

ÉVALUATION QUANTITATIVE, A L'AIDE DE LA TENEUR EN ACIDES NUCLÉIQUES, DE LA POPULATION MICROBIENNE DU TUBE DIGESTIF DES RUMINANTS

II. APPLICATIONS A L'ÉTUDE DE LA DIGESTION CHEZ LE VEAU SEVRÉ PAR
L'ANALYSE DES CONTENUS DUODÉNAUX

Anna TEMLER-KUCHARSKI et B. GAUSSÈRES

avec la collaboration technique de Madeleine FORIGNON, Françoise LABONNE et M. BEAUCHAMP

*Laboratoire d'Étude des Métabolismes,
Centre national de Recherches zootechniques, Jouy-en-Josas (Seine-et-Oise)*

SOMMAIRE

Pour suivre l'évolution de leur digestion, nous avons soumis à différents régimes des veaux sevrés, présentant des fistules duodénales. Sur les contenus duodénaux, nous avons dosé différentes fractions azotées dont la lysine protéique et tenté d'évaluer quantitativement (dosages de l'ADN) la proportion des protéines d'origine microbienne.

INTRODUCTION

Les besoins du veau en matières azotées sont mal définis. Les études les plus précises (bien que peu nombreuses) concernent le métabolisme azoté du jeune « ruminant » non sevré (BLAXTER, 1950 ; BLAXTER et WOOD, 1951-1952 ; CUNNINGHAM et *al.*, 1952, 1957, 1958 ; ROY et *al.*, 1958). Ce n'est que depuis peu que l'on s'intéresse à la période qui suit le sevrage (ELLIS et *al.*, 1956 ; BROWN et LASSITER, 1958, 1962, 1963 ; RAVEN et ROBINSON, 1961 ; WHITELAW, PRESTON et *al.*, 1961, 1963, 1964).

Très tôt le veau se comporte comme un ruminant. Les matières azotées des aliments solides (et peut-être une partie de celles du lait) transitent par le rumen, et par fermentation microbienne y sont transformées, comme chez l'adulte en ammoniac, chaînes carbonnées et protéines microbiennes.

Il est difficile d'appliquer au veau les résultats obtenus sur adultes étant donné les dimensions respectives de ses réservoirs digestifs, sa physiologie et son métabolisme très actif de jeune en croissance, qui constituent autant de caractéristiques originales. Deux problèmes notamment se posent à son sujet : quelle est l'importance

TABIEAU I
Caractéristiques des veaux de l'expérience I quantités d'azote ingérées

		Veau 3705 mâle (race F. F. P. N.) né le 20 mars 1963 opéré le 30 avril 1963 sevré le 26 mai 1963 poids : 93 kg le 1-6-63 95 kg le 16-6-63			Veau 3342 mâle (race F. F. P. N.) né le 10 mars 1963 opéré le 14 mai 1963 sevré le 4 juillet 1963 poids : 92 kg le 19-7-63 102 kg le 16-8-63				
Périodes	Ration	Quantités d'azote ingérées			Périodes	Ration	Quantités d'azote ingérées		
		Azote total en g/jour	g d'azote/kg de M.S. ingérée	Azote de l'aliment concentré % de l'azote total			Azote total en g/jour	g d'azote/kg de M.S. ingérée	Azote de l'aliment concentré % de l'azote total
du 28 mai au 6 juin	Aliment concentré 1 + foin 1	36	24,7	88	du 4 juillet au 8 juillet	Aliment concentré 1 + foin 2	41	22,8	83
du 6 juin au 10 juin		Troubles digestifs			du 9 juillet au 22 juillet	Aliment concentré 2 + foin 2	37	15,7	76
du 11 juin au 16 juin	Aliment concentré 1 + foin 1	48	21,9	91	du 23 juillet au 13 août	Aliment concentré 1 + foin 2	64	21,3	73

de la digestion microbienne au moment où l'on supprime le lait, comment cette digestion évolue-t-elle dans le temps ?

Dans un précédent article (GAUSSERES et FAUCONNEAU, 1965) ; nous avons exposé une méthode permettant d'évaluer la proportion de l'azote protéique des contenus digestifs, se trouvant sous forme de protéines microbiennes. Cette méthode, qui consiste à doser les bases adénine et guanine composantes de l'acide désoxyribonucléique, est basée sur la propriété des micro-organismes d'être de 3 à 10 fois plus riches en ADN que les aliments. En l'appliquant aux contenus de rumen, nous avons constaté sa limite dans le cas particulier d'une vache consommant de la Fétuque fraîche.

Dans les deux expériences relatées ici, nous avons dosé l'ADN, par la méthode précédente, dans les contenus de duodénum de veaux, afin de voir s'il y avait une évolution — immédiatement après la suppression du lait — dans la part d'azote de la ration transformée en protéines microbiennes. Les rations de l'expérience 1 (aliment concentré à base d'orge et de maïs et foin de qualité médiocre) ont été choisies pour leur faible teneur en lysine, pour mesurer l'aptitude du rumen à rééquilibrer une ration déficiente en acides aminés essentiels et comparer notre méthode d'appréciation des micro-organismes à celle préconisée par MC DONALD (1954). Nous avons cherché également à résoudre certains problèmes méthodologiques posés par l'étude de la digestion chez le ruminant. Pour ceci, dans la deuxième expérience, nous avons adopté des rations semi-synthétiques, broyées et agglomérées, dont les taux de matières azotées totales étaient de 20 p. 100, 23 p. 100 et 26 p. 100. Cette deuxième expérience menée en collaboration avec la station de Recherches sur l'Élevage des Ruminants fait partie d'une étude plus complète sur les besoins azotés du veau.

MÉTHODES EXPÉRIMENTALES ET MATÉRIEL UTILISÉ

Expérience 1

Nous avons établi des fistules duodénales (à quelques centimètres du pylore) sur deux veaux (veaux 3705 et 3342), suivant une technique inspirée de ASH (1962). Nous avons utilisé des canules identiques à celles proposées par ASH pour le mouton.

Dès la diminution du lait, les veaux ont reçu la ration expérimentale qui se composait : pour le veau 3705 d'un foin 1 à 8,3 p. 100 de matières azotées et d'un aliment concentré 1 à 14,7 p. 100 de matières azotées ; pour le veau 4233 d'un foin 2 à 12,2 p. 100 de matières azotées et de l'aliment concentré 1, remplacé pendant une période par l'aliment concentré 2 à 9,1 p. 100 de matières azotées. Le foin était distribué *ad libitum* et l'aliment concentré était limité à 2 kg par jour. Les caractéristiques des veaux et les quantités d'azote ingérées pendant la période expérimentale sont indiquées dans le tableau 1. Le tableau 2 donne la composition des régimes.

Pour éviter des troubles physiologiques, nous n'avons fait que peu de prélèvements. Pour ceux-ci la méthode employée était la suivante : les aliments étaient enlevés à 7 h pour les prélèvements de 9 h 30, et à 13 h 45 pour ceux de 14 h (ils étaient remis tout de suite après prélèvement). On laissait s'écouler librement le contenu digestif par la canule jusqu'à obtention d'un minimum de 200 ml. Lorsque le temps nécessaire pour obtenir ces 200 ml était supérieur à 30 mn les échantillons étaient éliminés. (Les échantillons doivent être fixés le plus rapidement possible).

Expérience 2

Nous avons employé les mêmes techniques chirurgicales que pour l'expérience précédente. Nous avons utilisé trois veaux présentant : le premier une fistule du duodénum et une fistule du caecum (veau 3918), le deuxième une fistule du duodénum (veau 3920), le troisième une fistule du rumen et une fistule du duodénum (veau 3915). Ces trois animaux étaient maintenus en cages à métabo-

lismes. Deux d'entre eux (3915 et 3920) sont morts accidentellement (infection et météorisation) en cours d'expérience. Les faibles gains de poids s'expliquent par les conditions expérimentales particulièrement sévères.

Les rations qui se composaient de foin de luzerne (30 p. 100), de tourteau de tournesol et d'amidon (en quantités variables), de minéraux (2 p. 100) et de vitamines, étaient broyées et agglomérées. Au bout de quelques semaines, nous avons dû distribuer de la paille (dans les limites de 1 kg par

TABLEAU 2

Caractéristiques des aliments utilisés dans l'expérience 1

	Azote p. 1 000	Azote N du résidu* p. 1 000	$\frac{(A + G)**}{N}$
Foin de pré 1 (veau 3705)	13,3	12,00***	5,1
Foin de pré 2 (veau 3342)	19,5	17,6	6,8
Aliment concentré 1 : (composition en %)	23,6	14,5	1,6
orge 25			
maïs 40			
Glutaglobe 13 (enveloppes et drèches séchées)			
Globétail 8 (Glutaglobe + tourteau de germes)			
Globazote 6 (gluten de maïs)			
Mazoferm 3 (extrait soluble de maïs)			
composé minéral 5			
Aliment concentré 2 (composition en %)	14,6	10,3	1,2
orge 25			
maïs 68			
composé minéral 6			
Composé minéral (composition en %) :			
phosphate bicalcique 40			
CO ₃ Ca 10			
ClNa 40			
SO ₄ Mg 10			
SO ₄ Fe 4			
SO ₄ Cu 0,04			
Vit A 1 MU/100 kg			
Vit B ₂ 400 000 U/100 kg			

* Résidu de la triple extraction à l'acide trichloracétique.

** A = adénine ; G = guanine, en μ moles.

*** Valeur calculée.

veau et par semaine) pour empêcher les météorisations. Les caractéristiques des veaux et la composition des aliments qu'ils ont reçus sont détaillées dans le tableau 3. Le veau 3918 avait un aliment à 20 p. 100 de matières azotées (régime A), le veau 3920 un aliment à 23 p. 100 (régime B) et le veau 3915 un aliment à 26 p. 100 (régime C).

Nous avons effectué sur chaque animal deux prélèvements par semaine, le matin à 9 h 30, en suivant le même protocole que dans l'expérience 1. Pour les deux veaux ayant deux canules, la première canule ouverte était celle de la partie distale. Seuls les prélèvements effectués au niveau du duodénum sont pris ici en considération.

Analyses chimiques

Les échantillons de contenus ont été fixés par l'éthanol 95° froid (— 15°C) dès leur obtention et conservés à — 15°C jusqu'au moment de l'analyse.

Les teneurs en azote ont été déterminées par la méthode de Kjeldahl (catalyseur au cuivre et au sélénium). L'azote appelé non protéique est l'azote extrait par l'éthanol à 80 p. 100 (v/v).

L'ammoniac a été dosé par distillation à l'aide de l'appareil de Parnas-Wagner. Les jus sont amenés à pH 8,5-9 avec une solution de borate de soude; l'ammoniac est recueilli dans une solution d'acide borique et l'on effectue le dosage par l'acide chlorhydrique 0,014 N.

TABLEAU 3

Caractéristiques des veaux et des aliments utilisés dans l'expérience 2

<i>Veau 3918</i>	<i>Veau 3920</i>	<i>Veau 3915</i>
mâle <i>Normand</i> né le 21-11-63 opéré le 6-12-63 sevré le 1-1-64 poids : 50 kg en début de période 67 kg en fin de période	mâle <i>Normand</i> né le 21-11-63 opéré le 9-12-63 sevré le 1-1-64 poids : 48 kg décédé le 6-2-64 (59 kg)	mâle <i>Normand</i> né le 21-11-63 opéré le 3-12-63 sevré le 1-1-64 poids : 44 kg décédé le 21-1-64 (52 kg)
<i>Régime A</i>	<i>Régime B</i>	<i>Régime C</i>
Granulés composés (en %) de :	Granulés composés (en %) de :	Granulés composés (en %) de :
Farine de luzerne 30	Farine de luzerne 30	Farine de luzerne 30
Tourteau de tournesol 24	Tourteau de tournesol 32	Tourteau de tournesol 40
Amidon de maïs 44	Amidon de maïs 35	Amidon de maïs 28
Composé minéral et vitaminique 2	Composé minéral et vitaminique 2	Composé minéral et vitaminique 2
Matières azotées totale 20 % de la matière sèche	Matières azotées totales 23 % de la matière sèche	Matières azotées totales 26 % de la matière sèche
Azote N ‰ de résidu(*) 30,65	Azote N ‰ de résidu : non déterminé	Azote N ‰ de résidu 42,20
$\frac{(A + G)**}{N}$ 0,03	$\frac{(A + G)**}{N}$: non déterminé	$\frac{(A + G)**}{N}$ 0,92

* Résidu sec dégraissé de l'extraction à l'acide trichloracétique.

** A = Adénine.

G = Guanine.

La lysine, l'histidine et l'arginine ont été dosées après hydrolyse chlorhydrique du résidu sec et dégraissé de l'extraction à l'acide trichloracétique (voir ci-dessous) et séparation, selon la méthode de Moore et Stein. Les acides aminés et amides libres présentés dans le tableau 4 ont été séparés par chromatographie sur papier à partir de l'extrait alcoolique.

L'acide désoxyribonucléique que nous apprécions par la somme de ses bases constitutives: l'adénine et la guanine (somme A + G) a été évalué selon la méthode précédemment décrite (B. GAUSSESERES et G. FAUCONNEAU, 1965). Le principe de cette méthode est le suivant :

- les échantillons secs ou frais sont soumis à une triple extraction ;
 - a) extraction par l'éthanol à 80 p. 100 (v/v) à 0°C ;
 - b) extraction par l'acide trichloracétique à 10 p. 100 (v/v) ;
 - c) extraction par un mélange méthanol-chloroforme (1 v/2 v).

Le résidu de ces trois extractions est hydrolysé par la soude (0,45 N à 37°C) qui solubilise l'ARN sous forme de monoribonucléotides. L'ADN précipité par l'acide trichloracétique à 10 p. 100 (v/v) est hydrolysé par l'acide perchlorique 0,5 N à 80°C. Les bases puriques sont dosées par absorption ultraviolette après séparation par chromatographie sur colonne d'amberlite IR 120 (élution par l'acide chlorhydrique).

TABLEAU 4
Teneurs en azote et en ADN des contenus duodénaux des veaux de l'expérience 1

	Prélèvements		pH	N-NH ₄ (mg/100 ml)	N protéique (mg/100 ml)	N non protéique N total × 100	N total (mg/100 ml)	N résidu (mg/g)	(A + G)* (μmoles/g)	$\frac{(A + G)**}{N \text{ résidu}} \times 100$
	Date	Heure								
Veau 3705 aliment concentré 1	5-6-63	9 h 30	3,4	10,0	114,7	37	182,6	40,30	1,19	
		14 h 30	2,9	3,3	124,3	36	194,4	38,25	1,39	
		Moyenne	3,1	6,6	119,5	37	188,5	39,27	1,29	3,3
14-6-63	9 h 30	2,5	2,8	90,0	48	174,9	35,70	2,45		
	14 h 30	2,7	2,2	113,0	52	236,9	37,75	3,53		
	Moyenne	2,6	2,5	101,5	51	205,9	36,72	2,99		8,1
17-6-63	9 h 30	2,8	3,5	133,0	50	270,0	36,95	2,36		
	14 h 30	2,8	3,0	119,9	51	243,1	35,55	1,69		
	Moyenne	2,8	3,2	126,5	51	256,1	36,30	2,03		5,6
Veau 3342 aliment concentré 1	8-7-63	9 h 30	3,0	1,4	132,1	36	206,1	37,75	2,69	7,1
	9-7-63	9 h 30	2,9	2,9	118,7	37	187,5	43,85	2,93	6,7
Veau 3342 aliment concentré 2	17-7-63	9 h 30	3,0	1,0	683,	44	122,5	22,95	0,56	2,4
	18-7-63	9 h 30	3,3	1,2	58,8	48	113,8	33,45		
	19-7-63	9 h 30	2,4	1,1	65,0	53	139,3	19,35	0,90	4,6
Veau 3342 aliment concentré 1	12-8-63	9 h 30	2,7	9,4				39,53	3,32	8,4
	13-8-63	9 h 30	2,9	10,2				27,60	1,94	7,0

* Résidu dégraisé sec de l'extraction à l'acide trichloracétique.

** A = Adénine.

G = Guanine.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les pH des contenus de duodénum présentés dans le tableau 4 sont très acides (voisins de 3). Nous en avons trouvé de semblables pour les prélèvements de l'expérience II et pour des jus de caillette d'une brebis recevant du foin de luzerne associé à un aliment concentré. Dans ce dernier cas, cependant, il n'y avait jamais de pH supérieurs à 3. Pour les échantillons dont le pH n'excède pas 3 il est donc probable qu'il n'y a pas encore eu de pollution importante par les produits de la sécrétion intestinale.

Teneurs en azote — Composition de la fraction azotée

Les fractions azotées ont été analysées en détail uniquement dans la première expérience. L'expression de l'azote total en mg par 100 ml de contenu duodéal fait apparaître des variations sans doute dues aux différences des teneurs en matière sèche des contenus. Nous n'avons déterminé les matières sèches que dans la seconde expérience où le contenu duodéal prélevé contient 92 p. 100 à 96 p. 100 d'eau. On peut les estimer pour la première expérience en comparant les teneurs en azote protéique du produit brut et celles du résidu obtenu après les trois extractions successives (on néglige ainsi la matière sèche extraite). On obtient des valeurs comparables aux précédentes. Certaines valeurs faibles de matière sèche peuvent éventuellement être dues à la méthode utilisée. En effet, la canule peut se déplacer à l'intérieur du duodénum et provoquer le tri des particules au moment de l'écoulement. D'autre part, le temps de prélèvement quelquefois assez long supprime cette partie, sinon la totalité, du transit vers l'intestin ce qui peut entraîner une augmentation de l'écoulement du contenu de la caillette (PHILLIPSON, 1952). Comme il est indispensable pour les besoins analytiques de recueillir au moins 200 ml de contenu, les troubles physiologiques sont inévitables.

Les teneurs en azote total et en azote protéique sont toutefois assez constantes tant que les animaux consomment l'aliment concentré 1. Cependant, dès que l'animal 3342 reçoit l'aliment concentré 2, la teneur en azote total diminue sensiblement, passant d'environ 200 mg/100 ml à 120 mg. L'azote total des contenus de l'animal 3705 augmente légèrement avec l'âge ; ceci semble provenir d'une élévation importante de la fraction non protéique (à partir du prélèvement du 14 juin). Les consommations d'aliment concentré et de foin n'évoluant pas parallèlement, un changement dans la composition des contenus digestifs peut avoir lieu selon que l'azote provient de l'un ou l'autre de ces aliments. Au total, la quantité d'azote ingérée par kilo de matière sèche varie peu et est très voisine pour les deux animaux (environ 22 g d'N/kg de M.S. ingérée), exceptée la période où le veau 3342 reçoit l'aliment concentré 2 (15,7 g d'N/kg de M.S. ingérée). La proportion de l'azote ingéré provenant de l'aliment concentré demeure à peu près constante pour le veau 3705. Il est donc probable que les variations de composition observées ici sur les contenus duodénaux sont essentiellement d'origine digestive.

L'azote dans l'expérience 2, n'a été dosé que sur le résidu des trois extractions. Cet azote correspond à peu près à l'azote protéique puisque les fractions solubles

TABLEAU 5

Teneurs en azote protéique et en ADN
des contenus duodénaux des veaux de l'expérience 2

Veau	Date de prélèvement	N résidu* (mg/g.)	(A + G)** (μ moles/g.)	$\frac{(A + G)**}{N \text{ résidu}} \times 100$
3918	(7-1-64 + 9-1-64)	36,1	6,4	17,6
	(14-1-64 + 16-1-64)	36,0	6,2	17,3
	21-1-64	26,0	3,7	14,5
	23-2-64	47,15	7,2	15,3
	13-2-64	30,95	3,8	12,3
	(18-2-64 + 20-2-64)	46,95	6,7	14,3
	(25-2-64 + 27-2-64)	32,49	4,5	13,7
	3-3-64	30,86	3,5	11,4
	5-3-64	37,15	5,6	15,05
	3920	(14-1-64 + 16-1-64)	34,14	5,5
13-1-64		25,60	3,3	13,0
30-1-64		41,91	6,1	14,7
(4-2-64 + 6-2-64)		35,52	6,3	17,9
3915	(14-1-64 + 16-1-64)	31,25	5,4	17,2

* Résidu dégraissé sec de l'extraction à l'acide trichloracétique.

** A = Adénine.

G = Guanine.

TABLEAU 6

Composition en acides aminés et amides libres des contenus de duodénum
du veau 3019 huit jours après sevrage
(exprimé en p. 100 de la somme)

Moyenne de trois prélèvements effectués après le repas. (Foin et aliment concentré distribués *ad libitum* dès la diminution du lait — Foin : matières azotées totales 10,6 p. 100 de la M.S. cellulose brute 28 p. 100 de la M.S. Aliment concentré : matières azotées totales 22 p. 100 de la M.S. cellulose brute 6 p. 100 de la M.S. ; constitué pour 30 p. 100 de tourteau de lin et 10 p. 100 de poudre de lait.)

Asparagine	3,8
Glutamine + Glutamine (NH ₂).....	25,6
Sérine	3,1
Glycine	11,8
Alanine	7,8
Thréonine	3,7
Valine	8,4
Méthionine	3,3
Leucine + Isoleucine + Phénylalanine	14,5
Lysine	3,3
Arginine.....	4,2
Tyrosine	4,0
Ornithine	1,5
Citrulline	1,2

aminés et peptidiques ont été extraites. Les valeurs sont plus élevées que celles de l'expérience 1 (ceci est probablement dû à la teneur en matières azotées de la ration), mais aussi plus variables pour un même régime. Ainsi avec le régime A, l'azote du résidu (N en mg/g) varie entre 26,0 et 47,1. Il ne semble pas y avoir d'évolution dans le temps, ni de différences entre les trois régimes A, B et C. Les grandes variations, d'un prélèvement à l'autre, dans l'azote du contenu s'expliqueraient peut-être si l'on connaissait mieux le comportement alimentaire des animaux. Le veau fait de nombreux repas de jour comme de nuit et réagit beaucoup à son environnement. Il est donc difficile, lorsqu'on effectue un prélèvement, de se retrouver dans des conditions identiques de transit et de digestion. La technique qui consiste à imposer des heures de repas aux animaux, déjà discutable pour le ruminant adulte, n'est pas possible dans le cas du veau.

L'augmentation de l'azote non protéique (ANP) pourrait être due à l'évolution des sécrétions digestives au niveau de la caillette après le sevrage, puisque pour le veau 3342, plus âgé mais sevré depuis le même temps que le veau 3705, on retrouve le même pourcentage d'ANP (36-37 p. 100 de l'azote total en début d'expérience). Quinze jours environ après le sevrage, ce pourcentage semble se stabiliser aux environs de 50 p. 100, valeur très élevée. Il est possible que le mode d'extraction par l'éthanol à 80 p. 100 (v/v) en soit la cause. En effet, l'alcool extrait une partie des protéines des céréales (qui constituent dans l'expérience 1, la quasi-totalité des aliments concentrés). Dans cette fraction que nous appelons non-protéique, il entre donc probablement une part de protéines provenant de la fraction alimentaire non digérée. L'acide trichloracétique utilisé comme agent d'extraction aurait extrait les mucoprotéines de l'intestin.

Il serait intéressant de préciser la composition de cette fraction non protéique, mais nous n'avons dosé que l'ammoniac. L'azote ammoniacal (exprimé en mg d' N-NH_3 par 100 ml) est relativement élevé dans quelques cas (10 pour le prélèvement de 9 h 30 du 5 juin, 9,4 pour celui du 12 août et 10,2 pour celui du 13 août) (tabl. 4). Pour les autres prélèvements, les teneurs sont très inférieures et comprises entre 1,1 et 3,5. On ne constate de variations systématiques, ni avec le temps ni avec le changement de l'aliment concentré. Dans l'expérience 2, en revanche, les chiffres (non cités dans le tableau) sont très variables compris entre 5,8 et 19,3 atteignant souvent 11, 12 ou 13.

A titre indicatif, nous donnons dans le tableau 4 la composition en acides aminés libres des contenus duodénaux du veau 3019 n'appartenant à aucune de ces deux expériences, mais consommant *ad libitum* un foin et un aliment concentré dont les compositions sont fournies dans le tableau.

Sur les fractions protéiques, ont été seules dosées la lysine, l'histidine et l'arginine (tabl. 7). Dans l'expérience 1 il n'y a eu que quelques échantillons analysés et dans l'expérience 2, les prélèvements (effectués tous à la même heure) ont été mélangés de façon à obtenir des valeurs moyennes. La teneur en histidine et arginine de cette fraction protéique est remarquablement constante quel que soit l'âge des animaux et leur régime (2,2 et 4,6 respectivement ; valeurs exprimées en g pour 16 g d'azote). La teneur en lysine par contre est plus variable (entre 4,6 et 6,4 g) et surtout très différente de celle des aliments. Les protéines des contenus duodénaux sont moins riches en lysine dans l'expérience 1 où les valeurs sont comprises entre 4,6 et 5,9

(moyenne 5,8) que dans l'expérience 2 où les échantillons moyens contiennent 6,1-6,4 et 5,4 de lysine (5,4 correspond à deux prélèvements uniquement effectués sur un animal très jeune). On se trouve certainement à la limite de la carence pour l'animal en croissance qu'est le veau, surtout dans l'expérience 1, lorsqu'on distribue l'aliment concentré 2 qui donne au niveau du duodénum des taux azotés particulièrement

TABLEAU 7

*Teneurs en lysine, histidine et arginine des contenus duodénaux
et des aliments des expériences 1 et 2
(exprimé en g pour 16 g d'azote)*

	Lysine	Histidine	Arginine
Aliment concentré 1 (exp. 1)	3,0	2,6	4,5
Aliment concentré 2 (exp. 1)	2,8	2,3	4,5
Foin 1 (exp. 1)	4,7	1,6	
Foin 2 (exp. 1)	4,8	1,7	
Régime A (exp. 2) : aliment complet broyé et aggloméré	4,5*		
Régime B (exp. 2) : aliment complet broyé et aggloméré	4,3*		
Régime C (exp. 2) : aliment complet broyé et aggloméré	4,2*		
<i>Veau 3705 (Ration = Foin 1 + aliment concentré 1)</i>			
Prélèvement du 5-6-63 (9 h 30 + 14 h)	4,6	2,2	4,2
Prélèvement du 17-6-63 (9 h 30 + 14 h)	5,5	2,4	4,7
<i>Veau 3342 (Ration = Foin 2 + aliment concentré 2)</i>			
Prélèvement du 8-7-63 (9 h 30)	5,1	2,4	4,6
<i>Veau 3342 (Ration = Foin 2 + aliment concentré 2)</i>			
Prélèvement du 17-7-63 (9 h 30)	5,3	2,2	4,6
Prélèvement du 19-7-63 (9 h 30)	5,7	4,1	4,4
<i>Veau 3342 (Ration = Foin 2 + aliment concentré 1)</i>			
Prélèvement du 12-8-63 (9 h 30)	5,9	2,3	4,8
Prélèvement du 13-8-63 (9 h 30)	4,7	2,2	4,1
<i>Veau 3918 (Régime A)</i>			
Prélèvement du 7-1-64 au 23-1-64 (échantillon moyen)	6,1	2,2	4,9
<i>Veau 3920 (Régime B)</i>			
Prélèvement du 15-1-64 au 6-2-64 (échantillon moyen)	6,4	2,4	4,9
<i>Veau 3915 (Régime C)</i>			
Prélèvement du 14-1-64 et du 16-1-64 (échantillon moyen)	5,4	2,1	4,5

* Valeurs calculées.

faibles. Néanmoins, la ration, très pauvre en lysine, est améliorée par son passage à travers le rumen et la carence ne serait pas à craindre si la teneur de la ration en matières azotées était suffisamment élevée (ce n'était pas le cas dans notre première expérience). De toutes manières, l'adjonction de lysine libre ne se justifierait pas puisque l'on ne peut pas prévoir actuellement quelle part arriverait dans le duodénum.

Teneurs en ADN

Dans les tableaux, l'acide désoxyribonucléique est représenté par la somme de ses bases constitutives l'adénine et la guanine (DAVIDSON, 1960). Cette somme est exprimée en micromoles par gramme de résidu (résidu des trois extractions précédemment citées). Pour l'animal 3705, 10 jours après la suppression totale du lait (prélèvement du 5 juin) la somme (A + G) est de 1,29 alors quelle est de 2,99 et 2,03 pour les deux prélèvements suivants (14 et 17 juin). Il y a donc une augmentation très sensible du taux d'ADN. Pour l'animal 3342 la somme (A + G) est en moyenne 2,8 (cinq jours après son sevrage complet) lorsqu'il consomme l'aliment concentré 1, baisse à 0,56 et 0,90 lorsqu'il consomme l'aliment concentré 2 pauvre en azote, puis passe à 2,53 (moyenne de deux prélèvements) lorsqu'on redistribue l'aliment concentré 1.

Dans l'expérience 2, les sommes (A + G) sont très supérieures pour l'ensemble des contenus prélevés, les moyennes étant 5,3 pour les prélèvements provenant des veaux 3918 et 3920, et 5,4 pour ceux provenant du veau 3915. Ici encore, il ne semble pas y avoir d'évolution dans le temps, ni de variation lorsque le taux azoté de la ration augmente. On se trouve certainement dans une zone où le taux azoté est tel, qu'il n'est plus facteur limitant du développement microbien (surtout avec 26 p. 100, valeur excessive).

Les variations de la somme (A + G) sont parallèles à celles des teneurs en azote des contenus. Ceci n'a rien de surprenant si l'on admet qu'une bonne part de l'azote (au moins 50 p. 100 probablement) est due à la présence des micro-organismes qui se sont développés dans le rumen (MC DONALD, 1954 ; 1957 ; WELLER *et al.*, 1952 ; GAUSSERES et FAUCONNEAU, 1965).

Ainsi le rapport (A + G)/N (N étant la teneur en azote du résidu) varie dans le même sens que (A + G). Pour l'animal 3342 on a une valeur moyenne de 7,3 lorsqu'il reçoit l'aliment concentré 1 et de 3,5 lorsqu'il reçoit l'aliment concentré 2. Ce faible rapport peut provenir d'une dépolymérisation de l'ADN non dosé par la méthode utilisée, mais aussi d'une faible multiplication de la population microbienne. Ces deux causes peuvent d'ailleurs agir simultanément. Au début de la période expérimentale 1, les rapports (A + G)/N sont pour les deux veaux, respectivement 3,3 (veau 3705) et 6,9 (veau 3342). Le deuxième animal est en réalité plus âgé et consomme sensiblement plus de foin. En effet, si pour les deux animaux la valeur (A + G)/N des aliments ingérés change peu (2 environ), après le 31 juillet le veau 3742 s'est mis à consommer 1 kg de foin ce qui fait passer le taux (A + G)/N de l'ingesta à près de 4.

Pour les veaux de l'expérience 2, les rapports sont beaucoup plus élevés, variant entre 11,4 et 17,6. Il ne semble pas y avoir de différences entre animaux, mais il en existe par contre d'importantes entre les prélèvements effectués sur un même animal. La remarque que nous faisons précédemment concernant le comportement alimentaire et le transit est valable dans ce cas également. On sait d'autre part, que le repas entraîne une augmentation de la teneur en micro-organismes libres (bactéries et protozoaires) des jus de rumen (G. FAUCONNEAU et B. GAUSSERES, 1961), parallèlement à l'augmentation du transit.

Azote protéique d'origine microbienne

Dans un précédent article (GAUSSÈRES et FAUCONNEAU, 1965) nous admettions 25,7 comme valeur moyenne de rapport $(A + G)/N$ pour l'ensemble des micro-organismes (cette valeur est la moyenne d'une série de dosages effectués sur des micro-

TABLEAU 8
*Pourcentage d'azote protéique microbien dans l'azote protéique
des contenus duodénaux
(calculés d'après leurs teneurs en lysine et en ADN)*

Prélèvements (Dates)	Pourcentages calculés d'après la teneur en lysine des protéines microbienne de 7,4 % (1)	Pourcentages calculés d'après un rapport $(A + G)/N$ de 25,7 pour les micro-organismes
<i>Expérience 1</i>		
<i>Veau 3705</i>		
5-6-63	32	4
14-6-63		26
17-6-63	55	15
<i>Moyenne</i>	<i>43</i>	<i>15</i>
<i>Veau 3342</i>		
8-7-63	44	24
9-7-63		22
17-7-63	51	2
19-7-63	60	11
12-8-63	60	23
13-8-63	29	16
<i>Moyenne</i>	<i>49</i>	<i>16</i>
<i>Expérience 2</i>		
<i>Veau 3918</i>		
7-1-64 + 9-1-64	échantillon pondéré des prélèvements du (7/1 au 23/1)	67
14-1-64 + 16-1-64		66
21-1-64		54
13-2-64		46
18-2-64	55	54
20-2-64		52
3-3-64		42
5-3-64		57
<i>Moyenne</i>	<i>55</i>	<i>57</i>
<i>Veau 3920</i>		
14-1-64 + 16-1-64	échantillon ponéré	61
23-1-64	68	49
30-1-64		56
4-2-63 + 6-2-64		68
<i>Moyenne</i>	<i>68</i>	<i>60</i>
<i>Veau 3915</i>		
14-1-64 + 16-1-64	37	67

(1) On admet une teneur en lysine égale à celle des bactéries, les protozoaires étant peu nombreux chez des veaux de cet âge.

organismes provenant de Bovins recevant différents régimes). Partant du rapport $(A + G)/N$ des aliments (tabl. 3 et 2) et connaissant les rapports des contenus prélevés sur les animaux consommant des aliments, on peut calculer la proportion d'azote protéique provenant des micro-organismes (tabl. 8). Ce pourcentage est toujours faible (2 p. 100 à 26 p. 100) pour l'expérience 1. On retrouve ici le phénomène que nous avons déjà constaté pour des contenus de rumen provenant d'une vache recevant de la Fétuque fraîche.

Nous avons émis l'hypothèse qu'il s'agissait avant tout d'une dépolymérisation partielle de l'ADN qui n'était plus dosé, compte tenu de la méthode utilisée. Il n'est pas possible dans l'état actuel de nos connaissances de dire quels sont la cause et le mécanisme de cette dépolymérisation.

Les résultats obtenus dans l'expérience 2 sont plus cohérents puisque l'on obtient des pourcentages moyens de 55 pour le veau 3918, 58 pour le veau 3920 et 6,7 (une seule mesure) pour le veau 3915. Ces chiffres sont à rapprocher de ceux que nous avons trouvés au niveau du rumen et qui s'étagaient entre 35 (valeur moyenne pour un 1^{er} cycle de végétation d'une luzerne *Flamande* distribuée à l'état frais — prélèvements effectués 3 heures après les repas) et 62 (Ray-grass distribué frais — prélèvements effectués avant et après le repas à différentes heures). Si l'on tient compte pour ces dernières valeurs de la dilution opérée par la fraction non dirigée du dernier repas, la correspondance avec les valeurs constatées sur veaux est assez bonne.

La régime de l'expérience 1 avait été choisi pour la pauvreté en lysine de sa fraction protéique. Nous voulions aussi comparer notre méthode d'évaluation quantitative de la population microbienne à celle préconisée par MC DONALD (1954). Le tableau 8 donne pour quelques prélèvements les pourcentages d'azote protéique d'origine microbienne calculés par les deux méthodes. Dans le cas de l'expérience 2, les aliments sont un peu trop riches en lysine pour permettre une bonne précision. Dans l'expérience 1, le calcul effectué en prenant pour base la lysine, donne des résultats plus élevés que ceux que l'on obtient en prenant pour base l'ADN. Dans l'expérience 2, les pourcentages sont comparables avec les deux méthodes sauf pour l'animal 3915 (dans ce dernier cas il n'y a que deux prélèvements consécutifs analysés ensemble). Ces résultats indiquent (en prenant pour base la lysine) qu'au moins 50 p. 100 des fractions alimentaires sont remaniées au niveau du rumen dans le cas d'un régime riche en céréales, et 65 p. 100 dans le cas d'un régime où les protéines sont amenées par de la farine de luzerne et du tourteau de tournesol. La première valeur est tout à fait comparable à celle trouvée par MC DONALD (1954) pour la zéine du maïs. En prenant pour base l'ADN, le pourcentage, qui est difficile à évaluer avec le premier régime, est de l'ordre de 60 p. 100 avec le deuxième. Il s'agit bien là de valeurs minima, car si l'on tient compte d'une part de la fraction azotée protéique absorbée avant le duodénum sous forme d'ammoniac et d'acides gras volatils (provenant des chaînes carbonnées des acides aminés), d'autre part d'un éventuel apport protéique endogène (PHILLIPSON, 1964), pour que l'on trouve au niveau du duodénum 50 p. 100 des protéines d'origine microbienne, il faut que plus de 50 p. 100 de l'apport alimentaire ait été utilisé dans le rumen. De plus, quelle que soit la méthode utilisée, les micro-organismes autolysés ne sont pas évalués.

REMERCIEMENTS

Nous remercions C. MATHIEU de la Station de Recherches sur l'Élevage des Ruminants, qui nous a permis de mener à bien cette étude, et R. PION qui a bien voulu se charger des dosages de lysine.

SUMMARY

QUANTITATIVE EVALUATION OF THE MICROBIAL POPULATION
OF THE DIGESTIVE TRACT OF RUMINANTS FROM ITS CONTENT OF NUCLEIC ACIDS.

2. APPLICATION TO THE STUDY OF DIGESTION IN THE WEANED CALF BY ANALYSIS
OF THE CONTENTS OF THE DUODENUM

Two experiments were done on calves with duodenal fistulae and given different diets. In the first the calves were given hay to appetite and a concentrate with either 15 or 9 per cent crude protein. In the second the feeds were ground and mixed. They had 30 per cent lucerne meal, 2 per cent minerals and maize starch and sunflower seed oilmeal to given diets with 20,23 and 26 per cent crude protein.

From the pH, less than 3, of the samples it may be assumed that there had been no contamination by intestinal secretions.

Total and protein nitrogen of the contents of the duodenum (tables IV and V) varied in the same direction as the protein content of the diet as long as it did not exceed 20 per cent. Above that, individual variations due to feeding behaviour, made it impossible to establish any ultimate difference. Non-protein nitrogen increased after weaning and reached a steady value of about 50 per cent of total nitrogen two weeks after milk had been completely withdrawn. The high value might be due to the method of extraction. The ammonia content was relatively high, between 1 and 13 mg NH₃ N per 100 ml.

The lysine content (table VII) of the protein fraction ranged from 4.6 to 6.4 g par 16 g nitrogen.

Deoxyribonucleic acid (DNA) was evaluated from measurement of the sum of adenine and guanine (A+G), expressed in micromoles per g residue from extraction with trichloroacetic acid. In the first experiment (table IV) A+G in the duodenal contents rose from 1.3 before to 3.0 after weaning, and fell to about 0.7 when the protein content of the diet was reduced to 9 per cent. In the second experiment A+G remained fairly constant at about 5.3.

The percentage of protein nitrogen of the duodenal contents deriving from microbial proteins (table VIII), calculated from lysine content or DNA content of the feed, was about 50 in the first experiment, with cereal protein, and about 70 in the second experiment with proteins from lucerne and sunflower.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ASH R W., 1962. Gastro-intestinal re-entrant cannulae for studies of digestion in sheep. *Anim. Prod.* **4**, 309-312.
- BLAXTER K. L., 1950. The protein and energy nutrition of the young calf. *Agric. Prog.*, **25**, 1-9.
- BLAXTER K. L., WOOD W. A., 1951. The nutrition of the young *Ayrshire* calf. *Brit. J. Nut.*, **6**, 1.
- BLAXTER K. L., WOOD W. A., 1952. The nutrition of the young *Ayrshire* calf. *Brit. J. Nut.*, **6**, 56-71.
- BROWN L. D., LASSITER C. A., 1962. Protein-energy ratio for dairy calves. *J. Dairy. Sci.*, **45**, 1353-1356.
- BROWN L. D., LASSITER C. A., GRIMES R. M., DUCAN C. W., 1963. Effect of protein level in milk replacers on growth and protein metabolism of dairy calves. *J. Dairy. Sci.*, **46**, 538-543.
- BROWN L. D., LASSITER C. A., EVERETT J. P., SEATH D. M., RUST J. W., 1958. Effect of protein level in calf starters on the growth rate and metabolism of young calves. *J. Dairy. Sci.*, **41**, 1425-1433.
- DAVIDSON J. N., 1960. *La biochimie des acides nucléiques*, 60-62. Dunod Édit. Paris.

- MC DONALD I. W., 1954. The extent of conversion of food protein in the rumen of sheep. *Biochem. J.*, **56**, 120-125.
- MC DONALD I. W., HALL R. J., 1957. The conversion of casein into microbial protein in the rumen. *Biochem. J.*, **67**, 400-405.
- ELLIS W. C., GARNER G. B., MUHRER M. E., PLANDER W. H., 1956. Nitrogen utilization by lambs fed purified rations containing urea, gelatin casein, blood fibrin and soybean protein. *J. Nutr.*, **60**, 413-426.
- FAUCONNEAU G., GAUSSERES B., 1961. Les bactéries et protozoaires libres du rumen, variations avec le régime alimentaire et le repas. *Congrès de Hambourg*, p. 32-34.
- GAUSSERES B., FAUCONNEAU G., 1965. Évolution quantitative à l'aide de la teneur en acides nucléiques, de la population microbienne du tube digestif des ruminants. I. Méthode et application aux contenus de rumen de bovins recevant différents régimes (sous presse).
- HILL K. J., MANGAN J. L., 1964. The formation and distribution of methylamine in the ruminant digestive tract. *Biochem. J.*, **93**, 39-45.
- PHILLIPSON A. T., 1952. The passage of digestion from the abomusum of sheep. *J. Physiol.*, **116**, 84.
- PHILLIPSON A. T., 1964. The digestion and absorption of nitrogenous compounds in the ruminant. II. *Mammalian protein metabolism* MUNRO H. N. et ALLISON J. B. Academic Press Londres, 71-99.
- RAVEN A. M. et ROBINSON K. L., 1961. Comparative effect of wet and dry feeding on the utilization of protein by calves. *Nature*, **192**, 1256-1258.
- WELLER R. A., GRAY F. V., PILGRIM A. F., 1958. The conversion of plant nitrogen to microbial nitrogen in the rumen of the sheep. *Brit. J. Nutr.*, **12**, 421-429.
- WHITELAW F. G., PRESTON T. R., DAWSON G. S., 1961. The nutrition of the early weaned calf. II. *Anim. Prod.*, **3**, 121.
- WHITELAW F. G., PRESTON T. R., MALLEOD N. A., 1963. The nutrition of the early weaned calf. V. *Anim. Prod.*, **5**, 227.
- WHITELAW F. G., PRESTON T. R., MALLEOD N. A., 1964. The nutrition of the early weaned calf. VII. *Anim. Prod.*, **6**, 25.
-