

NOTE

**ÉVOLUTION POSTPRANDIALE
DE LA COMPOSITION GLUCIDIQUE
DES CORPS MICROBIENS DU RUMEN
EN FONCTION DE LA NATURE
DES GLUCIDES DU RÉGIME**

I. — LES PROTOZOAIRES

J.-P. JOUANY et P. THIVEND

*Station de Recherches sur l'Élevage des Ruminants,
Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I. N. R. A.,
Theix, 63110 Beaumont*

La digestion des glucides dans le rumen a généralement été étudiée afin de connaître la nature, la quantité et les variations de la composition du mélange d'acides gras volatils formés. En revanche, très rares sont les auteurs qui se sont intéressés à la composition chimique et à l'évolution de la masse de la substance microbienne du contenu de rumen. Celle-ci constitue cependant, lorsqu'elle arrive dans l'intestin grêle, une source importante de nutriments dont le rôle dans le métabolisme énergétique et azoté du ruminant est encore très peu connu (HUNGATE, 1966).

C'est la raison pour laquelle nous avons étudié l'évolution postprandiale de la composition en glucides de réserve des corps microbiens du rumen en fonction de la nature des glucides de l'aliment : cellulose, saccharose, inuline et amidon, qui ont été apportés respectivement par de la paille, des betteraves, des topinambours et de l'orge. Nous rapportons ici les premiers résultats relatifs à la composition des protozoaires.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Deux bœufs adultes porteurs d'une large canule du rumen ont reçu successivement quatre régimes (tabl. 1) ; l'un à base de paille servant de témoin, les autres à base de betteraves, de topinambours et d'orge ; ils recevaient en outre du tourteau d'arachide, de la paille hachée et un complément minéral et vitaminique. Les quantités de glucides ingérées ont été importantes (0,4 à 0,5 kg par 100 kg de poids vif et par jour), et les rations ont été calculées de telle sorte que les animaux ingèrent les mêmes quantités de glucides et de matières azotées quel que soit le régime.

TABLEAU I

Composition des différents régimes

Nature du glucide étudié	Quantités de matière sèche ingérées (kg MS par jour)				
	Paille	Betteraves	Topi-nambours	Orge	Tourteau
Régimes :					
« Cellulose » . .	2,7	—	—	—	0,5
« Saccharose » .	2,7	3,1	—	—	1,0
« Inuline » . . .	2,9	—	4,2	—	1,1
« Amidon » . . .	2,1	—	—	3,3	0,8

Pour chaque régime étudié, nous avons prélevé une fraction aliquote du contenu de rumen à trois hauteurs différentes dans les parties antérieure, médiane et postérieure du sac ventral. Les prélèvements effectués juste avant le repas, une demi-heure, une heure et demie, trois et sept heures après le début du repas, étaient répétés 4 fois par régime. Pour inhiber les fermentations microbiennes, les échantillons obtenus ont été immédiatement traités par du chlorure de sodium (solution finale à 5 p. 100 P/V) et placés dans une enceinte réfrigérée à + 4°C. Puis, le résidu végétal a été séparé du reste du contenu par filtration et lavage sur gaze de mousseline afin d'entraîner le maximum de microorganismes. Pour fractionner les protozoaires et les bactéries contenus dans le filtrat, nous avons écarté les méthodes classiques (MASSON et OXFORD, 1951 ; HEALD, OXFORD et SUGDEN, 1952 ; HEALD et OXFORD, 1953), basées sur la sédimentation des protozoaires, qui ne s'appliquent qu'à des corps microbiens en activité. Nous avons utilisé une méthode de centrifugation fractionnée : 500 g pendant 15 mn pour les protozoaires, puis 40 000 g pendant 30 mn pour les bactéries. La fraction « protozoaires » a été lavée 3 fois par une solution à 5 p. 1 000 de NaCl puis lyophilisée. Après avoir vérifié qu'il n'existait pas de sucres à l'état libre dans les corps microbiens, nous avons effectué une hydrolyse acide (H₂SO₄ N à 100°C pendant 4 heures) pour libérer les glucides de réserve des microorganismes (HOBSON et THOMPSON, 1970). L'hydrolysats a été ensuite neutralisé par Ba(OH)₂ et centrifugé. Les sucres provenant de l'hydrolysats ont été dosés par chromatographie en phase gazeuse (JOUANY, 1972). Nous avons exprimé nos résultats en sucres libres plutôt qu'en polyholosides (sucres × 0,9) puisque le mode de liaison et la longueur des chaînes des polymères n'ont pas été déterminés.

RÉSULTATS

Les sucres libérés par l'hydrolyse acide sont par ordre d'importance, le glucose (qui représente jusqu'à 90 p. 100 des sucres totaux de l'hydrolysats), le xylose, l'arabinose, le mannose et le galactose. On trouve également des traces de glucosamine. La somme de tous ces sucres constitue environ 10 à 40 p. 100 de la matière sèche des protozoaires selon le régime.

Seule la teneur du glucose varie en fonction du temps de prélèvement après le repas (fig 1). Elle évolue peu (de 2,8 à 3,6 p. 100 de la matière sèche) avec le régime « cellulose » mais augmente beaucoup plus avec les autres régimes (de 4,7 à 13,4 p. 100 pour le régime « saccharose » ; de 6,5 à 21,4 p. 100 pour le régime « inuline » et de 6,7 à 31,3 p. 100 pour le régime « amidon ») ; le maximum est atteint généralement entre deux à trois heures après le début du repas.

Le glucose n'existe pas à l'état libre ; il provient donc d'un ou plusieurs polyholosides dont nous n'avons pas déterminé la composition exacte. Cependant, en effectuant une hydrolyse enzymatique par la glucamylase qui attaque spécifiquement les liaisons α (1-4) et α (1-6) de l'amidon

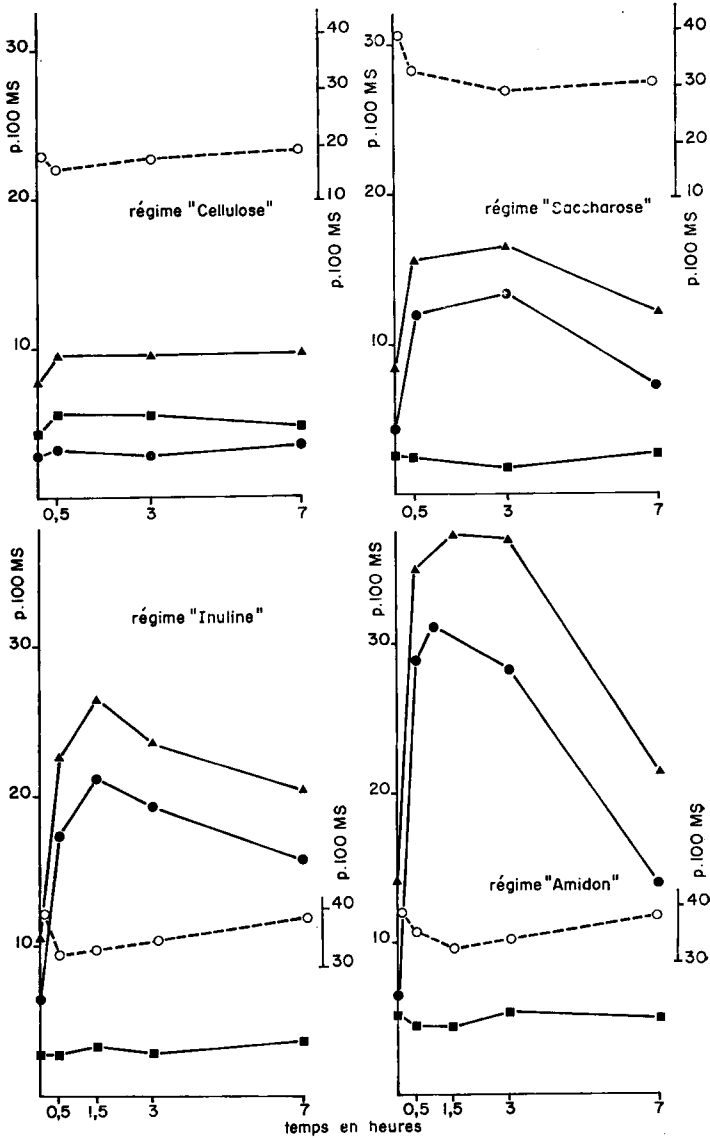


FIG. — Évolution postprandiale de la composition des protozoaires (après hydrolyse acide par $H_2SO_4 N$ à $100^\circ C$)

- ▲—▲ Sucres totaux ;
- Glucose ;
- Arabinose + xylose ;
- - - - ○ Matières azotées ($N \times 6,25$).

(ABDULLAH *et al.*, 1963), nous avons pu estimer que la part des molécules de glucose liées de cette façon représente environ 70 p. 100 du glucose total. Une partie importante des polyholosides de réserve des protozoaires est donc constituée par un polymère du glucose dont la structure est proche de celle de l'amidon, de l'amylopectine ou du glycogène, ce qui est en accord avec les résultats de MASSON et OXFORD (1951) ou de FORSYTH et HIRST (1952). Les autres molécules

de glucose peuvent provenir des glucides qui constituent les alvéoles des plaques squelettiques de certains protozoaires (NOIROT-TIMOTHÉE, 1960) ou de polyholosides de réserve dont les molécules de glucose seraient liées en β (1-3) (RYLEY, 1967).

La concentration des autres sucres, dans les protozoaires, est beaucoup plus faible que celle du glucose. Elle représente de 3 à 9 p. 100 de la matière sèche selon le régime. On y trouve essentiellement de l'arabinose (1 à 2 p. 100) et du xylose (2 à 4 p. 100). Les teneurs en galactose et mannose sont en général inférieures à 1 p. 100, sauf avec le régime à base d'amidon (environ 2 p. 100). Elles ne varient pratiquement pas au cours de la journée, contrairement à ce que l'on observe pour le glucose. Ces différents sucres n'existent pas à l'état libre. Ils peuvent provenir, soit des fragments alimentaires ingérés par les protozoaires (HUNGATE, 1966), soit de glucides de constitution telle que la leucosine, bien que celle-ci n'ait été mise en évidence que chez les chrysomonadines (RYLEY, 1967).

L'hydrolyse acide nous a permis de montrer que les protozoaires du rumen sont constitués de sucres identiques quel que soit le régime distribué à l'animal. Seule la quantité de polyholosides de réserve formée varie en fonction de la nature du glucide de la ration. Elle est maximum avec les polyholosides alimentaires, tels que l'amidon et l'inuline, dont l'hydrolyse dans le rumen est progressive. Enfin, pour un régime donné, le stockage des polyholosides de réserve atteint les valeurs maximum deux à trois heures après le début du repas.

Reçu pour publication en mars 1972.

SUMMARY

THE CHANGES IN THE CARBOHYDRATE COMPOSITION OF THE RUMEN'S MICROBIAL POPULATION FOLLOWING FEEDING IN RELATION TO THE DIETARY CONTENT OF CARBOHYDRATES. I — PROTOZOA

The amount of carbohydrate present in rumen protozoa and hydrolyzable by H_2SO_4 N at $100^\circ C$ for 4 hours varies according to the nature of the main carbohydrate found in the feed : 9.8 p. 100, 16.5 p. 100, 26.5 p. 100, and 37.7 p. 100 of the dry matter, respectively, for diets rich in cellulose, saccharose, inuline, and starch. It rapidly increases after the beginning of the meal except in the case of the « cellulose » diet, and may represent 40 p. 100 of the dry protozoan matter after about 2 h. These carbohydrates are essentially composed of glucose polymers. Much smaller quantities of xylose (2-4 p. 100 of the dry matter), arabinose (1-2 p. 100 of the dry matter), mannose and galactose (1 p. 100 of the dry matter) polymers are also found. Only the amount of glucose changes, reaching a maximum 2-3 hours after the beginning of the meal and then declines again.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABDULLAH M., FLEMING I. D., TAYLOR P. M., WHELAN W. J., 1963. Substrate specificity of the amyloglucosidase of *Aspergillus niger*. *Biochem. J.*, **89**, 35 P.
- FORSYTH G., HIRST E. L., 1953. Protozoal polysaccharides. Structure of the polysaccharide produced by the Holotrich Ciliates present in sheep's rumen. *J. Chem. Soc.*, **2**, 2132-2135.
- HEALD P. J., OXFORD A. E., BRENDA SUGDEN., 1952. A convenient method for preparing massive suspensions of virtually bacteria-free ciliate protozoa of the genera *Isotricha* and *Dasytricha* for manometric studies. *Nature*, **169**, 1 055-1 056.
- HEALD P. J., OXFORD A. E., 1953. Fermentation of soluble sugars by anaerobic Holotrich Ciliate protozoa of the genera *Isotricha* and *Dasytricha*. *Biochem. J.*, **53**, 506-512.

- HOBSON P. N., THOMPSON J. K., 1970. The concentration of soluble polysaccharides in the rumen contents of sheep fed on hay. *J. agric. Sci.*, **75**, 471-478.
- HUNGATE R. E., 1966. *The rumen and its microbes*, 130-137. Academic Press, New York, London.
- JOUANY J. P., 1972. Chromatographie en phase gazeuse des oses, des di- et triholosides dans les milieux complexes. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* **12**, 493-504.
- MASSON F. M., OXFORD A. E., 1951. The action of the ciliates of the sheep's rumen upon various water-soluble carbohydrates, including polysaccharides. *J. Gen. Microbiol.* **5**, 664-672.
- NOIROT-TIMOTHÉE C., 1960. Étude d'une famille de ciliés : les *Ophryoscolecidae*. Structure et ultra-structure. *Ann. Sci. nat. Zool. biol. anim.*, **12**, 615-628.
- RYLEY J. F., 1967. *Chemical zoology*. Vol. 1, 55-92, éd. Kidder, Academic Press, New York, London
-