

Influence du repas sur l'activité enzymatique des différentes populations microbiennes du rumen

C Martin, B Michalet-Doreau

INRA, station de recherche sur la Nutrition des herbivores, unité de la Valeur alimentaire INRA,
Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France

Summary — Influence of time after feeding on enzymatic activity in different microbial populations from rumen digesta. The activities of polysaccharidases and glycosidases were monitored in the liquid-associated bacterial (LAB) protozoal (LAP) and solid-associated bacterial fractions (SAB) separated from bovine rumen content collected 1 h before and 3 h after feeding. Enzyme activities were most active in the SAB and remained constant in the LAP. Enzymes involved in the degradation of soluble carbohydrates increased in the LAB 3 h post-feed period and at the end of the post-prandial period (1 h before) in the SAB.

L'activité enzymatique des différentes populations microbiennes du rumen, bactéries et protozoaires associées à la phase liquide (LAB, LAP) et bactéries adhérentes à la phase solide (SAB), détermine la vitesse de dégradation des glucides alimentaires, et plus particulièrement des glucides pariétaux. Elle varie en fonction de l'heure de prélèvement par rapport au repas et du type de population microbienne considérée (Williams *et al*, 1989). Par ailleurs, la population de protozoaires (LAP) a rarement été dissociée de celle des bactéries (LAB), or elle jouerait un rôle non négligeable dans la dégradation des constituants pariétaux (Czerkawski *et al*, 1988). Aussi, dans cette étude, nous avons voulu mettre en évidence l'effet du repas sur l'activité enzymatique respective de 3 populations microbiennes : LAB, LAP et SAB.

Matériel et méthodes — Quatre vaches tarries de race jersiaise, munies d'une canule du rumen, reçoivent en quantité limitée une ration constituée exclusivement de foin (16,5% MAT) et distribuée en 1 repas/j à 8 h. Un échantillon représentatif de contenu ruminal est prélevé 1 h avant le repas et 3 h après, puis filtré pour séparer la phase solide de la phase liquide. Après dilution, incubation et élimination des particules,

le liquide est centrifugé (1 000 g, 10 min, T° ambiante). Le surnageant est centrifugé à nouveau (15 000 g, 20 min, 4°C) pour isoler les bactéries de la phase liquide (LAB), tandis que le culot de protozoaires est abondamment lavé puis filtré sur un tissu de 20 µ (LAP). Dix grammes de phase solide sont lavés, broyés et battus au stomacher (5 min) pour détacher les bactéries adhérentes aux particules (SAB). Chaque population est reprise dans 20 ml de conservateur puis soniquée (4 x 30 s). Le surnageant obtenu après centrifugation (5 000 g, 15 min, 4°C) est utilisé pour les mesures d'activités enzymatiques. L'ensemble de ces traitements se fait en anaérobiose.

L'activité des glycosidases et des polysaccharidases (voir liste dans le tableau I) est respectivement déterminée en dosant par spectrophotométrie la quantité de *p*-nitrophénol et la quantité de sucres réducteurs libérés à partir de différents substrats glucidiques (Williams *et al*, 1984). L'activité enzymatique de chaque préparation est rapportée à la quantité de protéines dosée, selon la technique de Bradford (1976). Les résultats ont été traités par une analyse de variance à 3 facteurs de variations, l'animal, le temps et le type de population microbienne, avec interaction entre la population et le temps (procédure GLM de SAS).

Résultats et discussion — Les SAB ont une activité enzymatique systématiquement supérieure à celle des populations de la phase liquide, l'activité des LAB étant

proche de celle des LAP à l'exception de la β -D-galactosidase et α -D-glucosidase. L'activité glucidique des LAP ne varie pas avant (-1 h) ou après le repas (+ 3 h) quel que soit le substrat considéré. Au contraire, pour les LAB et les SAB, l'ingestion de foin a un effet significatif sur les principales enzymes intervenant dans la dégradation des sucres simples. L'activité de la β -D-xylosidase, β -D-glucosidase et α -D-glucosidase des LAB augmente 3 h après le repas, alors que celle des SAB (β -D-xylosidase, α -D-glucosidase) est plus active 1 h avant. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Williams *et al* (1984, 1989). L'activité des polysaccharidases est semblable au point -1 h et +3 h pour les 3 populations microbiennes.

Il semblerait donc que, dans le processus de la dégradation des sucres simples, la population bactérienne de la phase li-

quide intervienne dans les heures qui suivent le repas, alors que la population bactérienne de la phase solide est d'autant plus active que l'on s'éloigne du repas. Ce temps de latence serait nécessaire, d'une part, à la fixation des bactéries aux particules et, d'autre part, à la dégradation des polysaccharides en sucres simples. Les variations nyctémérales de l'activité polysaccharidique des SAB (Williams *et al*, 1989) n'ont pu être mises en évidence avec les heures de prélèvement fixées pour cet essai.

- Bradford M (1976) *Anal Biochem* 72, 248-254
 Czerkawski JW, Cheng KJ (1988) *The Rumen Microbial Ecosystem* (Hobson PN, ed). Elsevier, London, 361-385
 Williams AG, Strachan NH (1984) *Curr Microbiol* 10, 215-220
 Williams AG, Withers SE, Strachan NH (1989) *J Appl Bacteriol* 66, 15-26

Tableau I. Activité enzymatique spécifique¹ des LAB, LAP, SAB isolés à partir de la phase liquide et solide de contenu ruminal de 4 vaches.

Population microbienne heure/repas	LAB		LAP		SAB		Effet	
	-1 h	+3 h	-1 h	+3 h	-1 h	+3 h	Pop	popxtps
<i>Glycosidases</i>								
β -D-Galactosidase	84,7 ^a	107,6 ^a	9,5 ^a	22,1 ^a	169,9 ^a	162,5 ^a	*	NS
β -D-Xylosidase	58,9 ^a	91,2 ^b	22,3 ^a	24,4 ^a	386,6 ^a	289,5 ^b	*	*
β -D-Glucosidase	84,1 ^a	182,6 ^b	217,8 ^a	165,2 ^b	357,1 ^a	340,8 ^a	*	*
α -D-Glucosidase	32,1 ^a	59,4 ^b	7,5 ^a	5,9 ^a	59,2 ^a	43,3 ^b	*	*
β -D-Cellobiosidase	22,1 ^a	31,7 ^a	32,7 ^a	37,3 ^a	135,8 ^a	122,7 ^a	*	NS
<i>Polysaccharidases</i>								
Carboxyméthylcellulase	0,3 ^a	0,1 ^a	3,7 ^a	3,0 ^a	15,4 ^a	15,4 ^a	*	NS
Xylanase	2,6 ^a	3,6 ^a	5,6 ^a	2,7 ^a	77,5 ^a	87,5 ^a	*	NS

¹ Exprimée en nmol de p-nitrophénol libérées/mg de protéines/min (glycosidases) et en mg de sucres réducteurs libérés/mg de protéines/min (polysaccharidases). * Différence significative 1%: NS: non significatif. Une lettre différente en exposant correspond à une différence significative entre les temps -1 h et +3 h pour une même population microbienne.