

Utilisation de l'azote ^{15}N pour la mesure de la protéosynthèse microbienne dans les phases solide et liquide d'un fermenteur semi-continu (Rusitec)

Sylvie KOMISARCZUK, Michelle DURAND, Ph. BEAUMATIN, Geneviève HANNEQUART

Station de Recherches de Nutrition,
I.N.R.A., 78350 Jouy-en-Josas, France.

Summary. The use of ^{15}N incorporation with a semi-continuous culture system showed that the specific enrichment of solid-associated bacteria (SAB) was lower than that of liquid-associated bacteria. The contribution of the SAB to total microbial N was about 30 %.

L'utilisation du fermenteur semi-continu de type « Rusitec » (Czerkawski et Breckenridge, 1977) devrait permettre l'étude des facteurs d'optimisation de la protéosynthèse dans le rumen. Nous avons tenté d'utiliser l'incorporation de ^{15}N pour quantifier la synthèse de protéines microbiennes dans les phases liquide et solide ; cette méthode présente en outre l'avantage d'apporter des données sur le métabolisme azoté des bactéries.

Matériel et méthodes. Tous les détails méthodologiques sont rapportés dans Komisarczuk (1985). Deux fermenteurs (1 l de capacité) sont ensemencés avec du liquide et du contenu solide de rumen provenant de 6 moutons. L'aliment expérimental utilisé (paille d'orge 50 %, pulpes de betteraves déshydratées 29 %, manioc 21 %) est introduit dans des sachets en nylon à raison de 16 g de MS/jour/sac. La perfusion d'une salive artificielle (1 l/24 h/fermenteur) apporte 373 mg d'azote (urée) dont l'enrichissement spécifique en ^{15}N ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) est de 1,23 %. La concentration en N-NH_3 de l'effluent liquide est de 208 ± 10 mg/l et le pH dans les fermenteurs de $6,65 \pm 0,02$ en moyenne.

Après 7 jours d'adaptation, les bactéries des phases liquide (libres) et solide (liées) des contenus de 2 jours non consécutifs sont séparées par centrifugation

TABL. 1. — Caractéristiques des bactéries et protéosynthèse dans les phases liquide et solide du Rusitec (moyenne de 2 fermenteurs \pm sm).

	Phase liquide	Phase solide (résidu des sachets)	SD P <
Teneur en N des bactéries (% MS) (n = 4)	8,03 \pm 0,20	6,80 \pm 0,10	0,01
Enrichissement spécifique ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) des bactéries (n = 4)	0,932 \pm 0,008	0,611 \pm 0,014	0,001
Proportion de N-NH_3 incorporé par les bactéries (n = 6)	0,81 \pm 0,01	0,54 \pm 0,01	0,001
Enrichissement spécifique des culots (n = 6)	0,814 \pm 0,013	0,310 \pm 0,019	0,001
Azote microbien (n = 6) (mg/g)	103 \pm 3	47 \pm 2	0,001

fractionnée, la phase solide étant préalablement traitée au « stomacher ». L'enrichissement spécifique en ^{15}N est mesuré séparément dans le culot de centrifugation de l'effluent liquide de 24 h et dans celui du résidu solide des sachets (préalablement rincés) ayant séjourné 48 h dans le réacteur et ce, sur les contenus de 3 jours non consécutifs. Le ^{15}N est dosé par spectrométrie de masse (*). La protéosynthèse est calculée par les rapports des enrichissements spécifiques de ces fractions sur ceux des bactéries correspondantes. La proportion d'azote incorporée sous forme NH_3 est calculée par le rapport de l'enrichissement spécifique des bactéries (tabl. 1) à celui de l'ammoniac qui est en moyenne de 1,141.

Résultats et discussion. Les résultats (tabl. 1) montrent des différences importantes entre les bactéries des deux phases. La teneur en N des bactéries liées est inférieure à celle des bactéries libres, ce qui est en accord avec les résultats de Merry et McAllan (1983).

L'incorporation directe de NH_3 est nettement plus élevée chez les bactéries libres que chez les bactéries liées. Ces dernières disposent *in situ* de l'azote protéique alimentaire et incorporent 46 % de leur azote sous une forme aminée ou peptidique. Les bactéries libres utilisent essentiellement l'azote ammoniacal qui est la principale forme d'azote disponible dans la phase liquide.

Nos résultats montrent que la prise en compte de l'enrichissement spécifique de la seule population libre conduit à sous-estimer l'azote microbien total d'environ 10 %. Cette remarque est également applicable à la méthode aux ARN puisque Merry et McAllan (1983) ont montré que le rapport (N-ARN/N-total) des bactéries liées est inférieur à celui des bactéries de la phase liquide.

La quantité d'azote incorporée dans les microorganismes est au total de 150 mg/j dont plus de 30 % sont représentés par la population liée. La quantité de matière organique fermentée étant de $6,2 \pm 0,1$ g/j, le rendement total de la protéosynthèse a une valeur de $24 \pm 0,5$ g N/kg MOF. Ce rendement, bien que plus faible que le rendement moyen *in vivo* (33 g N/kg MOF), est supérieur à celui obtenu dans le même type de fermenteur par Durand *et al.* (1986) avec des substrats pulpes et son (17,9 et 22,9 g N/kg MOF respectivement) en utilisant les ARN comme marqueur de la synthèse microbienne. Cependant, ces auteurs n'avaient pas, dans cette dernière expérience, séparé les bactéries des deux phases, ce qui peut expliquer les différences de rendement observées.

Czerkawski J. W., Breckenridge G., 1977. *Br. J. Nutr.*, **38**, 371-384.

Durand M., Hannequart G., Beaumatin P., Dumay C., 1986. *Arch. anim. Nutr.*, Berlin, **36**, 327.

Komisarczuk S., 1985. Thèse de Doc. Univ. Paris Sud, Centre d'Orsay, 200 pp.

McAllan A. B., Smith R., 1984. *Br. J. Nutr.*, **51**, 77-83.

Merry J. R., McAllan A. B., 1983. *Br. J. Nutr.*, **50**, 701-709.

(*) Dosages effectués à la Station d'Agronomie, I.N.R.A. de Laon.