

**Utilisation de l'électrophorèse pour étudier la dégradation dans le rumen des protéines du tourteau de colza.** J Aufrère, D Graviou (INRA, unité Valeur alimentaire, station de recherches sur la nutrition des herbivores, centre de recherches de Clermont-Ferrand, 63122 Saint-Genès-Champagne, France)

Le système PDI (protéines digestibles dans l'intestin) est basé sur l'hypothèse que les protéines alimentaires solubilisées sont complètement dégradées dans le rumen. Nous avons étudié la dégradation dans le rumen des protéines d'un tourteau de colza en identifiant les protéines résiduelles par électrophorèse et en caractérisant les différentes formes azotées dans le jus de rumen. La dégradation en sachets de nylon de l'azote total (Nt) de l'aliment a été mesurée entre 0 et 48 h (dégradabilité théorique = 59,8) dans le rumen de 4 moutons recevant un régime constitué de 40% de ce tourteau et de 60% de foin. Les prélèvements de jus de rumen ont été effectués 2 j de suite avant le repas et 1 h, 2 h, 4 h, 7 h après le repas, mis immédiatement dans la glace et centrifugés 2 fois à 27 000 g pendant 20 min.

Les protéines du tourteau de colza, des fractions purifiées [cruciférine (12S), napine (2S)], des résidus des cinétiques de dégradation en sachets de nylon et du jus de rumen, ont été séparées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de sodium-dodécylsulfate. Les globulines 12S, qui sont constituées de plusieurs sous-unités de poids moléculaires différents (PM de 18 500, 21 100, 26 800, 31 200), sont plus résistantes à la dégradation dans le rumen (on les observe jusqu'à 24 h dans les sachets), que les albumines 2S (PM 8 000 et 10 000), dont la fraction de PM 8 000 a disparu au temps 2 h et celle de PM 10 000 au temps 16 h. À 48 h, on n'extrait plus de protéines des résidus de sachets mais il est vrai qu'ils ne contiennent plus que 8% de l'azote de départ.

Dans le jus de rumen, on retrouve également des protéines 12S et 2S, 1 h après le repas. Ces résultats sont confirmés par ceux obtenus par l'analyse chimique du jus de rumen : après précipitation des protéines avec l'acide trichloracétique, on observe 23% de protéines au temps 1 h et seulement 5% pour les autres temps, tandis que l' $\text{NH}_3$  représente environ 60% de l'azote solubilisé.

Une certaine proportion des protéines solubilisées peut donc échapper à la dégradation

dans le rumen et fournir des acides aminés dans l'intestin grêle.

**Évolution de la taille et du caractère hydrophobe des peptides (tryptone) au cours de la protéolyse par les bactéries du rumen.** N Depardon, D Debroas, G Blanchart (ENSAIA - INRA, laboratoire de sciences animales, BP 172, 54505 Vandœuvre, France)

Le but de ce travail est de suivre les évolutions de la taille des peptides (tryptone) et de leur caractère hydrophobe au cours de la protéolyse par des bactéries libres du rumen prélevées chez des chèvres recevant 500 g de foin et 250 g de luzerne déshydratée. Le culot bactérien est mis en suspension dans un milieu synthétique où la tryptone (10 mg/ml) est la seule source azotée. La cinétique est réalisée en anaérobiose à 39°C sur 5 h au cours de la phase de croissance des bactéries avec 3 répétitions. L'analyse des peptides est réalisée par HPLC-gel filtration et par HPLC-phase inverse à 280 nm.

Les peptides à  $t = 0$  h se répartissent en 3 classes de poids moléculaires (PM) : les grands, de 2 à 4 kDa (pI), les moyens, avoisinant 1 kDa (pII) et les petits peptides,  $\leq 500$  Da (pIII). À 5 h, 25% des peptides sont dégradés : les peptides pI ont presque totalement disparu, les peptides pII ont légèrement diminué et les peptides pIII n'ont pas évolué. Les peptides de plus haut PM sont apparemment dégradés le plus vite, au profit de petits peptides. La vitesse d'apparition de pIII est supérieure à leur vitesse de captation par les bactéries. Il est donc probable que l'assimilation des peptides de caséine soit l'étape limitante de la protéolyse *in vitro*.

Les peptides sont séparés selon leur hydrophobicité croissante sur C18. Les pics sont élués entre 8 et 40 min. À 5 h, le pic le plus hydrophile, élué à 9,7 min, ainsi que les pics élués entre 12 et 16 min ont disparu. Certains pics de peptides moyennement (17 min) et très hydrophobes (32 min) ont légèrement diminué alors que des peptides ayant des degrés d'hydrophobicité très différents n'ont apparemment pas subi de dégradation (de 10 à 12 min et à 24, 35 et 39 min). C'est parmi les peptides hydrophiles que se situent ceux qui sont le plus rapidement dégradés. Les peptides hydrophobes ne sont cependant pas plus résistants à la protéolyse par les bac-

téries libres du rumen que certains peptides hydrophiles.

Ces résultats obtenus avec un substrat utilisé comme référence seront confrontés à ceux obtenus avec des peptides normalement produits dans le rumen.

**Influence du broyage sur la dégradabilité de l'azote de différents protéagineux (lupin, féverole).** F Faurie, C Peyronnet (*Unité associée de recherches zootechniques INRA-ENESAD, BP 1607, 21036 Dijon cedex, France*)

Les performances observées sur le terrain avec les graines protéagineuses ne confirment pas toujours les valeurs PDI des Tables INRA 1988. Le fait que les industriels de l'alimentation animale utilisent une grille de 3 mm, alors que les valeurs INRA ont été obtenues avec des aliments broyés à la grille de 0,8 mm, pourrait expliquer ces différences. C'est pourquoi il nous a paru intéressant de tester, en collaboration avec l'UNIP, l'effet du broyage sur la valeur PDI des graines de lupin et de féverole.

Trois types de broyage sont utilisés : grille de 0,8 mm, grille de 3 mm et un broyage aux cylindres (JP Melcion, INRA Nantes) ; ce dernier broyage a pour but de produire des échantillons présentant le moins possible de poudre fine (< 3%) susceptible de traverser les mailles des sachets utilisés pour mesurer la dégradabilité théorique de l'azote (DT). Les chiffres rapportés ici sont des moyennes de plusieurs variétés de chaque espèce végétale.

La matière sèche de ces produits est très dégradée puisque pratiquement 93% a disparu au bout de 16 h quel que soit le protéagineux. En revanche, la vitesse de dégradation est différente car la disparition à 2 h est de 66, 57,4 et 52% respectivement pour les broyages à 0,8, 3 mm et cylindres pour les lupins et de 76,4, 69,2 et 55,7 pour les féveroles.

On observe les mêmes phénomènes pour la disparition de l'azote ; en effet, à 8 h, 95% en moyenne de l'azote des 2 protéagineux est dégradé, mais, à 2 et à 4 h, des différences sensibles apparaissent en fonction du mode de broyage. À 2 h la disparition est de 90,2, 77,6 et 78,5 dans le cas du lupin respectivement pour les grilles de 0,8, 3 et cylindres et de 86,9, 80,2 et 69,4 pour les féveroles. À 4 h, ces valeurs passent

à 91,7, 84,4 et 83,5 pour les lupins et à 92,7, 85,3 et 76,8 pour les féveroles.

Ces chiffres permettent de calculer des valeurs de DT pour chaque type de broyage ; elles sont de 95,6, 90,4 et 91,8 pour les lupins et de 95, 91,5 et 89,6 pour les féveroles respectivement pour les broyages 0,8, 3 mm et cylindres.

La finesse de broyage influence donc la DT de l'azote des protéagineux.

**In situ N-degradability of fresh forages corrected for microbial contamination determined by  $^{15}\text{N}$ -labelling of feedstuffs or liquid-and solid-associated bacteria.**

M Kamoun <sup>1</sup>, Y Beckers <sup>1</sup>, A Théwis <sup>1</sup>, E François <sup>2</sup>, P Lecomte <sup>2</sup> (<sup>1</sup> *UER de Zootechnie, Faculté des Sciences Agronomiques, Gembloux* ; <sup>2</sup> *Centre de Recherches Agronomiques, Ministère de l'Agriculture, Gembloux, Belgium*)

A ryegrass harvested at 2 different stages (RG1 and RG2) and a red clover (RC) were cultured in the open field in well-separated parcels. Half the parcels were fertilized with  $^{15}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$ . The others received the same dose of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . CP and ADF contents of RG1, RG2 and RC were 14.2 and 25.3%, 5.7 and 32.9%, and 14.4 and 28.5%, respectively. Freeze-dried and milled forages were incubated for 0, 3, 6, 12, 24 and 48 h in the rumen of 3 steers fed a diet composed of meadow hay and concentrate. The  $^{15}\text{N}$ -labelled forages were incubated as a first step. A solution of  $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  was then continuously infused into the rumen and the unlabelled forages were introduced 72 h later. For the labelled forages, the ruminal microbial N-contamination of residues was calculated from the percentage of  $^{15}\text{N}$ -enrichment in the residue relative to enrichment in the original feed (M1). For the unlabelled forages, the bacterial N-contamination was determined from the percentage of  $^{15}\text{N}$ -enrichment in the residue relative to enrichment in liquid-(M2)- or solid-(M3)-associated bacteria. The effective N-degradability (DT) corrected for microbial contamination was calculated. M1 and M3 give similar values of DT independently of the forages (79.9 and 79.2% respectively) while M2 seems to underestimate systematically but not significantly the DT (76.6%). This is particularly marked for RG2 (73.8%), which is poor in proteins. The percentage of microbial N relative to residual N