous le régime DAC, on retrouve plus de dispersion dans le groupe 2 que dans le groupe 1, ce qui était déjà le cas sur le graphique représentant les extrêmes, avec davantage de dispersion chez les extrêmes *trans11* que chez les extrêmes *trans10* (figure 36).

D'après le cercle des corrélations (figure 51) sous DAC, le groupe 1 se caractérise par une abondance relative plus importante de *Prevotella_7* et le groupe 2 se caractérise par une abondance relative plus importante de *Rikenellaceae_RC9_gut_group* et *Prevotella_1*. Sous DAF, le groupe 2 se caractérise par une abondance relative plus importante de *Ruminococcus_1* et *Lachnospiraceae_AC2044_group*.

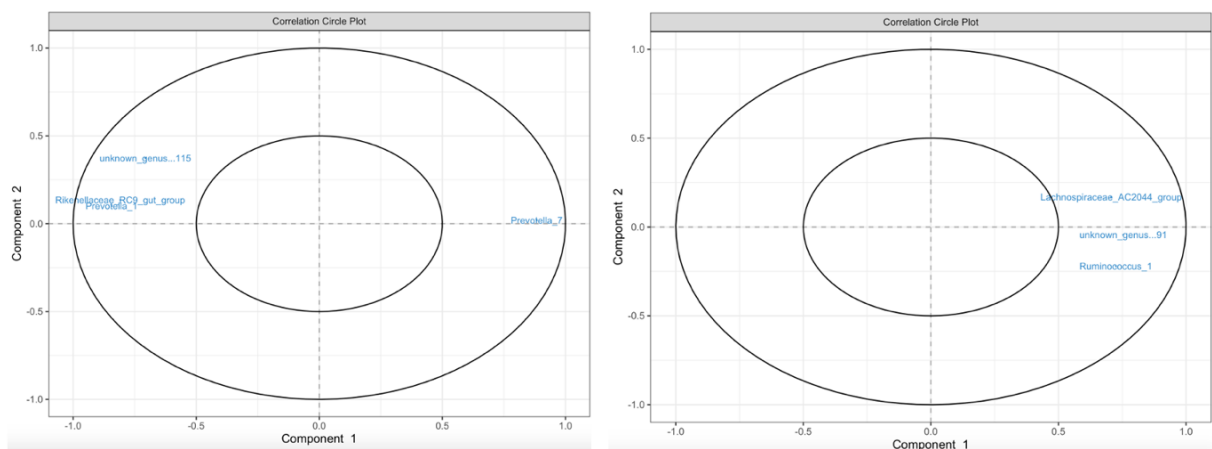


Figure 51 : Cercle des corrélations des genres microbiens avec un seuil de 0,7 sous DAC (gauche) et DAF (droite)

En définitive, les individus qui produisent plus de *trans*10 génèrent globalement plus de *trans* et moins de saturés que ceux les forts producteurs de *trans*11, la BH semblant s'arrêter à la production de *trans*10. Les individus qui biohydrogènent le plus ont de fait une faible proportion de *trans*10. Sous le régime DAF, aucun individu ne présente une forte proportion de *trans*10 sans avoir une forte proportion de *trans*11, ce qui peut expliquer l'absence de différence de pourcentage de BH entre les deux groupes. Nous n'avons pas mis en évidence d'effet individu sur la résistance au *trans*-shift. Concernant le microbiote, le genre *Prevotella_7* semble être associé à une forte proportion de *trans*10.

d. Facteurs de variation de la proportion et de la nature des AG ruminiaux

d.1. : Effet lignée

Nous nous sommes interrogés sur l'existence d'un effet lignée sur la proportion et la nature des AG dans le rumen. Les deux premières composantes de l'ACP sur les pourcentages d'AG ruminiaux (en pourcentages d'AG ruminiaux totaux) sous le régime DAC permettent de représenter 93% de la variation du jeu de données, tandis qu'au régime DAF elles représentent 87% de la variation.

La coloration des lignées (rfi + ou rfi -) semble montrer que la lignée n'est pas un facteur majeur de variation des profils en AG quel que soit le régime considéré (figure 52).

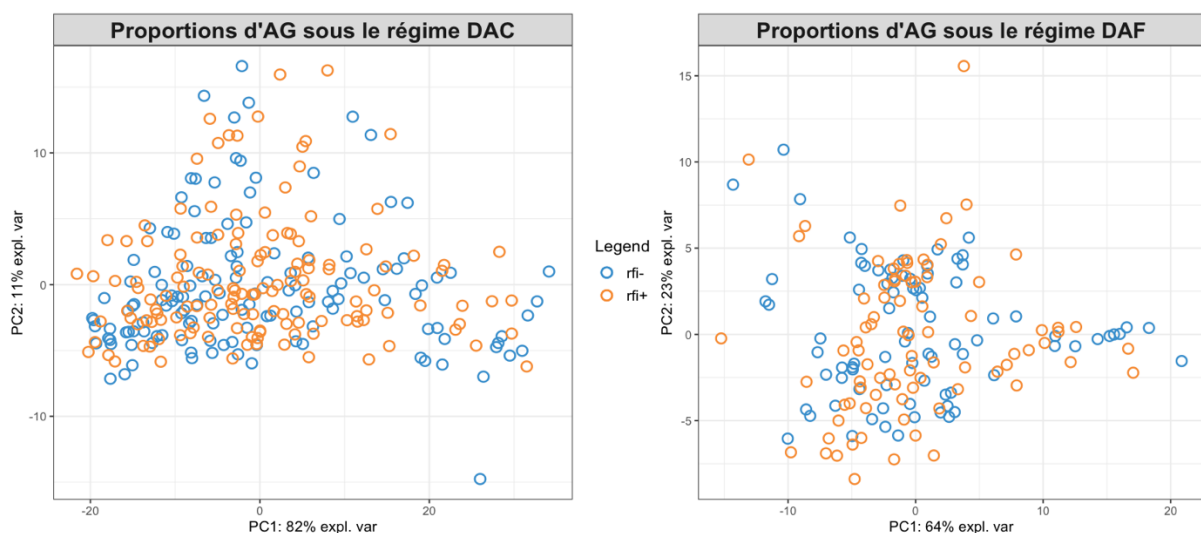


Figure 52 : Analyses en composante principale des AG ruminiaux en fonction de la lignée

d.2. : Sources de variation du pourcentage de BH en dehors du régime

d.2.1. : Durée de mise à jeun et effet année

L'évaluation de cet effet a été facilitée par un oubli de fermeture des DAC en 2019 et donc un accès à volonté à la nourriture avant prélèvements, générant des écarts importants de durée de mise à jeun avant les prélèvements entre les trois années. Une analyse anova des pourcentages de BH sous le régime DAC en fonction de la durée de mise à jeun avant prélèvement des contenus ruminiaux et de l'année de prélèvement montre une très forte influence de l'effet année (p -valeur = $1,2 \cdot 10^{-13}$), ce qui s'explique par ce qui vient d'être décrit, et une influence significative de la durée de mise à jeun (p -valeur = 0,013). Le coefficient de Pearson entre la durée de mise à jeun et le pourcentage de BH sous DAC pour les trois années confondues est de 0,39. Pour rappel, la BH étant un processus dynamique, plus les aliments restent longtemps dans le rumen et plus le microbiote a du temps pour l'effectuer, nous retrouvons cette idée ici.

d.2.2. : Influence du microbiote

Afin de visualiser les corrélations entre les familles de bactéries ruminales et le pourcentage de BH par régime, deux sPLS ont été réalisées avec comme seuil 0,3 pour montrer les faibles corrélations existantes (elles ne dépassent pas 0,49). Pour visualiser parallèlement les corrélations entre le microbiote et le pourcentage de BH et entre le microbiote et les AG ruminiaux, nous avons également réalisé des matrices de corrélation. Nous voyons ainsi dans la figure 53 que le pourcentage de BH est le plus fortement corrélé négativement à la famille des Lachnospiraceae sous le régime DAC, appartenant au phylum des Firmicutes, ce dernier étant corrélé positivement aux proportions de C18:2n-6, C18:3n-3 et C18:1*trans*10 et négativement à la proportion de C18:0 (figure 54). L'annexe 2 montre les corrélations par familles. Le pourcentage de BH est très faiblement corrélé positivement aux familles des Prevotellaceae (phylum des Bacteroidetes), Pirellulaceae (phylum des Planctomycetes) et Synergistaceae (phylum des Synergistetes). Les phyla qui les regroupent sont corrélées négativement à l'une des proportions de C18:2n-6, C18:3n-3 et C18:1*trans*10 (figure 54).

Concernant le régime DAF, nous ne retrouvons pas de corrélations positives entre le pourcentage de BH et les familles microbiennes (figures 53 et annexe 2b). Il est le plus

fortement corrélé négativement à la famille des Streptococcaceae, et un peu plus faiblement à celles des Fibrobacteraceae et Prevotellaceae (figure 53).

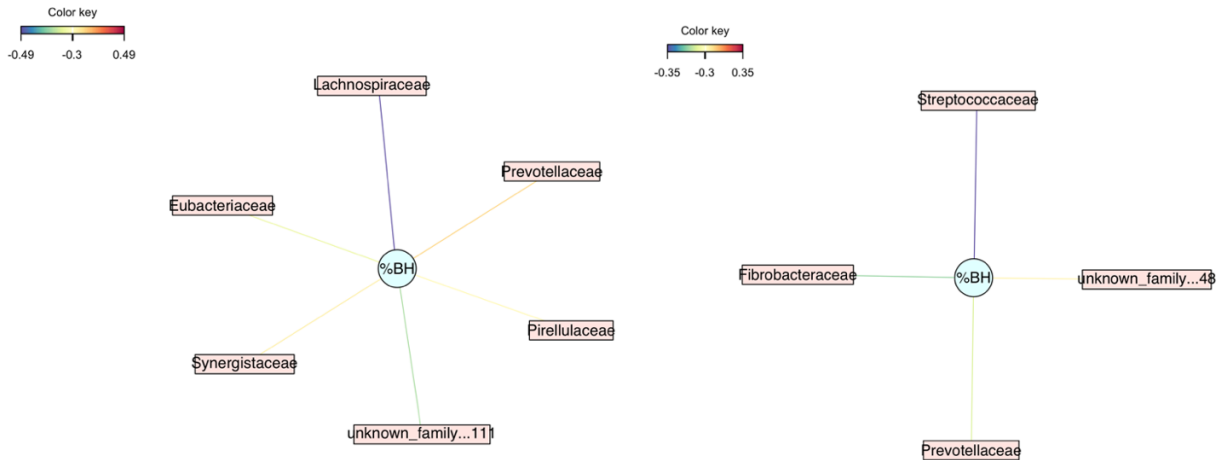


Figure 53 : réseaux des familles les plus corrélées au pourcentage de BH sous le régime DAC (gauche) et DAF (droite) selon la méthode sPLS

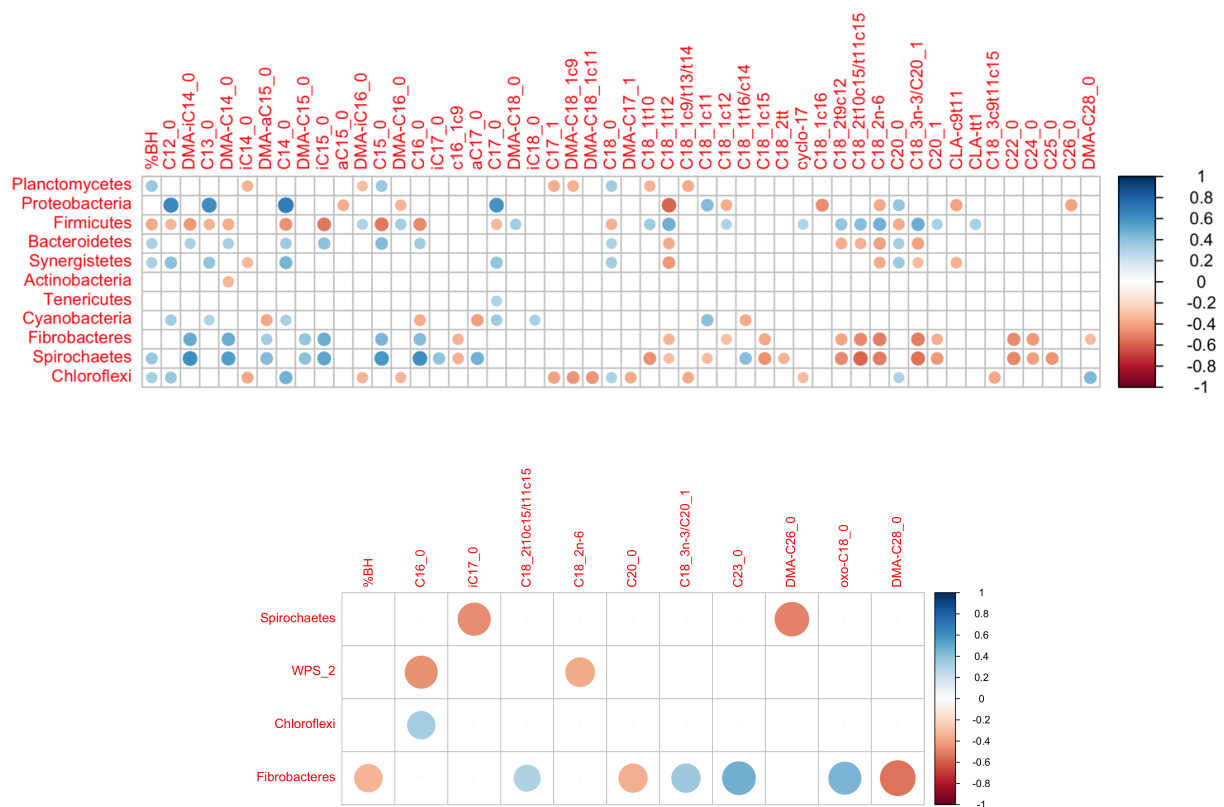


Figure 54 : Matrices de corrélation entre les AG ruminiaux totaux et les différents phyla sous DAC (en haut) et DAF (en bas)

En analysant plus en détails la matrice de corrélation sous DAC, on voit que les plus fortes corrélations concernent les phyla Proteobacteria et Spirochaetes, suivis du phylum Fibrobacteres. On remarque une forte corrélation positive entre les Proteobacteria et les AGS courts et moyens (C12:0, C13:0, C14:0 et C17:0). Les phyla

Fibrobacteres et Spirochaetes sont corrélés positivement à la plupart des DMA et présentent une corrélation négative avec les C18:2n-6, C18:2*trans*9,*cis*12, C18:2*trans*10,*cis*15 et C18:3n-3. D'après l'annexe 2a, nous voyons également que sous DAC, la famille des Fibrobacteraceae est corrélée positivement aux proportions de DMA-iC14:0, DMA-C14:0, DMA-aC15:0, DMA-C15:0, iC15:0 et C16:0. Concernant la famille des Prevotellaceae, celle-ci est corrélée positivement aux proportions de C14:0, iC15:0, C15:0 et C17:0. Ces deux familles sont ainsi corrélées à des intermédiaires de BH à chaînes impaires ou ramifiées.

C) Influence du profil en AG et du microbiote bactérien ruminal sur les paramètres zootechniques des animaux de l'étude

a. Principaux AG en lien avec les trois paramètres zootechniques étudiés

En étudiant les performances zootechniques des individus des deux groupes extrêmes *trans*10 et *trans*11 décrits précédemment, nous voyons que le GMQ moyen des moutons du groupe *trans*10 est significativement plus élevé que celui des moutons du groupe *trans*11, sous le régime DAC. Concernant l'épaisseur de gras dorsal, elle est significativement plus élevée chez les moutons du groupe 2, sous le régime DAC (tableau 9).

Tableau 9 : Paramètres zootechniques des deux groupes extrêmes sous DAC et sous DAF

DAC	Groupe 1	Groupe 2	p-valeur
GMQ moyen	351	322	0,027
Épaisseur Gras Dorsal	5,37	5,76	0,039
Épaisseur Muscle	2,81	2,83	0,77
DAF	Groupe 1	Groupe 2	p-valeur
GMQ moyen	117	112	0,80
Épaisseur Gras Dorsal	4,33	4,75	0,065
Épaisseur Muscle	26,2	23,8	0,18

Sous le régime DAF, la plupart des individus extrêmes *trans*10 présentent une proportion de *trans*11 non négligeable, ce qui pourrait expliquer l'absence de différences significatives entre les deux groupes pour les trois paramètres zootechniques.

La courbe représentant le GMQ de tous les individus au DAC (et pas seulement des individus prélevés au DAC et au DAF) en fonction de la proportion de C18:1*trans*10 dans le rumen montre que la corrélation n'est pas linéaire (figure 55). Le coefficient de Pearson est d'ailleurs de 0,23.

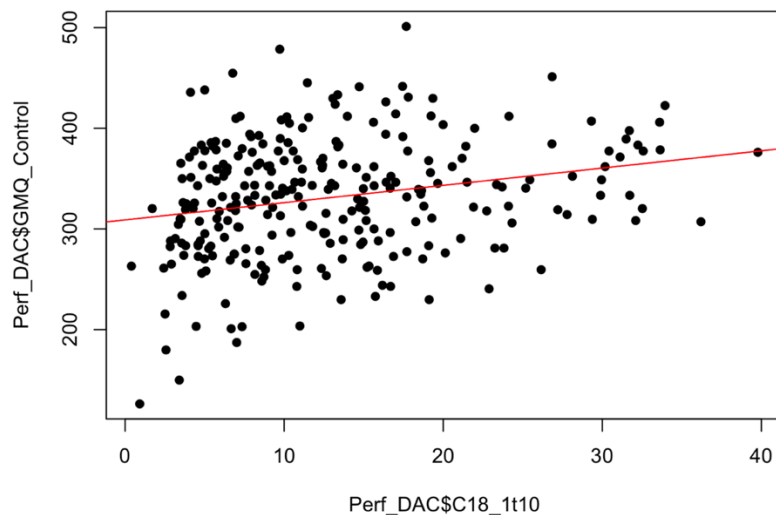


Figure 55 : Courbe du GMQ en fonction de la proportion de C18:1*trans*10 dans le rumen sous le régime DAC

Afin d'étudier les corrélations des trois paramètres zootechniques avec tous les AG ruminiaux, nous avons réalisé une régression PLS et avons présenté un réseau avec un seuil de 0,3 sous DAC car les corrélations n'excèdent pas 0,34 et 0,5 sous DAF. Il s'agit dans tous les cas de faibles corrélations (figure 56). Sous DAC, la plus forte corrélation est une corrélation positive entre la proportion de C14:0 et l'épaisseur de gras dorsal. La deuxième concerne un autre AGS à chaîne moyenne, le C12:0. Sous DAF, la plus forte corrélation est positive et concerne l'épaisseur de muscle et un AGS long, le C28:0. La deuxième concerne le C18:1*trans*10.

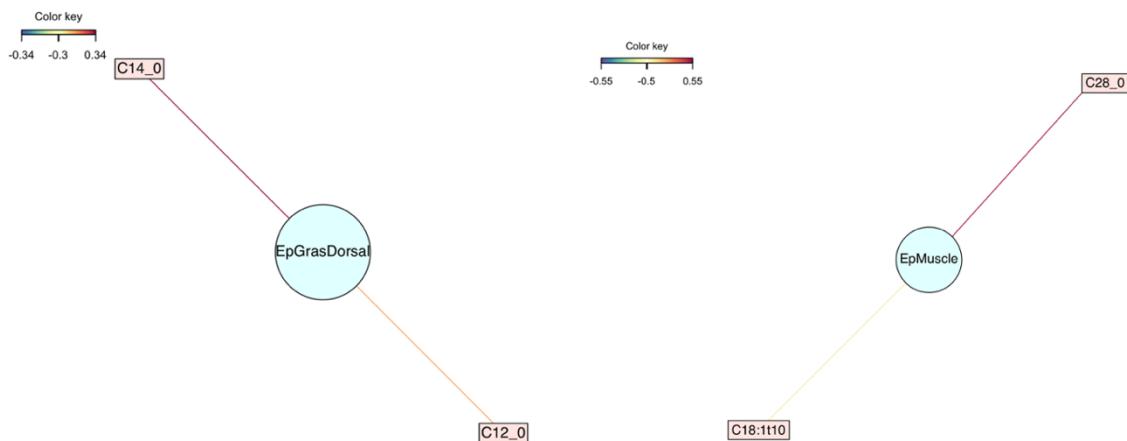
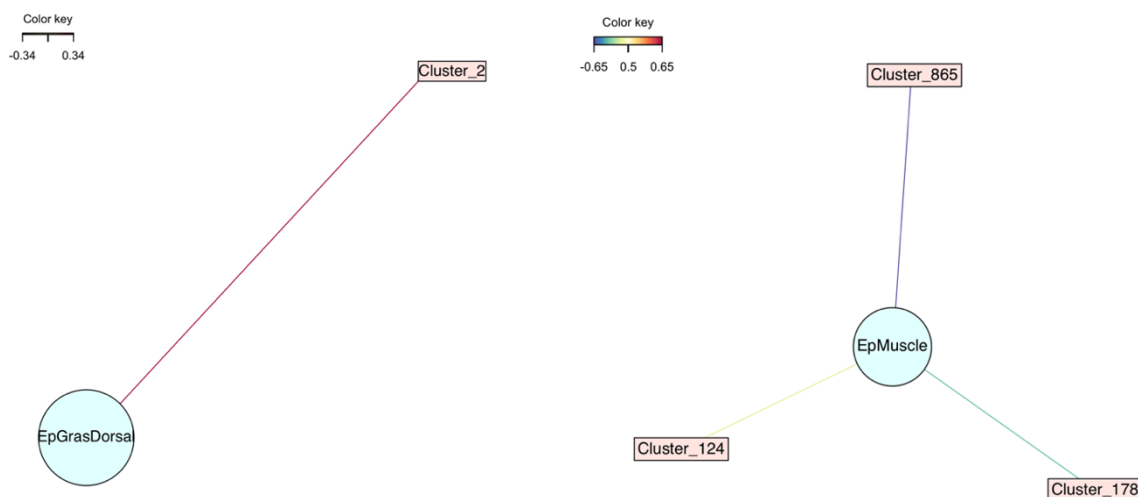


Figure 56 : réseaux des AG les plus corrélés aux paramètres zootechniques selon la méthode sPLS sous le régime DAC (gauche) (seuil = 0,3) et DAF (droite) (seuil = 0,5)

En définitive, même si la corrélation n'est pas linéaire entre le GMQ et la proportion de *trans*10, les individus qui présentent les plus fortes proportions de *trans*10 ont un GMQ moyen supérieur à ceux qui possèdent plus de *trans*11, sous le régime DAC uniquement. Concernant les autres paramètres zootechniques, un lien a été mis en évidence chez les groupes extrêmes *trans*10/*trans*11 entre l'épaisseur de gras dorsal et la proportion de *trans*11 chez les moutons soumis au régime à base de concentrés. De faibles corrélations ont également été mises en évidence entre deux AGS à chaîne moyenne et l'épaisseur de gras dorsal, et entre un AGS long et l'épaisseur de muscle.

b. Principaux clusters en lien avec les trois paramètres zootechniques étudiés

Par les mêmes moyens, à savoir des analyse sPLS, nous avons cherché à voir si des corrélations existaient entre des clusters en particulier et les paramètres zootechniques. Les seuils ont été fixés à 0,3 et 0,5 également pour les régimes DAC et DAF respectivement (figure 57).



N° de cluster	Phylum	Classe	Ordre	Famille	Genre
2	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Prevotellaceae	<i>Prevotella 1</i>
124	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	F082	<i>Unknown genus</i>
178	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Lachnospiraceae	<i>[Eubacterium] ventriosum group</i>
865	Firmicutes	Negativicutes	Selenomonadales	Acidaminococcaceae	<i>Succiniclasticum</i>

Figure 57 : réseaux des clusters les plus corrélés aux paramètres zootechniques selon la méthode sPLS sous le régime DAC (gauche) (seuil = 0,3) et DAF (droite) (seuil = 0,5). Aucune OTU n'a pu être affiliée jusqu'au rang de l'espèce.

Sous le régime DAC, la seule et plus forte corrélation est une corrélation positive entre l'épaisseur de gras dorsal et le genre *Prevotella_1*. Une corrélation positive avait déjà été mise en évidence entre le genre *Prevotella_1* et la proportion de *trans*11, et entre l'épaisseur de gras dorsal et la proportion de *trans*11. La corrélation avec *Prevotella_1* pourrait ainsi venir de son influence sur la proportion de *trans*11.

Sous le régime DAF, les trois corrélations mises en évidence sont négatives et concernent l'épaisseur de muscle. La plus forte corrélation concerne le genre *Succiniclasticum*, les deux autres concernent deux clusters appartenant aux familles F082 et Lachnospiraceae.

IV) Discussion

Nous rappelons que l'objectif est d'étudier les profils en AG ruminants des moutons de l'étude selon le régime, en les mettant en relation avec les populations microbiennes. Des corrélations avec le GMQ, l'épaisseur de gras dorsal et l'épaisseur de muscle ont également été recherchées. Plusieurs outils statistiques ont été utilisés à cet effet et le calcul du pourcentage de BH a permis d'en étudier son avancée.

A) Étude microbienne

Dans notre étude, les proportions des deux principaux phyla sont à peu près équivalentes et proches de 50%, avec une légère prédominance des Firmicutes sous un régime à base de fourrages. Pour rappel, les genres connus ou soupçonnés capables de réaliser la lipolyse et/ou la BH appartiennent tous au phylum des Firmicutes, sauf les genres *Propionibacterium* et *Bifidobacterium* qui appartiennent à celui des Actinobacteria. Les rapports Firmicutes/Bacteroidetes de notre étude sont à peu près équivalents à ceux rapportés dans différentes études, comme celle de Larue et al. (2005) où les moutons nourris à base de foin d'herbe présentent un rapport Firmicutes/Bacteroidetes de 57/40 contre 54/41 lors de l'ajout de 30% de maïs (Larue et al. 2005). Dans l'étude de Liu et al. (2019), qui présente l'effet de différents ratios fourrages/concentrés sur la diversité microbienne de moutons tibétains, l'augmentation de la proportion de concentrés entraîne une augmentation significative des Bacteroidetes et notamment du genre *Prevotella_1* (Liu et al. 2019). Ce genre est le plus représenté dans notre étude sous les deux régimes (23% sous DAC, 22% sous DAF), suivi du genre *Prevotella_7* (21%) sous le régime DAC et *Christencellaceae_R7* sous le régime DAF (18%). Nous avons également observé une prédominance de la famille des Lachnospiraceae au sein de l'ordre des Clostridiales sous DAC, cette famille représentant 24% du total contre 9% sous DAF. La famille des Lachnospiraceae abrite des bactéries fibrolytiques comme *Butyrivibrio fibrisolvens*, qui n'a pas été identifiée jusqu'au rang de l'espèce dans nos échantillons. La famille des Lachnospiraceae a souvent été décrite comme la plus abondante sous un régime à base de fourrages (Chikwanha et al. 2018). Ici, la famille majoritaire, quel que soit le

régime, est celle des Prevotellaceae (49% sous DAC, 25% sous DAF). La famille des Ruminococcaceae, qui abrite les espèces *Ruminococcus flavefaciens* et *R. albus*, espèces retrouvées dans nos échantillons et connues comme riches en iso-AG (Vlaeminck et al. 2006), représente 11% des familles totales sous DAC contre 16% sous DAF. *Ruminococcus flavefaciens* et *R. albus* ont également été décrites comme plus abondantes dans un régime riche en fourrages (Chikwanha et al. 2018). Sous le régime DAF, la famille des Christencellaceae est majoritaire au sein des Clostridiales (39% des Clostridiales), ce qui a également été décrit dans la littérature (Huang et al. 2021). Notre travail permet de montrer que les deux classes regroupant les genres et espèces présumées intéressantes dans l'étude du métabolisme lipidique sont légèrement plus abondantes sous le régime DAF. En effet, parmi la classe des Clostridia, le genre *Clostridium* présente une activité lipolytique, les genres *Pseudobutyrvibrio*, *Eubacteria* et *Roseburia* sont capables de former le CLA-*cis9,trans11* dans le rumen et l'espèce *Ruminococcus albus* serait capable de former du CLA-*trans10* (Kemp et al. 1975; Enjalbert et al. 2017). Quant à la classe des Negativicutes, les genres *Selenomonas* et *Anaerovibrio* présentent une activité lipolytique (Lourenço et al. 2010), tandis que *Mitsuokella* permet la formation d'AO et l'espèce *Megasphaera elsdenii* la formation du CLA-*trans10* (Maia et al. 2007).

B) Étude du profil en AG ruminal

Concernant les profils en AG, un net effet régime a été mis en évidence sur la distribution des AG ruminiaux, ainsi qu'un effet année partiel, lié à l'absence de fermeture des DAC en 2019, et qui concerne surtout la formation de C18:1*trans10*. En revanche, aucun effet lignée n'a été démontré. Un régime riche en fourrages favorise une BH plus complète aboutissant à la formation d'AGS dans le rumen, tandis que sous DAC, la proportion d'AGMI, en particulier *trans*, est plus forte en raison d'un taux de BH plus faible. Plusieurs raisons peuvent expliquer un pourcentage de BH supérieur sous DAF, avec notamment la durée d'occupation du rumen par le bol ruminal, qui est augmentée par un régime riche en fourrages, ce qui laisse le temps aux micro-organismes d'effectuer les différentes étapes de BH. Rappelons également qu'un pH faible diminue l'efficacité de la lipolyse et donc de la BH qui s'en suit, ce qui est favorisé par un régime riche en concentrés. Enfin, nous avons vu que les principaux ordres microbiens regroupant les genres et espèces impliquées dans la lipolyse et la BH sont plus abondants sous le régime DAF. Quant à la quantité d'AGPI, elle est

sensiblement équivalente entre les deux régimes, ce qui s'explique par la proportion d'AGPI initialement présents dans l'alimentation, plus importante dans les fourrages que dans les concentrés. Dans notre étude, il s'agit principalement de l'AAL, largement prédominant sous DAF pour les trois années cumulées.

Concernant les iso et antéiso-AG, l'étude de Salami et al. (2021) montre l'implication des espèces *Fibrobacter succinogenes* et *Prevotella brevis* dans la synthèse d'intermédiaires impairs et ramifiés, notamment les C15:0, iC14:0, iC15:0, aC15:0 et aC17:0 (Salami et al. 2021). Nous avons mis en évidence des corrélations semblables avec les familles Fibrobacteraceae et Prevotellaceae sous DAC. En 2020, Zhang et al. montrent que l'accumulation de ces intermédiaires dans le rumen d'agneaux est associée à une abondance de bactéries fibrolytiques incluant ces mêmes espèces. Les bactéries fibrolytiques sont directement impliquées dans la conversion des AGPI en AGS ainsi que dans l'accumulation des AG impairs et ramifiés et des CLA au sein du rumen. Lorsque le régime s'appauvrit en fibres et s'enrichit en concentrés, le nombre de bactéries fibrolytiques diminue ce qui diminue le pourcentage de BH et la dévie vers des voies alternatives entraînant l'apparition d'AG *trans* (Buccioni et al. 2012). Dans notre étude, nous ne retrouvons pas tout à fait ce qui est décrit dans la littérature, à savoir que les bactéries fibrolytiques favorisent la formation d'iso-AG tandis que les amylolytiques favorisent la formation d'antéiso et d'AG impairs. En effet, à part pour l'oxo-C18:0 et le DMA-C18:1c9, tous les autres produits de synthèse microbienne sont plus abondants sous le régime DAF, qu'ils soient iso ou antéiso.

Zhang et al. montrent également que les proportions d'AG ruminiaux pairs et notamment les C12, C14 et C16 sont plus faibles chez les individus présentant un taux de bactéries fibrolytiques faible (Zhang et al. 2020). Pour rappel, les bactéries fibrolytiques principales appartiennent aux familles Lachnospiraceae (*Butyrivibrio fibrisolvens*), Ruminococcaceae (*Ruminococcus flavofaciens* et *R. albus*) et Fibrobacteraceae (*Fibrobacter*). Nous retrouvons une corrélation entre les Ruminococcaceae et la proportion d'iC16:0 et DMA-C16:0, entre les Fibrobacteraceae et la proportion de DMA-C14:0, DMA-iC14:0 DMA-iC15:0, DMA-iC16:0 et C16:0, entre les Succinivibrionaceae et la proportion de C13:0 et C17:0 ainsi qu'entre les Prevotellaceae et la proportion de C15:0 et C17:0 (annexe 2). La corrélation entre les bactéries fibrolytiques et les AG pairs peut s'expliquer notamment par la proportion d'acétate qui est favorisée par un régime riche en fourrages et une proportion élevée de fibrolytiques tandis que la présence prolongée de propionate et de valérate dans le

rumen, favorisée par un régime riche en concentrés et en amylolytiques, peut entraîner la formation d'AG à chaîne impaires (Zhang et al. 2020).

Dans notre étude, des corrélations faibles ont été mises en évidence entre le pourcentage de BH et certaines familles microbiennes. Quel que soit le régime, les plus fortes corrélations sont négatives et elles concernent la famille des Lachnospiraceae sous DAC et des Streptococcaceae sous DAF. Le calcul du pourcentage de BH fait intervenir la proportion de C18:0. Une corrélation négative avec le pourcentage de BH calculé revient ainsi à une corrélation négative avec la proportion de C18:0. La famille des Lachnospiraceae regroupe deux espèces capables de réaliser les premières étapes de BH et la formation d'intermédiaires *trans* (*Butyrivibrio fibrisolvens* et *B. proteoclasticus*). Or, nous avons mis en évidence une corrélation positive de cette même famille avec la proportion de *trans*10 sous DAC. Lorsque le *trans*10 se forme, la BH est incomplète et semble s'arrêter à cet intermédiaire. Cela peut expliquer le fait que la famille des Lachnospiraceae soit associée négativement à la BH ici.

Nous avons également mis en évidence une corrélation faiblement négative entre le pourcentage de BH et les familles Prevotellaceae et Fibrobacteraceae sous DAF. Dans l'étude de Salami et al. (2021), l'augmentation de la proportion des Succinivibrionaceae (famille appartenant au phylum des Proteobacteria), et notamment du genre *Ruminobacter* était associée à une augmentation du pourcentage de BH chez des agneaux nourris à base de concentrés d'orge, son de blé, graines de soja et cardon. En parallèle de l'augmentation de la proportion de cette famille, une diminution des genres *Prevotella* et *Fibrobacter* a été mise en évidence (Salami et al. 2021). En 2015, Huws et al. montrait qu'une diminution de la proportion des genres *Prevotella* et *Fibrobacter* était associée à une augmentation du pourcentage de BH dans le rumen de bovins nourris à l'ensilage d'herbe supplémentés en huile de lin (Huws et al. 2015). Salami et al. en ont conclu que la proportion des genres *Prevotella* et *Fibrobacter* diminue préférentiellement lors de l'augmentation des bactéries impliquées dans la BH complète des AGPI. Ce qui est décrit dans la littérature concernant l'évolution du pourcentage de BH en lien avec le microbiote ruminal est une diminution corrélée à l'augmentation du pourcentage de concentrés associé à une augmentation des bactéries amylolytiques, et notamment *Ruminobacter amylophilus*, de la famille des Succinivibrionaceae, *Prevotella ruminicola*, de la famille

des Prevotellaceae et *Selenomonas ruminantium* de la famille des Veillonellaceae, au détriment des fibrolytiques (De Ofeu Aguiar Prado 2018).

Nous avons également vu que le C18:1*trans*10 et le C18:2*trans*11,*cis*15 étaient deux AG discriminants entre les régimes DAC et DAF. Le C18:2*trans*11,*cis*15 a en effet été décrit comme favorisé par un régime riche en concentrés chez des agneaux. Cet AG pourrait former du C18:1*trans*11 par une voie alternative de BH à partir d'AAL (Salami et al. 2021). Enfin, le genre *Ruminococcus_1*, qui abrite les espèces *R. albus* et *R. flavefaciens* dans nos échantillons, a été associé au groupe d'individus forts producteurs de *trans*11 sous le régime DAF dans l'étude des individus extrêmes *trans*10/*trans*11. Il pourrait ainsi participer à sa formation. Nous avons également associé la production de *trans*10 au genre *Prevotella_7* sous le régime à base de concentrés. Nous avons pour cela étudié des individus extrêmes et pas les individus pour lesquels le ratio *trans*10/*t*11 était supérieur à 1. Nous ne pouvons donc pas parler de *trans*-10 shift au sens propre. Dans la littérature, le rôle de *Prevotella_7* dans ce mécanisme n'est pas décrit.

C) Étude des paramètres zootechniques et liens avec les AG de la viande

Pour rappel, la viande ovine est une bonne source d'AGPI n-3, AG ramifiés et intermédiaires de la BH des AGPI, en particulier les CLA avec notamment les acides ruménique et vaccénique, depuis longtemps étudiés pour leurs bienfaits sur la santé (Chikwanha et al. 2018). Concernant la formation de CLA dans la viande, le C18:1*cis*12 est décrit comme un des substrats les plus importants dans la synthèse de CLA-*cis*9,*trans*11 dans le muscle (Fiorentini et al. 2018). Dans l'étude de Zhang et al. (2020), la proportion de C18:1*cis*12 est inférieure dans le groupe présentant la plus faible proportion de bactéries fibrolytiques, elle serait donc favorisée par un régime riche en fourrages. L'enrichissement en acide ruménique de la viande se fait ainsi de 3 façons : par l'enrichissement en acides ruménique et vaccénique dans le rumen, la conversion endogène de C18:1*trans*11 en C18:1*cis*9,*trans*11 suite à une Δ 9-désaturation par la stearyl-CoA désaturase, et par la taille du pool de TG disponible pour le dépôt d'acide ruménique (Bessa et al. 2015). Enfin, la viande ovine concentre principalement les AG à chaîne moyenne à longue (12 à 22 carbones), et moins d'AGV, AG courts, impairs et ramifiés, principalement localisés dans le tissu adipeux (Wood et al. 2008).

Concernant les paramètres zootechniques étudiés, nous n'avons pas pu comparer les différences entre régimes car les moutons n'ont pas le même âge et donc pas le même poids en début de chaque phase. Il est cependant décrit depuis longtemps qu'un régime à base de fourrages entraîne de plus faibles GMQ et efficacités de production alors que les régimes riches en concentrés favorisent une prise de poids plus élevée et rapide et une augmentation de la teneur en gras intramusculaire (et al. 2017), c'est pourquoi ce type de régime est fréquent en fin d'engraissement. Cependant, un régime riche en concentrés entraîne une hausse des AGMI avec notamment le C18:1*trans*10 dans la viande, peu recherchés en alimentation humaine. En revanche, en limitant la BH, ce type de régime entraîne une proportion moindre d'AGS, même si les fourrages sont une source d'AGPI. Certaines corrélations ont été mises en évidence entre des AG et l'épaisseur de gras dorsal, l'épaisseur du muscle *longissimus dorsi* et le GMQ. Nous avons notamment montré une corrélation positive entre l'épaisseur de gras dorsal et la proportion de C14:0 sous le régime à base de concentrés. Le C14:0 présente des propriétés hypercholestérolémiantes, sa présence dans le gras intramusculaire n'est pas recherchée (Chikwanha et al. 2018). Dans l'étude de Ekiz et al. (2013), les proportions d'AG dans le gras intramusculaire sont similaires entre les agneaux quel que soit le régime, excepté pour le C14:0 et le C18:0. La proportion de C14:0 est la plus élevée dans le gras intramusculaire des agneaux nourris au foin de luzerne à volonté et aux concentrés durant la période de finition avant abattage (Ekiz et al. 2013). Nous avons également montré une corrélation positive entre l'épaisseur de gras dorsal et une forte proportion de C18:1*trans*11 dans le régime à base de concentrés. Concernant le microbiote, nous avons notamment montré une corrélation positive entre le genre *Prevotella_1* et l'épaisseur de gras dorsal ainsi qu'avec la production de C18:1*trans*11. Il semble ainsi qu'une forme de compétition existe entre les genres *Prevotella_1* et *Prevotella_7* dans la déviation de la voie *trans*11 vers la voie *trans*10.

En définitive, la concentration de C18:1*trans*10 est largement supérieure sous un régime à base de concentrés. Or, comme la plupart des animaux sont nourris aux concentrés lors de la phase de finition à l'engraissement, le dépôt de gras intramusculaire est favorisé mais la formation de C18:1*trans*11 est souvent remplacée par celle de C18:1*trans*10, qui ne pourra pas être converti en CLA, ce qui constitue une des contraintes principales à l'enrichissement de la viande en acide ruménique. Enfin, l'enrichissement de la viande en AGPI n-3 à longue chaîne est une cible

d'amélioration du profil en AG de la viande ovine mais les sources alimentaires se trouvent principalement dans les aliments d'origine animale et particulièrement dans les produits de la mer, notamment des huiles de poisson ou les produits à base d'algues. Cependant, la BH limite l'absorption de ces AG et leur incorporation aux tissus, ce qui rend difficile le choix d'un régime pour optimiser à la fois les bienfaits nutritionnels de la viande et les attentes de l'éleveur en termes de rendement des carcasses.

Conclusion

L'effet régime sur le profil en acides gras du rumen et l'écosystème bactérien ruminal est majeur chez les agneaux de l'étude. Un régime riche en fourrages est associé à une plus forte proportion d'ordres bactériens impliqués dans la lipolyse et la BH, ce qui conduit à une plus grande saturation des AG alimentaires. Un régime riche en concentrés favorise en revanche la déviation des voies principales de BH vers une voie conduisant à la production d'acides gras *trans*, les *trans*10, non recherchés dans la viande par les consommateurs. Le genre *Prevotella_7* a été associé à cette déviation. L'acide gras *trans* le plus étudié et recherché dans la viande est l'acide ruménique, formé à partir d'acide vaccénique. Il est favorisé par un régime riche en fourrages et a quant à lui été associé au genre *Prevotella_1*.

Concernant les paramètres zootechniques des agneaux, notre étude ne visait pas à les comparer selon le régime mais à chercher des corrélations avec certains acides gras ruminiaux et ordres bactériens. Nous avons notamment mis en évidence une corrélation positive entre l'épaisseur de gras dorsal et la proportion de deux AGS à chaîne moyenne, les acides vaccénique et myristique sous le régime à base de concentrés. Sous ce même régime, l'épaisseur de gras dorsal a également été corrélé au genre *Prevotella_1*, associé à la production d'acide vaccénique. Une forte proportion de C18:1*trans*10 au sein du rumen est quant à elle associée à une augmentation du gain moyen quotidien sous le régime DAC, soit le régime qui favorise leur formation.

D'après la littérature, les agneaux finis au pâturage présentent des saveurs plus fortes, ce qui n'est souvent pas recherché par le consommateur. La viande est aussi plus sombre, le tissu adipeux plus ferme et plus jaune. En revanche, elle est plus riche en oméga-3 et CLA bénéfiques pour la santé des consommateurs. Il est ainsi important, mais difficile, de trouver le rapport fourrages/concentrés ainsi que la durée de la période de finition, si elle est aux concentrés, qui permettra à la viande de répondre au mieux aux critères de l'éleveur et de l'Organisation Mondiale de la Santé. Des travaux récents ont montré qu'une complémentation avec du sainfoin au pâturage ou une finition courte en bergerie (pendant 3 semaines) permettait de diminuer la teneur de la viande en composés odorants sans diminuer les propriétés nutritionnelles de la viande (Martin, Prache 2022). L'étude des acides gras dans les différents tissus et notamment dans le gras intramusculaire de groupe d'agneaux soumis parallèlement,

soit au même âge, à des régimes différents, pourrait permettre d'apporter de meilleures corrélations entre les profils en acides gras du rumen et de la viande et de déterminer les différences zootechniques inter-régimes.

Bibliographie

AFZ, 2000. *La Banque de Données de l'Alimentation Animale* [en ligne]. 2000. [Consulté le 23 octobre 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.zootechnie.fr/mentions-l%C3%A9gales.html> Association Française de Zootechnie, 16 rue Claude Bernard 75213 Paris Cedex 05.

ALVES, Susana P., SANTOS-SILVA, José, CABRITA, Ana R. J., FONSECA, António J. M. et BESSA, Rui J. B., 2013. Detailed Dimethylacetal and Fatty Acid Composition of Rumen Content from Lambs Fed Lucerne or Concentrate Supplemented with Soybean Oil. *PLOS ONE*. 4 mars 2013. Vol. 8, n° 3, pp. e58386. DOI 10.1371/journal.pone.0058386.

ANSES, 2011. Saisine n° 2006-SA-0359, ANC AG : *Actualisation des Apports Nutritionnels Conseillés pour les acides gras*. Rapport d'expertise.

ANSES, 2021. Les lipides. *Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail* [en ligne]. 15 mars 2021. [Consulté le 1 novembre 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.anses.fr/fr/content/les-lipides>.

ARABA, A., BOUAROUR, M., BAS, P., MORAND-FEHR, P., EL AÏCH, A., KABBALI, A. Performance, carcass characteristics and meat quality of Timahdite-breed lambs finished on pasture or on hay and concentrate. In : Papachristou T.G. (ed.), Parissi Z.M. (ed.), Ben Salem H. (ed.), Morand-Fehr P. (ed.). *Nutritional and foraging ecology of sheep and goats*. Zaragoza : CIHEAM / FAO / NAGREF, 2009. p. 465469 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 85).

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1998. Official Method of Analysis. [en ligne]. 1998. [Consulté le 28 décembre 2022]. Disponible à l'adresse : [https://www.scirp.org/\(S\(oyulxb452alnt1aej1nfow45\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1353187](https://www.scirp.org/(S(oyulxb452alnt1aej1nfow45))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1353187).

AUROUSSEAU, B, BAUCHART, D, CALICHON, E, MICOL, D et PRIOLO, A, 2004. Effect of grass or concentrate feeding systems and rate of growth on triglyceride and phospholipid and their fatty acids in the M. longissimus thoracis of lambs. *Meat Science*. 1 mars 2004. Vol. 66, n° 3, pp. 531-541. DOI 10.1016/S0309-1740(03)00156-6.

BANNINK, A. et TAMMINGA, S., 2005. Rumen function. In : DIJKSTRA, J., FORBES, J. M. et FRANCE, J. (éd.), *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism* [en ligne]. Wallingford : CABI. pp. 263-288. [Consulté le 24 juillet 2022]. ISBN 978-0-85199-814-5. Disponible à l'adresse : <http://www.cabi.org/cabebooks/ebook/20053225694>.

BASTIANELLI, Denis, HOGREL, Patrick et GADY, Cécile, 2015. LA SPIR, UN OUTIL POUR L'ALIMENTATION DE PRECISION, DE L'USINE A L'ELEVAGE. . 2015. pp. 11. BAUCHART, D., LEGAY-CARMIER, F., DOREAU, M. et GAILLARD, B., 1990. Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid-supplemented diets. *The British Journal of Nutrition*. mai 1990. Vol. 63, n° 3, pp. 563-578. DOI 10.1079/bjn19900143.

BAUCHART, Dominique et RÉMOND, B., 1984. Long-chain fatty acid digestion in lactating cows fed fresh grass from spring to autumn. *Canadian Journal of Animal Science*. 1984.

Vol. 64, pp. 330-331. DOI 10.4141/cjas84-285.

BAUMONT, R. et DESWYSEN, Ag, 1991. Mélange et propulsion du contenu du réticulum. *Reproduction Nutrition Développement*. 1991. Vol. 31, n° 4, pp. 335-359. DOI 10.1051/rnd:19910401.

BELANCHE, Alejandro, KINGSTON-SMITH, Alison H., GRIFFITH, Gareth W. et NEWBOLD, Charles J., 2019. A Multi-Kingdom Study Reveals the Plasticity of the Rumen Microbiota in Response to a Shift From Non-grazing to Grazing Diets in Sheep. *Frontiers in Microbiology*. 2019. Vol. 10, pp. 122. DOI 10.3389/fmicb.2019.00122.

BESSA, Rui J. B., ALVES, Susana P. et SANTOS-SILVA, José, 2015. Constraints and potentials for the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2015. Vol. 117, n° 9, pp. 1325-1344. DOI 10.1002/ejlt.201400468.

BLOUIN, Jean-Marc, CHAVES, Valeria E., BORTOLI, Sylvie et FOREST, Claude, 2006. Effet des acides gras sur l'inflammation et le cancer. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*. Septembre 2006. Vol. 13, n° 5, pp. 331-336. DOI 10.1051/ocl.2006.0046.

BOKULICH, Nicholas A., SUBRAMANIAN, Sathish, FAITH, Jeremiah J., GEVERS, Dirk, GORDON, Jeffrey I., KNIGHT, Rob, MILLS, David A. et CAPORASO, J. Gregory, 2013. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nature methods*. janvier 2013. Vol. 10, n° 1, pp. 57-59. DOI 10.1038/nmeth.2276.

BOUCHONNET, Stéphane, 2009. *La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse*. Lavoisier. ISBN 978-2-7430-1668-5.

BOUGNOUX, Philippe, GIRAUDEAU, Bruno et COUET, Charles, 2006. Diet, cancer, and the lipidome. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. mars 2006. Vol. 15, n° 3, pp. 416-421. DOI 10.1158/1055-9965.EPI-05-0546.

BRUGÈRE, Hubert, 2019. Transformation du muscle en viande. Hygiène et industrie des aliments. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 2019.

BUCCIONI, Arianna, DECANDIA, Mauro, MINIERI, Sara, MOLLE, Giovanni et CABIDDU, Andrea, 2012. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal feed science and technology*. 2012. Vol. 174, n° 1-2, pp. 1-25. DOI 10.1016/j.anifeedsci.2012.02.009.

CANTALAPIEDRA-HIJAR, Gonzalo, FAVERDIN, Philippe, FRIGGENS, Nicolas C. et MARTIN, Pauline, 2020. Efficience Alimentaire : comment mieux la comprendre et en faire un élément de durabilité de l'élevage. *INRAE Productions Animales*. 2020. Vol. 33, n° 4, pp. 235-248. DOI 10.20870/productions-animales.2020.33.4.4594.

CHIKWANHA, Obert C., VAHMANI, Payam, MUCHENJE, Voster, DUGAN, Michael E. R. et MAPIYE, Cletos, 2018. Nutritional enhancement of sheep meat fatty acid profile for human health and wellbeing. *Food Research International*. 1 février 2018. Vol. 104, pp. 25-38. DOI 10.1016/j.foodres.2017.05.005.

CLÉMENT, G., 1956. DOSAGE DES LIPIDES DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES ; CONSIDÉRATIONS SUR LEUR VALEUR NUTRITIVE. *Annales de Zootechnie*. 1956. Vol. 5, n° 3, pp. 237-253. DOI 10.1051/animres:19560304.

CLINQUART, A., BRUNDSEAUX, C., DUFRASNE, I., ISTASSE, L. et MICOL, D., 1995. Utilisation des matières grasses chez les bovins à l'engraissement. *INRAE Productions Animales*. 21 février 1995. Vol. 8, n° 1, pp. 29-42. DOI 10.20870/productions-animales.1995.8.1.4102.

COLETTE, C. et MONNIER, L., 2011. Acides gras : classification, fonction et équilibre entre les différentes familles: Fatty acids: Classification, function and balance between the different families. *Médecine des Maladies Métaboliques*. 1 juin 2011. Vol. 5, n° 3, pp. 237-245. DOI 10.1016/S1957-2557(11)70234-6.

COTTA, M A, 1988. Amylolytic activity of selected species of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. mars 1988. Vol. 54, n° 3, pp. 772-776.

CUVELIER, C., CABARAUX, Jean-Francois, DUFRASNE, I., HORNICK, Jean-Luc et ISTASSE, L., 2004. Fatty acids: Nomenclature and dietary sources. *Annales de Médecine Vétérinaire*. 1 janvier 2004. Vol. 148, pp. 133-140.

CUVELIER, Christine, CABARAUX, Jean-François, DUFRASNE, Isabelle, ISTASSE, Louis et HORNICK, Jean-Luc, 2005a. Acides gras et métabolisme énergétique des muscles squelettiques chez le bovin. *Annales de Médecine Vétérinaire* [en ligne]. 2005. Vol. 149, n° 4. [Consulté le 25 septembre 2022]. Disponible à l'adresse : <https://orbi.uliege.be/handle/2268/8428>.

CUVELIER, Christine, CABARAUX, Jean-François, DUFRASNE, Isabelle, ISTASSE, Louis et HORNICK, Jean-Luc, 2005b. Production, digestion et absorption des acides gras chez le ruminant. *Annales de Médecine Vétérinaire* [en ligne]. 2005. Vol. 149, n° 1. [Consulté le 17 mai 2022]. Disponible à l'adresse : <https://orbi.uliege.be/handle/2268/8429>.

CUVELIER, Christine, CABARAUX, Jean-François, DUFRASNE, Isabelle, ISTASSE, Louis et HORNICK, Jean-Luc, 2005c. Transport sanguin et métabolisme hépatique des acides gras chez le ruminant. *Annales de Médecine Vétérinaire* [en ligne]. 2005. Vol. 149. [Consulté le 27 septembre 2022]. Disponible à l'adresse : <https://orbi.uliege.be/handle/2268/8397>.

DE BRITO, Gerlane F., PONNAMPALAM, Eric N. et HOPKINS, David L., 2017. The Effect of Extensive Feeding Systems on Growth Rate, Carcass Traits, and Meat Quality of Finishing Lambs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. janvier 2017. Vol. 16, n° 1, pp. 23-38. DOI 10.1111/1541-4337.12230.

DE OFEU AGUIAR PRADO, Lucas, 2018. *Prédiction de la production et de la composition de la matière grasse du lait par modélisation: rôle des flux de nutriments absorbés*. Paris Saclay. NNT:2018SACLA015.

DE SOUZA, Russell J, MENTE, Andrew, MAROLEANU, Adriana, COZMA, Adrian I, HA, Vanessa, KISHIBE, Teruko, ULERYK, Elizabeth, BUDYLOWSKI, Patrick, SCHÜNEMANN, Holger, BEYENE, Joseph et ANAND, Sonia S, 2015. Intake of saturated

and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ: British Medical Journal* [en ligne]. 2015. Vol. 351. [Consulté le 18 septembre 2022]. Disponible à l'adresse : <http://www.jstor.org/stable/26521460>.

DOREAU, M., DEMEYER, Daniël et VAN NEVEL, Cj, 1997. Transformations and effects of unsaturated fatty acids in the rumen. Consequences on milk fat secretion. *MILK COMPOSITION, PRODUCTION AND BIOTECHNOLOGY*. 1997. N° 18, pp. 73-92.

DOREAU, M., FIEVEZ, V., TROEGELER-MEYNADIER, A. et GLASSER, F., 2012. Métabolisme ruminal et digestion des acides gras longs chez le ruminant : le point des connaissances récentes. *INRAE Productions Animales*. 2 octobre 2012. Vol. 25, n° 4, pp. 361-374. DOI 10.20870/productions-animales.2012.25.4.3224.

DOREAU, Michel et CHILLIARD, Yves, 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *The British journal of nutrition*. 1 août 1997. Vol. 78 Suppl 1, pp. S15-35. DOI 10.1079/BJN19970132.

DYALL, Simon C., 2015. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2015. Vol. 7, pp. 52. DOI 10.3389/fnagi.2015.00052.

EKIZ, Bulent, DEMIREL, Gulcan, YILMAZ, Alper, OZCAN, Mustafa, YALCINTAN, Hulya, KOCAK, Omur et ALTINEL, Ahmet, 2013. Slaughter characteristics, carcass quality and fatty acid composition of lambs under four different production systems. *Small ruminant research*. 2013. Vol. 114, n° 1, pp. 26-34. DOI 10.1016/j.smallrumres.2013.05.011.

ENJALBERT, F., COMBES, S., ZENED, A. et MEYNADIER, A., 2017. Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. *Journal of Applied Microbiology*. Octobre 2017. Vol. 123, n° 4, pp. 782-797. DOI 10.1111/jam.13501.

ESCUDIÉ, Frédéric, AUER, Lucas, BERNARD, Maria, MARIADASSOU, Mahendra, CAUQUIL, Laurent, VIDAL, Katia, MAMAN, Sarah, HERNANDEZ-RAQUET, Guillermina, COMBES, Sylvie et PASCAL, Géraldine, 2018. FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. BERGER, Bonnie (éd.), *Bioinformatics*. 15 avril 2018. Vol. 34, n° 8, pp. 1287-1294. DOI 10.1093/bioinformatics/btx791.

FALENTIN, Hélène, AUER, Lucas, MARIADASSOU, Mahendra, PASCAL, Geraldine, RUÉ, Olivier, DUGAT-BONY, Eric, DELBES, Céline, NICOLAS, Aurelie, RIFA, Etienne, MONDY, Samuel, BOULCH, Malo, CAUQUIL, Laurent, HERNANDEZ RAQUET, Guillermina, TERRAT, Sebastien et ABRAHAM, Anne-Laure, 2019. Guide pratique à destination des biologistes, bioinformaticiens et statisticiens qui souhaitent s'initier aux analyses métabarcoding: Partage de pratiques et retours d'expérience des membres du pôle métagénomique du PEPI IBIS. Le Cahier des Techniques de l'Inra. 1 janvier 2019.

FERRAN, Aude, 2017. Motricité des estomacs chez les ruminants. Physiologie digestive. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 11 septembre 2017.

FIORENTINI, G., SANTANA, M. O., MESSANA, J. D., VALENTE, A. L. S., HÄRTER, C. J., RABELO, C. H. S., BARBERO, R. P., LANNA, D. P. D., REIS, R. A. et BERCHIELLI, T.

T., 2018. Effect of lipid sources on fatty acid profiles of meat from pasture- and feedlot-finished Nellore bulls. *Livestock Science*. 1 mai 2018. Vol. 211, pp. 52-60. DOI 10.1016/j.livsci.2018.03.006.

FONT-I-FURNOLS, M., REALINI, C., MONTOSSI, F., SAÑUDO, C., CAMPO, M. M., OLIVER, M. A., NUTE, G. R. et GUERRERO, L., 2011. Consumer's purchasing intention for lamb meat affected by country of origin, feeding system and meat price: A conjoint study in Spain, France and United Kingdom. *Food Quality and Preference*. 1 juillet 2011. Vol. 22, n° 5, pp. 443-451. DOI 10.1016/j.foodqual.2011.02.007.

FRANCISCO, Alexandra Eduarda, SANTOS-SILVA, José Manuel, PORTUGAL, Ana Paula V., ALVES, Susana Paula et BESSA, Rui José B., 2019. Relationship between rumen ciliate protozoa and biohydrogenation fatty acid profile in rumen and meat of lambs. *PLOS ONE*. 6 septembre 2019. Vol. 14, n° 9, pp. e0221996. DOI 10.1371/journal.pone.0221996.

GERBER, Pierre J., MOTTET, Anne, OPIO, Carolyn I., FALCUCCI, Alessandra et TEILLARD, Félix, 2015. Environmental impacts of beef production: Review of challenges and perspectives for durability. *Meat Science*. 1 novembre 2015. Vol. 109, pp. 2-12. DOI 10.1016/j.meatsci.2015.05.013.

GLASSER, Frederic, SCHMIDELY, Philippe, SAUVANT, Daniel et DOREAU, Michel, 2008. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors: 2. C18 fatty acids. *Animal*. 2008. Vol. 2, n° 5, pp. 691. DOI 10.1017/S1751731108002036.

GOOPY, John P., DONALDSON, Alastair, HEGARTY, Roger, VERCOE, Philip E., HAYNES, Fay, BARNETT, Mark et ODDY, V. Hutton, 2014. Low-methane yield sheep have smaller rumens and shorter rumen retention time. *British Journal of Nutrition*. février 2014. Vol. 111, n° 4, pp. 578-585. DOI 10.1017/S0007114513002936.

GUILLOCHEAU, Etienne, 2019. Effet protecteur des produits laitiers sur le risque de syndrome métabolique : quel est l'impact nutritionnel de l'acide trans-palmitoléique (C16:1 n-7 trans) ? Nutrition et pathologies métaboliques. Rennes : Université de Rennes 1.

HARFOOT, C. G. et HAZLEWOOD, G. P., 1997. Lipid metabolism in the rumen. In : HOBSON, P. N. et STEWART, C. S. (éd.), *The Rumen Microbial Ecosystem* [en ligne]. Dordrecht : Springer Netherlands. pp. 382-426. [Consulté le 13 octobre 2022]. ISBN 978-94-009-1453-7. Disponible à l'adresse : https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7_9

HAZLEWOOD, G. et DAWSON, R. M., 1979. Characteristics of a lipolytic and fatty acid-requiring *Butyrivibrio* sp. isolated from the ovine rumen. *Journal of General Microbiology*. mai 1979. Vol. 112, n° 1, pp. 15-27. DOI 10.1099/00221287-112-1-15.

HENDERSON, C., 1971. A study of the lipase produced by *Anaerovibrio lipolytica*, a rumen bacterium. *Journal of General Microbiology*. janvier 1971. Vol. 65, n° 1, pp. 81-89. DOI 10.1099/00221287-65-1-81.

HENDERSON, Gemma, GLOBAL RUMEN CENSUS COLLABORATORS, COX, Faith, GANESH, Siva, JONKER, Arjan, YOUNG, Wayne et JANSSEN, Peter H., 2015. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Scientific Reports*. 26 novembre 2015. Vol. 5, n° 1,

pp. 14567. DOI 10.1038/srep14567.

HUANG, Chun, GE, Fei, YAO, Xixi, GUO, Xian, BAO, Pengjia, MA, Xiaoming, WU, Xiaoyun, CHU, Min, YAN, Ping et LIANG, Chunnian, 2021. Microbiome and Metabolomics Reveal the Effects of Different Feeding Systems on the Growth and Ruminal Development of Yaks. *Frontiers in Microbiology* [en ligne]. 2021. Vol. 12. [Consulté le 15 décembre 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.682989>

HUDSON, J. A., MACKENZIE, C. A. M. et JOBLIN, K. N., 1995. Conversion of oleic acid to 10-hydroxystearic acid by two species of ruminal bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1 décembre 1995. Vol. 44, n° 1, pp. 1-6. DOI 10.1007/BF00164472.

HUIJBERS, Chantal, 2021. COL Checklist 2021. *COL* [en ligne]. 29 juillet 2021. [Consulté le 29 juillet 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.catalogueoflife.org/2021/07/29/release>.

HUWS, Sharon Ann, KIM, Eun Jun, CAMERON, Simon J. S., GIRDWOOD, Susan E., DAVIES, Lynfa, TWEED, John, VALLIN, Hannah et SCOLLAN, Nigel David, 2015. Characterization of the rumen lipidome and microbiome of steers fed a diet supplemented with flax and echium oil. *Microbial Biotechnology*. 2015. Vol. 8, n° 2, pp. 331-341. DOI 10.1111/1751-7915.12164.

INRAE, 2017. Lupin bleu | Tables de composition et de valeur nutritionnelle des aliments pour animaux. [en ligne]. 2021 2017. [Consulté le 23 octobre 2022]. Disponible à l'adresse : <https://feedtables.com/fr/content/lupin-bleu>.

INSTITUT DE L'ÉLEVAGE (éd.), 2018. ETUDE : Élevages bovins viande : s'adapter à la demande des marchés | FranceAgriMer - établissement national des produits de l'agriculture et de la mer. . 2018. pp. 42p.

INSTITUT DE L'ÉLEVAGE, 2022. 529 : *Dossier annuel ovins, Année 2021 - Perspectives 2022* [en ligne]. [Consulté le 21 juillet 2022]. Economie de l'élevage. Disponible à l'adresse : <https://idele.fr/detail-article/dossier-annuel-ovins-annee-2021-perspectives-2022>.

INSTITUT DE L'ÉLEVAGE ET DE LA CNE, 2020. Ovins 2020, productions lait et viande. Les chiffres clés du GEB. [en ligne]. 2020. [Consulté le 25 décembre 2022]. Disponible à l'adresse : www.idele.fr.

INTERBEV, 2021. *L'essentiel de la filière ovine Française 2021* [en ligne]. 2021. [Consulté le 21 juillet 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.interbev.fr/interbev/chiffres-cles/>

JARRIGE, RUCKEBUSCH, DEMARQUILLY, FARCE et JOURNET (éd.), 1995. *Nutrition des ruminants domestiques: ingestion et digestion*. Paris : Institut national de la recherche agronomique. Mieux comprendre. ISBN 978-2-7380-0629-5. 636.2 NUT, F.04.02-JAR-N.

KATZ, Ira et KEENEY, Mark, 1966. Occurrence of Ketostearic Acids in the Rumen1. *Journal of Dairy Science*. 1 août 1966. Vol. 49, n° 8, pp. 967-970. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(66)87991-2.

KEMP, P., WHITE, R. W. et LANDER, D. J., 1975. The hydrogenation of unsaturated fatty acids by five bacterial isolates from the sheep rumen, including a new species. *Journal of General Microbiology*. septembre 1975. Vol. 90, n° 1, pp. 100-114. DOI 10.1099/00221287-90-1-100.

KIM, Minseok, MORRISON, Mark et YU, Zhongtang, 2011a. Phylogenetic diversity of bacterial communities in bovine rumen as affected by diets and microenvironments. *Folia Microbiologica*. Septembre 2011. Vol. 56, n° 5, pp. 453-458. DOI 10.1007/s12223-011-0066-5.

KIM, Minseok, MORRISON, Mark et YU, Zhongtang, 2011b. Status of the phylogenetic diversity census of ruminal microbiomes: Status of microbial census in rumen. *FEMS Microbiology Ecology*. avril 2011. Vol. 76, n° 1, pp. 49-63. DOI 10.1111/j.1574-6941.2010.01029.x.

KOUBA, M., ENSER, M., WHITTINGTON, F. M., NUTE, G. R. et WOOD, J. D., 2003. Effect of a high-linolenic acid diet on lipogenic enzyme activities, fatty acid composition, and meat quality in the growing pig. *Journal of Animal Science*. août 2003. Vol. 81, n° 8, pp. 1967-1979. DOI 10.2527/2003.8181967x.

LAPUYADE, Marie-Anne, 2022. 387 : *Ovins : une production en léger repli et des prix record en 2021* | Agreste, la statistique agricole [en ligne]. Synthèses conjoncturelles. [Consulté le 21 juillet 2022]. Disponible à l'adresse : <https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/disaron/SynAbo22387/detail/>

LAROCLETTE, Brigitte et SANCHEZ-GONZALEZ, Joan, 2015. Cinquante ans de consommation alimentaire : une croissance modérée, mais de profonds changements. *Divison Synthèses des biens et services*. 2015. Vol. Insee Première, n° 1568, pp. 4.

LARUE, Ross, YU, Zhongtang, PARISI, Victoria A., EGAN, Adrian R. et MORRISON, Mark, 2005. Novel microbial diversity adherent to plant biomass in the herbivore gastrointestinal tract, as revealed by ribosomal intergenic spacer analysis and rrs gene sequencing. *Environmental microbiology*. Received 30 April, 2004; accepted 23 August, 2004. 2005. Vol. 7, n° 4, pp. 530-543. DOI 10.1111/j.1462-2920.2005.00721.x.

LECERF, Jean-Michel, 2014. La place de la viande dans la nutrition humaine - Intérêt nutritionnel et effets sur la santé de la consommation de viande. *Viandes et produits carnés*. 2014. VPC-2014-30-6-5. Disponible à l'adresse : www.viandesetproduitscarnes.com.

LEDOUX, Martial, 2012. Principaux constituants des lipides. Structure, classification, et nomenclature chimiques. *Cerin* [en ligne]. Décembre 2012. N° 132 et 133. [Consulté le 26 avril 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.cerin.org/wp-content/uploads/2012/12/132-133-principaux-constituants.pdf>Cholé-Doc.

LEGRAND, P, 2010. Intérêt nutritionnel des acides gras saturés. *Sciences des Aliments*. 28 août 2010. Vol. 29, n° 3-4, pp. 115-122. DOI 10.3166/sda.29.115-122.

LISTRAT A., LEBRET B., LOUVEAU I., ASTRUC T., BONNET M., LEFAUCHEUR L., BUGEON J., 2015. Comment la structure et la composition du muscle déterminent la qualité des viandes ou chairs. In : Numéro spécial, Le muscle et la viande. Picard B., Lebret B. (Eds).

INRA Prod. Anim., 28, 125-136.

LIU, Hongjin, XU, Tianwei, XU, Shixiao, MA, Li, HAN, Xueping, WANG, Xungang, ZHANG, Xiaoling, HU, Linyong, ZHAO, Na, CHEN, Yongwei, PI, Li et ZHAO, Xinquan, 2019. Effect of dietary concentrate to forage ratio on growth performance, rumen fermentation and bacterial diversity of Tibetan sheep under barn feeding on the Qinghai-Tibetan plateau. *PeerJ*. 5 août 2019. Vol. 7, pp. e7462. DOI 10.7717/peerj.7462.

LOPES, Lucas Dantas, DE SOUZA LIMA, André Oliveira, TAKETANI, Rodrigo Gouvêa, DARIAS, Phillip, DA SILVA, Lília Raquel Fé, ROMAGNOLI, Emiliana Manesco, LOUVANDINI, Helder, ABDALLA, Adibe Luiz et MENDES, Rodrigo, 2015. Exploring the sheep rumen microbiome for carbohydrate-active enzymes. *Antonie Van Leeuwenhoek*. juillet 2015. Vol. 108, n° 1, pp. 15-30. DOI 10.1007/s10482-015-0459-6.

LOURENÇO, M., RAMOS-MORALES, E. et WALLACE, R. J., 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal*. 1 janvier 2010. Vol. 4, n° 7, pp. 1008-1023. DOI 10.1017/S175173111000042X.

MAHÉ, Frédéric, ROGNES, Torbjørn, QUINCE, Christopher, DE VARGAS, Colomban et DUNTHORN, Micah, 2014. Swarm: robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *PeerJ*. 25 septembre 2014. Vol. 2, pp. e593. DOI 10.7717/peerj.593.

MAIA, Margarida R. G., CHAUDHARY, Lal C., FIGUERES, Lauren et WALLACE, R. John, 2007. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek*. mai 2007. Vol. 91, n° 4, pp. 303-314. DOI 10.1007/s10482-006-9118-2.

MAIA, Margarida RG, CHAUDHARY, Lal C, BESTWICK, Charles S, RICHARDSON, Anthony J, MCKAIN, Nest, LARSON, Tony R, GRAHAM, Ian A et WALLACE, Robert J, 2010. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiology*. Décembre 2010. Vol. 10, n° 1, pp. 52. DOI 10.1186/1471-2180-10-52.

MARTIN, Bruno et PRACHE, Sophie, 2022. Alimentation à l'herbe des herbivores : ce qui change pour les produits laitiers et carnés. *INRAE Institutionnel* [en ligne]. 2 septembre 2022. [Consulté le 26 novembre 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.inrae.fr/actualites/alimentation-lherbe-herbivores-ce-qui-change-produits-laitiers-carnes>.

MEMBRIVE, Claudia Maria Bertan, 2016. Anatomy and Physiology of the Rumen. In : MILLEN, Danilo Domingues, DE BENI ARRIGONI, Mario et LAURITANO PACHECO, Rodrigo Dias (éd.), *Rumenology* [en ligne]. Cham : Springer International Publishing. pp. 1-38. [Consulté le 24 novembre 2022]. ISBN 978-3-319-30533-2. Disponible à l'adresse : https://doi.org/10.1007/978-3-319-30533-2_1.

MOGICATO, Giovanni, 2015. Appareil digestif - Estomac des ruminants. Anatomie. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 2015.

MORAND-FEHR, P. et TRAN, G., 2001. La fraction lipidique des aliments et les corps gras utilisés en alimentation animale. *INRAE Productions Animales*. 17 décembre 2001. Vol. 14,

n° 5, pp. 285-302. DOI 10.20870/productions-animales.2001.14.5.3753.

MORGAVI, D., KELLY, W. J., JANSSEN, P. H. et ATTWOOD, G. T., 2013. La (méta)génomique des microorganismes du rumen et ses applications à la production des ruminants. *INRAE Productions Animales*. 18 août 2013. Vol. 26, n° 4, pp. 347-362. DOI 10.20870/productions-animales.2013.26.4.3163.

MOZAFFARIAN, Dariush et RIMM, Eric B., 2006. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. *JAMA*. 18 octobre 2006. Vol. 296, n° 15, pp. 1885-1899. DOI 10.1001/jama.296.15.1885.

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ (OMS), 2013. Déclaration de principe et actions recommandées en vue de réduire l'apport en graisses et les taux d'infarctus du myocarde dans la Région de la Méditerranée orientale. *World Health Organization - Regional Office for the Eastern Mediterranean* [en ligne]. 2013. [Consulté le 16 septembre 2022]. Disponible à l'adresse : <http://www.emro.who.int/fr/nutrition/strategiepolitique/policy-statement-2013.html>.

PAILLARD, Delphine, MCKAIN, Nest, CHAUDHARY, Lal C., WALKER, Nicola D., PIZETTE, Florian, KOPPOVA, Ingrid, MCEWAN, Neil R., KOPEČNÝ, Jan, VERCOE, Philip E., LOUIS, Petra et WALLACE, R. John, 2007. Relation between phylogenetic position, lipid metabolism and butyrate production by different *Butyrivibrio*-like bacteria from the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek*. mai 2007. Vol. 91, n° 4, pp. 417-422. DOI 10.1007/s10482-006-9121-7.

PARK, Yeonhwa, STORKSON, Jayne M., ALBRIGHT, Karen J., LIU, Wei et PARIZA, Michael W., 1999. Evidence that the trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids*. mars 1999. Vol. 34, n° 3, pp. 235-241. DOI 10.1007/s11745-999-0358-8.

POLAN, C. E., MCNEILL, J. J. et TOVE, S. B., 1964. BIOHYDROGENATION OF UNSATURATED FATTY ACIDS BY RUMEN BACTERIA¹. *Journal of Bacteriology*. octobre 1964. Vol. 88, n° 4, pp. 1056-1064.

PONCHEVILLE, MAILLARD, GERMAIN, JOURDAN, BODY, CHAJÈS et BOUGNOUX, 2003. Acides gras et prévention du cancer du sein : mythe ou réalité ? (Fatty acid and risk of breast cancer : a fact or not ?). *La Lettre du Gynécologue*. n°280. mars 2003. pp. 3.

PRIOLO, A., MICOL, D., AGABRIEL, J., PRACHE, S. et DRANSFIELD, E., 2002. Effect of grass or concentrate feeding systems on lamb carcass and meat quality. *Meat Science*. octobre 2002. Vol. 62, n° 2, pp. 179-185. DOI 10.1016/S0309-1740(01)00244-3.

PRIOLO, Alessandro, MICOL, Didier et AGABRIEL, Jacques, 2001. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. *Animal Research*. 1 mai 2001. Vol. 50, n° 3, pp. 185-200. DOI 10.1051/animres:2001125.

RAINERI, C., STIVARI, T. S. S. et GAMEIRO, A. H., 2015. Lamb Production Costs: Analyses of Composition and Elasticities Analysis of Lamb Production Costs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. août 2015. Vol. 28, n° 8, pp. 1209-1215. DOI 10.5713/ajas.14.0585.

RÉMÉSY, C., CHILLIARD, Y., RAYSSIGUIER, Y., MAZUR, A. et DEMIGNÉ, C., 1986. Le métabolisme hépatique des glucides et des lipides chez les ruminants : principales interactions durant la gestation et la lactation. *Reproduction Nutrition Développement*. 1986. Vol. 26, n° 1B, pp. 205-226. DOI 10.1051/rnd:19860205.

ROCHE, Helen M., NOONE, Enda, SEWTER, Ciaran, MC BENNETT, Siobhan, SAVAGE, David, GIBNEY, Michael J., O'RAHILLY, Stephen et VIDAL-PUIG, Antonio J., 2002. Isomer-dependent metabolic effects of conjugated linoleic acid: insights from molecular markers sterol regulatory element-binding protein-1c and LXRalpha. *Diabetes*. juillet 2002. Vol. 51, n° 7, pp. 2037-2044. DOI 10.2337/diabetes.51.7.2037.

ROSE, David P., CONNOLLY, Jeanne M., RAYBURN, Jodie et COLEMAN, Melissa, 1995. Influence of Diets Containing Eicosapentaenoic or Docosahexaenoic Acid on Growth and Metastasis of Breast Cancer Cells in Nude Mice. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 19 avril 1995. Vol. 87, n° 8, pp. 587-592. DOI 10.1093/jnci/87.8.587.

SADET, Sophie, 2008. *Etude de la diversité spécifique des bactéries attachées à la paroi du rumen : effet du régime alimentaire* [en ligne]. phdthesis. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. [Consulté le 14 juin 2022]. Disponible à l'adresse : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00728351>.

SADET-BOURGETEAU, S., MARTIN, C. et MORGAVI, D. P., 2010. Bacterial diversity dynamics in rumen epithelium of wethers fed forage and mixed concentrate forage diets. *Veterinary Microbiology*. 20 novembre 2010. Vol. 146, n° 1, pp. 98-104. DOI 10.1016/j.vetmic.2010.04.029.

SAGOT, L. et POTTIER, E., 2012. Gras mou : origines et solutions techniques. *Institut de l'Élevage/IDELE* [en ligne]. 28 juin 2012. [Consulté le 1 novembre 2022]. Disponible à l'adresse : https://idele.fr/ciirpo/publications/detail-article?tx_atolidelecontenus_publicationdetail%5Baction%5D=showArticle&tx_atolidelecontenus_publicationdetail%5Bcontroller%5D=Detail&tx_atolidelecontenus_publicationdetail%5Bpublication%5D=1336&cHash=a5c45e4c49d45f343baef7f843f08b10.

SALAMI, Saheed A., VALENTI, Bernardo, LUCIANO, Giuseppe, LANZA, Massimiliano, UMEZURIKE-AMAHAH, Ngozi M., KERRY, Joseph P., O'GRADY, Michael N., NEWBOLD, Charles J. et PRIOLO, Alessandro, 2021. Dietary cardoon meal modulates rumen biohydrogenation and bacterial community in lambs. *Scientific Reports*. 10 août 2021. Vol. 11, n° 1, pp. 16180. DOI 10.1038/s41598-021-95691-3.

SHAHIDI, Fereidoon (éd.), 1994. *Flavor of Meat and Meat Products* [en ligne]. Boston, MA : Springer US. [Consulté le 1 novembre 2022]. ISBN 978-1-4613-5911-1. Disponible à l'adresse : <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-2177-8>.

SOUSA, Joana, ALVES, Gilberto, CAMPOS, Gonçalo, FORTUNA, Ana et FALCÃO, Amílcar, 2013. First liquid chromatography method for the simultaneous determination of levofloxacin, pazufloxacin, gatifloxacin, moxifloxacin and trovafloxacin in human plasma. *Journal of Chromatography B*. 1 juillet 2013. Vol. 930, pp. 104-111. DOI 10.1016/j.jchromb.2013.04.036.

SPIELMANN, Danièle et MENDY, François, 1993. Nomenclature, synthèse et métabolisme des acides gras insaturés. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 1 janvier 1993. Vol. 7, n° 1, pp. 3-18. DOI 10.1016/S0985-0562(05)80053-6.

STAHL, D A, FLESHER, B, MANSFIELD, H R et MONTGOMERY, L, 1988. Use of phylogenetically based hybridization probes for studies of ruminal microbial ecology. *Applied and Environmental Microbiology*. mai 1988. Vol. 54, n° 5, pp. 1079-1084.

STERK, Attje-Rieke, 2011. *Ruminal fatty acid metabolism. Altering rumen biohydrogenation to improve milk fatty acid profile of dairy cows*. [en ligne]. Doctoral thesis. Wageningen University. [Consulté le 5 avril 2022]. Disponible à l'adresse : <https://edepot.wur.nl/178582>.

STEWART, C. S., FLINT, H. J. et BRYANT, M. P., 1997. The rumen bacteria. In : HOBSON, P. N. et STEWART, C. S. (éd.), *The Rumen Microbial Ecosystem* [en ligne]. Dordrecht : Springer Netherlands. pp. 10-72. [Consulté le 1 juin 2022]. ISBN 978-94-009-1453-7. Disponible à l'adresse : https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7_2.

TAJIMA, Kiyoshi, AMINOV, Roustam I, NAGAMINE, Takafumi, OGATA, Koretsugu, NAKAMURA, Mutsumi, MATSUI, Hiroki et BENNO, Yoshimi, 1999. Rumen bacterial diversity as determined by sequence analysis of 16S rDNA libraries. *FEMS Microbiology Ecology*. juin 1999. Vol. 29, n° 2, pp. 159-169. DOI 10.1111/j.1574-6941.1999.tb00607.x.

TROEGELER-MEYNADIER, Annabelle, BRET-BENNIS, Lydie et ENJALBERT, F., 2006. Rates and efficiencies of reactions of ruminal biohydrogenation of linoleic acid according to pH and polyunsaturated fatty acids concentrations. *Reproduction Nutrition Development*. 1 novembre 2006. Vol. 46, n° 6, pp. 713-724. DOI 10.1051/rnd:2006046.

VAN NEVEL, C. J. et DEMEYER, D. I., 1996. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. *Reproduction, Nutrition, Development*. 1996. Vol. 36, n° 1, pp. 53-63. DOI 10.1051/rnd:19960105.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B. et LEWIS, B. A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. octobre 1991. Vol. 74, n° 10, pp. 3583-3597. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.

VARGAS, Julio Ernesto, ANDRÉS, Sonia, LÓPEZ-FERRERAS, Lorena et LÓPEZ, Secundino, 2020. Effects of supplemental plant oils on rumen bacterial community profile and digesta fatty acid composition in a continuous culture system (RUSITEC). *Anaerobe*. février 2020. Vol. 61, pp. 102143. DOI 10.1016/j.anaerobe.2019.102143.

VLAEMINCK, B., FIEVEZ, V., CABRITA, A. R. J., FONSECA, A. J. M. et DEWHURST, R. J., 2006. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Animal Feed Science and Technology*. 15 décembre 2006. Vol. 131, n° 3, pp. 389-417. DOI 10.1016/j.anifeedsci.2006.06.017.

WALLACE, R. John, MCKAIN, Nest, SHINGFIELD, Kevin J. et DEVILLARD, Estelle, 2007. Isomers of conjugated linoleic acids are synthesized via different mechanisms in ruminal digesta and bacteria. *Journal of Lipid Research*. octobre 2007. Vol. 48, n° 10, pp. 2247-2254. DOI 10.1194/jlr.M700271-JLR200.

WHITE, CANN, I.K.O., KOCHERGINSKAYA, S.A., AMINOV, Rustam, L.A. THILL, MACKIE, Roderick et ONODERA, and, 1998. Molecular analysis of Archaea, Bacteria and Eucarya communities in the rumen - review. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*. 1 janvier 1998. Vol. 12, pp. 129-138.

WHITFORD, Marc F, FORSTER, Robert J, BEARD, Cheryl E, GONG, Jianhua et TEATHER, Ronald M, 1998. Phylogenetic Analysis of Rumen Bacteria by Comparative Sequence Analysis of Cloned 16S rRNA Genes. *Anaerobe*. 1 juin 1998. Vol. 4, n° 3, pp. 153-163. DOI 10.1006/anae.1998.0155.

WILSON, A. D., 1963. The effect of diet on the secretion of parotid saliva by sheep. III. Observations of the secretion of saliva by grazing sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*. 1963. Vol. 14, n° 6, pp. 808-814. DOI 10.1071/ar9630808.

WOOD, J. D., 1990. Consequences for meat quality of reducing carcass fatness. *Consequences for meat quality of reducing carcass fatness*. 1990. pp. 344-397.

WOOD, J.D., ENSER, M., FISHER, A.V., NUTE, G.R., SHEARD, P.R., RICHARDSON, R.I., HUGHES, S.I. et WHITTINGTON, F.M., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*. avril 2008. Vol. 78, n° 4, pp. 343-358. DOI 10.1016/j.meatsci.2007.07.019.

WOODS, Vanessa B. et FEARON, Anna M., 2009. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. *Livestock Science*. 1 décembre 2009. Vol. 126, n° 1, pp. 1-20. DOI 10.1016/j.livsci.2009.07.002.

YANG, A., LARSEN, T. W., SMITH, S. B. et TUME, R. K., 1999. $\Delta 9$ desaturase activity in bovine subcutaneous adipose tissue of different fatty acid composition. *Lipids*. 1999. Vol. 34, n° 9, pp. 971-978. DOI 10.1007/s11745-999-0447-8.

YU, S., DERR, J., ETHERTON, T. D. et KRIS-ETHERTON, P. M., 1995. Plasma cholesterol-predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monounsaturated fatty acids are hypocholesterolemic. *The American Journal of Clinical Nutrition*. mai 1995. Vol. 61, n° 5, pp. 1129-1139. DOI 10.1093/ajcn/61.4.1129.

ZENED, Asma, FORANO, Evelyne, DELBES, Céline, VERDIER-METZ, Isabelle, MORGAVI, Diego, POPOVA, Milka, RAMAYO-CALDAS, Yulixaxis, BERGONIER, Dominique, MEYNADIER, Annabelle et MARIE-ETANCELIN, Christel, 2021. Les microbiotes des ruminants : état des lieux de la recherche et impacts des microbiotes sur les performances et la santé des animaux. *INRAE Productions Animales*. 6 avril 2021. Vol. 33, n° 4, pp. 249-260. DOI 10.20870/productions-animales.2020.33.4.4597.

ZHANG, Haibo, DONG, Xianwen, WANG, Zhisheng, ZHOU, Aiming, PENG, Quanhui, ZOU, Huawei, XUE, Bai et WANG, Lizhi, 2016. Dietary conjugated linoleic acids increase intramuscular fat deposition and decrease subcutaneous fat deposition in Yellow Breed × Simmental cattle. *Animal Science Journal*. 2016. Vol. 87, n° 4, pp. 517-524. DOI 10.1111/asj.12447.

ZHANG, Zhian, NIU, Xiaolin, LI, Fei, LI, Fadi et GUO, Long, 2020. Ruminant cellulolytic bacteria abundance leads to the variation in fatty acids in the rumen digesta and meat of fattening lambs. *Journal of Animal Science*. 1 juillet 2020. Vol. 98, n° 7, pp. skaa228. DOI 10.1093/jas/skaa228.

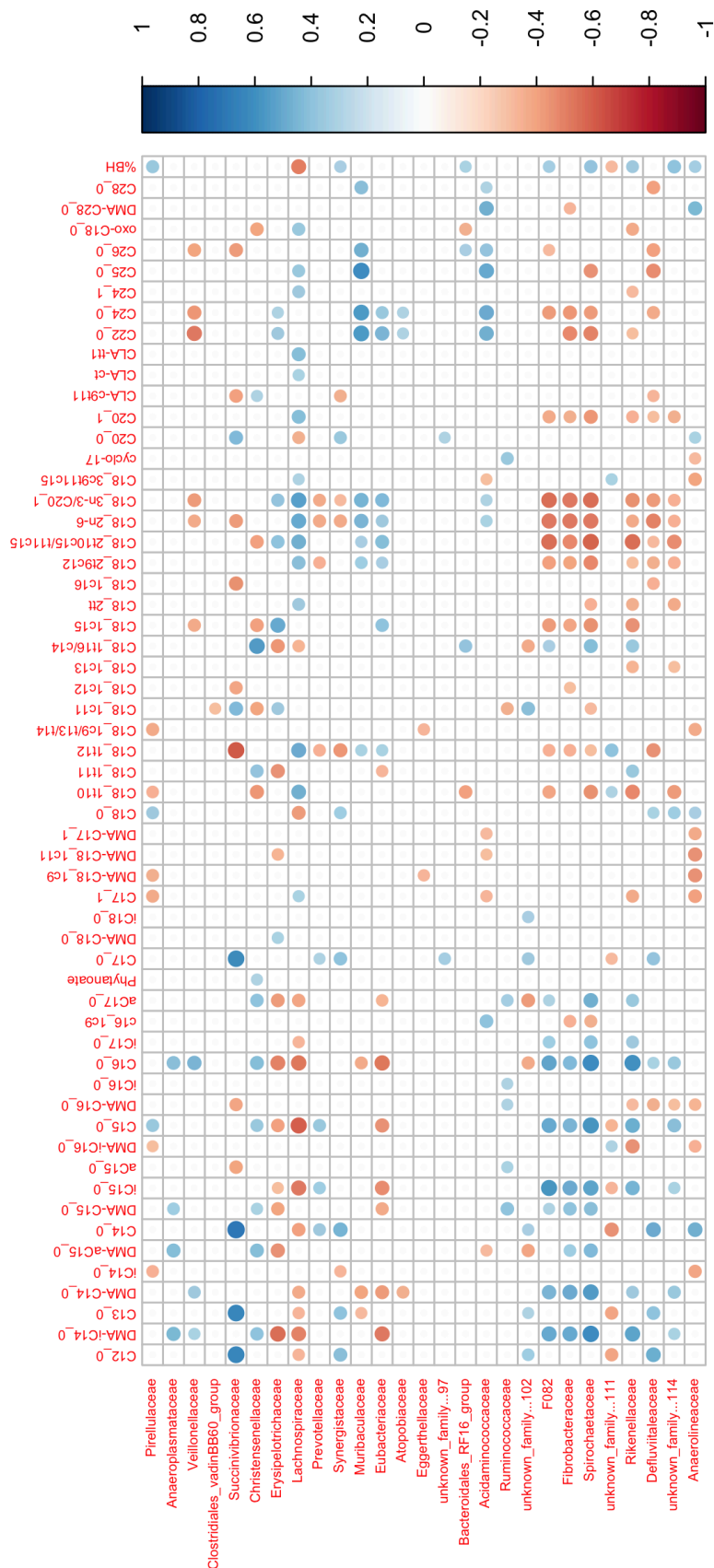
Annexes

Annexe 1 : Principaux acides gras saturés et insaturés retrouvés à l'état naturel (Cuvelier et al. 2004)

Symbole (nomenclature normalisée)	Symbole (nomenclature oméga)	Structure chimique	Nom systématique de l'acide	Nom commun de l'acide
C1 : 0	C1 : 0	Acides gras saturés CH ₃ COOH	l'éthanoïque	formique
C2 : 0	C2 : 0	CH ₃ COOH	Éthanoïque	acétique
C3 : 0	C3 : 0	CH ₃ CH ₂ COOH	Propanoïque	propionique
C4 : 0	C4 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	Butanoïque	butyrique
C5 : 0	C5 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH	Pentanoïque	valérique
C5 : 0 iso	C5 : 0 iso	CH ₃ CH(CH ₃)CH ₂ COOH	l'éthyl-3 butanoïque	isovalérique
C6 : 0	C6 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	Hexanoïque	caproïque
C7 : 0	C7 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₅ COOH	Heptanoïque	éthanthique
C8 : 0	C8 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH	Octanoïque	caprylique
C9 : 0	C9 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₇ COOH	Nonanoïque	péargonique
C10 : 0	C10 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH	Décanoïque	caprique
C12 : 0	C12 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	Dodécanoïque	laurique
C14 : 0	C14 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	Tétradécanoïque	myristique
C16 : 0	C16 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	Hexadécanoïque	palmitique
C18 : 0	C18 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	Octadécanoïque	stéarique
C20 : 0	C20 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	Icosanoïque ¹	arachidique
C22 : 0	C22 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH	Docosanoïque	béhnique
C24 : 0	C24 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	Tétracosanoïque	lignocérique
C26 : 0	C26 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂₄ COOH	Hexacosanoïque	cérotique
C28 : 0	C28 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂₆ COOH	Octacosanoïque	montanique
C30 : 0	C30 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂₈ COOH	Tricotsanoïque	mélissique
		Acides gras insaturés		
		monoinsaturés		
C12 : 1 ω-3	C12 : 1 ω-3	CH ₃ CH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis-9-dodécénoïque	lauroléique
C14 : 1 ω-5	C14 : 1 ω-5	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis-9-tétradécénoïque	myristoléique
C16 : 1 ω-7	C16 : 1 ω-7	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis-9-hexadécénoïque	palmitoléique
C18 : 1 ω-12	C18 : 1 ω-12	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	trans-6-octadécénoïque	pétoisélaïdique
C18 : 1 (9)	C18 : 1 (9)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis-9-octadécénoïque	oléique
C18 : 1 (trans 9)	C18 : 1 (trans 9)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	trans-9-octadécénoïque	élaïdique
C18 : 1 (11)	C18 : 1 (11)	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis-11-octadécénoïque	vaccénique
C20 : 1 (9)	C20 : 1 (9)	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH	trans-11-octadécénoïque	trans vaccénique
C22 : 1 (11)	C22 : 1 (11)	CH ₃ (CH ₂) ₉ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH	cis-9-icosénoïque ⁽¹⁾	gadoléique
C22 : 1 (13)	C22 : 1 (13)	CH ₃ (CH ₂) ₉ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH	cis-11-docosénoïque	cétoléique
C24 : 1 (15)	C24 : 1 (15)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₁ COOH	cis-13-docosénoïque	éruclique
		polyinsaturés		
C18 : 2 ω-6	C18 : 2 ω-6	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis,cis-9,12-octadécadiénoïque	linoléique
C18 : 2 ω-7	C18 : 2 ω-7	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis,trans-9,11-octadécadiénoïque	linoléique conjugué cis-9, trans-11 ou ruménique
C18 : 2 (trans 10,12)	C18 : 2 ω-6	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CHCH=CH(CH ₂) ₇ COOH	trans,cis-10,12-octadécadiénoïque	linoléique conjugué trans-10, cis-12
C18 : 3 (6,9,12)	C18 : 3 ω-6	CH ₃ (CH ₂) ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₃ COOH	cis,cis,cis-6,9,12-octadécatriénoïque	γ-linolénique
C18 : 3 (9,12,15)	C18 : 3 ω-3	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₃ COOH	cis,cis,cis-9,12,15-octadécatriénoïque	α-linolénique
C18 : 3 (trans 11,trans 13)	C18 : 3 ω-5	CH ₃ (CH ₂) ₃ (CH=CH) ₂ (CH ₂) ₃ COOH	cis,trans,trans-9,11,13-octadécatriénoïque	α-éléostéarique
C20 : 4 (5,8,11,14)	C20 : 4 ω-6	CH ₃ (CH ₂) ₃ (CH=CH) ₃ (CH ₂) ₃ COOH	cis,cis,cis,cis-5,8,11,14-tétraénoïque ⁽¹⁾	arachidonique
C20 : 5 (5,8,11,14,17)	C20 : 5 ω-3	CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₃ COOH	cis,cis,cis,cis,cis-5,8,11,14,17-icosapentaénoïque ¹	
C22 : 5 (4,8,12,15,19)	C22 : 5 ω-3	CH ₃ CH ₂ CH=CH(CH ₂) ₃ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₃ COOH	cis,cis,cis,cis,cis-4,8,12,15,19-docosapentaénoïque	
C22 : 6 (4,7,10,13,16,19)	C22 : 6 ω-3	CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₃ COOH	cis,cis,cis,cis,cis,cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaénoïque	cuplanodonique

(1) Le préfixe *icosano* a remplacé *éicosano*

Annexe 2a : Matrice de corrélation entre les acides gras, le pourcentage de biohydrogénation et le microbiote sous le régime DAC



Annexe 2b: Matrice de corrélation entre les acides gras, le pourcentage de biohydrogénation et le microbiote sous le régime DAF



REMY Chloé - Étude de la biohydrogénation des acides gras alimentaires par le microbiote ruminal, pour des moutons mâles de race Romane sélectionnés sur leur efficacité alimentaire et soumis à deux régimes différents.

Résumé :

Dans un contexte de prise de conscience écologique, consommer moins tout en consommant mieux est devenu un enjeu central pour les consommateurs, qui recherchent davantage la qualité nutritionnelle et environnementale des produits. L'alimentation des ovins et la qualité des viandes qui en découle entre dans cet objectif. Cette étude s'intéresse aux acides gras longs du rumen d'ovins allaitants mâles de race Romane, soumis alternativement à deux régimes, le premier entièrement à base de concentrés, le second constitué d'environ deux tiers de fourrages et d'un tiers de concentrés. Le profil en acides gras du rumen dépend de plusieurs paramètres et notamment des sources de matières grasses de l'aliment et du microbiote bactérien qui l'occupe. Pour l'étudier, des prélèvements de contenus ruminiaux ont été réalisés en fin de chaque phase d'alimentation. Les acides gras ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse et le microbiote bactérien a été séquencé via le gène codant l'ARN 16S. En fin de chaque phase, les gains moyens quotidiens, épaisseurs de gras dorsal et épaisseurs de muscle ont été mesurés pour chaque animal. Nous avons montré des différences majeures de communautés bactériennes et classes d'acides gras ruminiaux entre les deux régimes. Un régime riche en fourrages favorise la saturation des acides gras alimentaires tandis qu'un régime riche en concentrés favorise l'apparition d'intermédiaires, et notamment *trans*, plus ou moins recherchés dans la viande. Un acide gras *trans* majeur est le C18:1*trans*10, dont l'effet en terme de santé est délétère. L'implication de *Prevotella_7* dans sa formation a été mise en évidence. Le genre *Prevotella_1* a quant à lui été corrélé à la formation de C18:1*trans*11. Certaines relations avec les paramètres zootechniques ont également été démontrées.

Mots-clés : Acides gras longs, saturés, insaturés, rumen, microbiote, biohydrogénation, ovins.

Abstract:

Consume less by consuming better is the new concern in a society that seeks more nutritional and environmental quality of the products. The feeding of sheep and meat quality participate in that objective. This study aims at describing ruminal long fatty acids of male sheep of Romane breed. They were firstly fed with concentrates exclusively for six weeks and then with a one third concentrates and two thirds forages diet also for six weeks. Ruminal fatty acids profile especially depends on food sources of fat and bacterial microbiota and has been studied by collecting samples of ruminal content at the end of each feeding phase. Fatty acids have been submitted to gas chromatograph and mass spectrometer analysis and bacterial microbiota has been sequenced with the gene that codes for 16S RNA. Moreover, at the end of each feeding phase, average daily weight gain, backfat thickness and muscle depth have been measured for each animal. Bacterial communities and ruminal fatty acids classes were significantly different between the two diets. A forage diet favors saturated fatty acids whereas a concentrate diet favors *trans* intermediates in the rumen, particularly the C18:1*trans*10, which is not sought in meat products. *Prevotella_7* has been associated with the formation of this fatty acid, while *Prevotella_1* has been associated with C18:1*trans*11. Some correlations have been demonstrated between zootechnical parameters and ruminal fatty acids on the one hand, and bacterial microbiota on the other hand.

Keywords: Long fatty acids, saturated, unsaturated, rumen, microbiota, biohydrogenation, sheep.