

Influence de la thiamine sur la protéosynthèse bactérienne chez le mouton

par M. CANDAU, L. KONE

Laboratoire de Zootechnie et des Productions Animales
ENSAT, 145, avenue de Muret, 31076 Toulouse Cedex, France.

Summary. *In vitro effect of thiamin on rumen microbial metabolism.*

To determine the effect of thiamin on the activity of rumen microorganisms we measured the extent of bacterial protein synthesis by *in vitro* incubations in the presence of filtered rumen juice and a protein-free purified diet with 4 p. 100 urea. This was verified by the amount of protein formed in the incubation medium.

Comparing the process in the absence of thiamin, the incorporation of that vitamin at the rate of 4 mg/g resulted in a mean increase of 65 p. 100 of the bacterial proteins synthesized *in vitro* in 3 hrs.

Parallel to this thiamin effect on protein synthesis, the fatty acid analysis showed a modification of the microbial aspect with increased formation of propionic acid (p. 100 of C₃ for diet with thiamin vs p. 100 of C₃ for the thiamin-free diet = 40.39 ± 5.08 vs 25.12 ± 2.99). This was an improvement of energetic yield following the stoichiometric calculations. These observations might explain the effect of this additive nutrient on rumen bacterial proteosynthesis.

Introduction.

Il est classiquement admis que les ruminants ne sont pas tributaires d'un apport exogène en vitamines du groupe B. Des travaux récents révèlent cependant, dans le cas de l'utilisation de régimes soit simplifiés tel l'ensilage de maïs (Candau et Masengo, 1979), soit à taux élevé d'azote non protéique (ANP), (Naga *et al.*, 1975), des possibilités de carence en thiamine (vitamine B₁) ou l'existence de besoins spécifiques de la micropopulation ruminale en cette vitamine.

Dans les conditions de la niche écologique ruminale, la disponibilité en énergie, l'aptitude des bactéries à libérer et à utiliser l'adénosine triphosphate (ATP) à partir de substrats glucidiques sont des facteurs déterminants pour la croissance microbienne (Hungate, 1966 ; Bergen et Yokoyama, 1977) largement sollicitée dans le cas d'utilisation d'ANP dans la ration. Dans le métabolisme cellulaire, la thiamine est connue pour jouer un rôle important en ces domaines. Le but de cette étude est de préciser son influence au niveau de la protéosynthèse bactérienne dans le rumen.

Matériel et méthodes.

Quatre moutons adultes porteurs de canules permanentes du rumen reçoivent 800 g/jour en deux repas d'un aliment purifié (tabl. 1) contenant de l'urée (4 p. 100)

TABLEAU 1

Composition de l'aliment purifié

Composition	p. 100
Amidon de maïs	37,0
Cellulose colmacel	26,0
Cérélose	23,9
Urée (46 p. 100 N)	4,0
Complément minéral	5,0
PEG	1,0
Chlorure de choline	0,1
Huile de maïs	3,0
Vitamine A 50 000 UI/g	8,0 g p. 100 kg
Vitamine D ₃ 100 000 UI/g	1,0 g p. 100 kg
Vitamine B ₁	0,4 g p. 100 kg

comme source unique d'azote. Le régime de deux de ces animaux est enrichi en thiamine à raison de 4 mg/kg d'aliment comparativement à celui des deux autres qui en est dépourvu. Afin de maintenir une rumination normale, de la frisure de polyvinyl est distribué *ad libitum*. Dans ces conditions de régime protéoprive, les protéines du contenu ruminal sont pratiquement d'origine microbienne.

Chacun des aliments purifiés (1 g) est incubé en présence de 20 ml de jus de rumen filtré provenant des animaux nourris aux régimes correspondants et de 20 ml de salive artificielle (formule Mc Dougall) selon la technique du rumen artificiel de Tisserand et Zelter (1965). Les durées d'incubation sont de 1 h 30, 3 h, 5 h et 7 h. L'azote protéique est déterminé sur le culot de centrifugation par la méthode de Kjeldahl après précipitation du contenu des tubes d'incubation à l'acide trichloro-acétique (TCA) à 20 p. 100. Sur le surnageant sont dosés les acides gras volatils (AGV) par chromatographie en phase gazeuse (Intersmat IGC, 120 FB) à 140 °C et utilisant le N-pentyl-glycol adipate comme phase stationnaire.

Les calculs stœchiométriques des échanges énergétiques dans le milieu sont effectués selon Demeyer et Van Nevel (1975) ; Chalupa (1977).

Résultats.

D'après nos résultats, l'accroissement de la protéosynthèse bactérienne dans le rumen des animaux recevant la thiamine est significatif ($P < 0,01$) (fig. 1). Cette influence de la vitamine s'exerce surtout pendant les trois premières heures d'incubation et traduirait une incorporation plus rapide d'azote soluble.

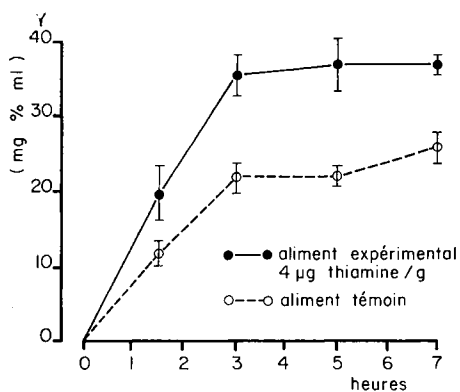


FIG. 1. — Influence du régime sur l'évolution de l'azote protéique : $Y = yx - y_0$; $m \pm sm$; $n = 8$.

Si les concentrations des AGV totaux apparus dans le milieu d'incubation ne sont pas différentes selon les régimes expérimentaux, la proportion des différents AGV est significativement modifiée par la présence de la vitamine B₁ dans le régime et ce dans le sens d'une orientation nettement propionique des fermentations (tabl. 2).

TABLEAU 2

Influence de la thiamine sur les proportions molaires d'AGV (C₂ C₃ C₄) après 3 h d'incubation

	Aliment expérimental (4 µg thiamine/g)	Aliment témoin
Acétate	44,53 ± 5,48	48,9 ± 4,04
Propionate	40,39 ± 5,08 **	25,12 ± 2,99 **
Butyrate	12,16 ± 0,06 **	18,8 ± 0,39 **
Totaux (mMoles p. 100 ml).....	7,61 ± 1,54	7,77 ± 1,80

$m \pm sm$ ($Y = yx - y_0$) $n = 6$.

Différences significatives : ** $P < 0,01$ (sur une même ligne).

Si nous considérons que deux moles d'ATP (Walker, 1965) sont produites par mole d'AGV apparue dans le milieu, on peut évaluer le rendement de la production de protéine microbienne par rapport à l'énergie disponible (tabl. 3). On constate alors un effet très significatif de l'addition de vitamine B₁ sur ce paramètre. Par ailleurs, l'intensité protéosynthétique apparaît davantage corrélée à la nature des fermentations bactériennes qu'à la quantité de glucides fermentés.

Cet effet qualitatif de la thiamine sur les phénomènes digestifs de nature microbienne dans le rumen peut être en effet estimé à l'aide de calculs stœchiométriques (Demeyer et Van Nevel, 1975 ; Chalupa, 1977). Les résultats de ces calculs rapportés dans le tableau 4 montrent que la présence de thiamine se traduit notamment par une diminution dans la formation de méthane.

TABLEAU 3
Influence de la thiamine sur le rendement en azote protéique à 3 h

	mMoles d'hexoses fermentés p. 100 ml de milieu	Azote protéique mg p. 100 ml de milieu	Rendement en protéines microbiennes ($N_2 \times 6,25$) mg/mMole ATP ⁽¹⁾
Aliment expérimental 4 μ g thiamine/g	4,52 \pm 0,62	36,62 \pm 3,13	15,37 \pm 2,5 **
Aliment témoin	4,62 \pm 0,56	19,02 \pm 3,03	7,59 \pm 1,01 **

⁽¹⁾ Quantité de protéines microbiennes synthétisées par rapport aux ATP utilisés en considérant 2 Moles d'ATP produites par mole d'AGV.

m \pm sm n = 6.

Différences significatives : ** P < 0,01 (sur une même colonne).

TABLEAU 4
Influence du régime sur la répartition de H₂ métabolique en p. 100 du total théoriquement produit (formation de CH₄) après 3 h et 5 h d'incubation

	Aliment expérimental (4 μ g thiamine/g)	Aliment témoin
Hexoses fermentés mMoles/tube	1,75 \pm 0,17	1,75 \pm 0,21
Cellules (mg)	89,9 \pm 7,10	92,86 \pm 8,39
Rapport C ₂ /C ₃	1,14 \pm 0,09 **	2,37 \pm 0,24 **
H ₂ produit 100 p. 100	100 p. 100	100 p. 100
H ₂ dans les AGV en p. 100 du total	64,18 \pm 4,77 *	45,44 \pm 3,83 *
H ₂ dans les cellules en p. 100 du total . .	10,76 \pm 0,86	9,45 \pm 0,89
H ₂ dans le CH ₄ en p. 100 du total	24,49 \pm 4,51 *	44,58 \pm 3,16 *

m \pm sm n = 6.

* P < 0,05.

** P < 0,01.

Calculs stoechiométriques (Demeyer et Van Nevel, 1975 ; Chalupa, 1977).

Discussion.

Les résultats de ce travail mettent en évidence une différence dans le métabolisme des micro-organismes du rumen en présence de thiamine. Cette vitamine stimule la synthèse par les bactéries de protéines à partir de l'ammoniaque issue de l'uréolyse. Elle induit un faciès propionique ; processus qui, en améliorant le rendement énergétique des fermentations microbiennes dans la panse (Durand, 1978) peut rendre compte indirectement de l'accroissement de l'intensité protéosynthétique.

Naga *et al.* (1975) signalent également un effet similaire de la thiamine sur les faciès microbiens. L'influence positive de cet élément sur le rendement d'utilisation

de l'énergie s'explique en partie par la diminution des pertes d'énergie sous forme de méthane. L'orientation propionique des fermentations ainsi corrélée négativement avec la production de méthane situe l'action de la thiamine au niveau de la régénération des cofacteurs réduits, processus intracellulaire permettant la réduction du lactate en propionate (Schulman et Valentino, 1976).

L'influence de la thiamine sur la protéosynthèse bactérienne peut également s'exercer directement au niveau des réactions cellulaires de la synthèse protéique qui font intervenir des processus de décarboxylation oxydative nécessitant la thiamine pyrophosphate comme coenzyme. Ceci a notamment été signalé par Allison (1969) dans l'utilisation des acides gras ramifiés pour la synthèse des acides aminés correspondants. La vérification de cette hypothèse fera l'objet d'un travail ultérieur.

*Journées Ingestion-Digestion-Absorption
de l'Association française de Nutrition,
Paris, 15-16 novembre 1979.*

Références

- ALLISON M. J., 1969. Biosynthesis of amino acids by ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.*, **29**, 797-807.
- BERGEN W. G., YOKOYAMA M. T., 1977. Productive limits to rumen fermentation. *J. Anim. Sci.*, **46**, 573-584.
- CANDAU M., MASSENGO J., 1979. Evidence of a thiamine deficiency in the sheeps with a maize silage diet. *Ann. vet. Res.* (sous presse).
- CHALUPA W., 1977. Rumen fermentation to maximize animal productivity. *J. Anim. Sci.*, **46**, 585-598.
- DEMEYER D. I., VAN NEVEL C. J., 1975. Methanogenesis, an integrated part of carbohydrate fermentation, and its control. In McDONALD I. W., WARNER A. C. I., *Digestion and metabolism in the ruminant*. Univ. N. Engl. Publ. Unit.
- DURAND M., 1978. Digestion de l'azote et des glucides au niveau du rumen. *Dossiers de l'élevage*, **2**, 21-30.
- HUNGATE R. E., 1966. *The rumen and its microbes*. Acad. Press, N. Y.
- Mc DOUGALL E. I., 1948. Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep saliva. *Biochem. J.*, **43**, 99.
- NAGA M. A., HARMEYER J. H., HOELLER H., SCHALLER K., 1975. Suspected « B » vitamin deficiency of sheep fed a protein-free urea containing purified diet. *J. Anim. Sci.*, **40**, 1192-1198.
- SCHULMAN M. D., VALENTINO D., 1976. Factors influencing rumen fermentation : Effect of hydrogen on formation of propionate. *J. Dairy Sci.*, **59**, 1444-1451.
- SCHWARTZ D., 1963. *Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes*. 317 pp. Ed. Méd. Flammarion, Paris.
- TISSERAND J. L., ZELTER S. Z., 1965. Essai de normalisation d'une technique de mesure de la digestion des fourrages *in vitro* « Rumen artificiel ». *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **5**, 101-111.
- WALKER D. J., 1965. Energy metabolism and rumen microorganisms, 296-310. In Dougherty R.W., *Physiology of digestion in the ruminant*. Butterworths, London.
-