

Dégradation et fermentation de la cellulose par *Neocallimastix sp.* seul ou associé à quelques espèces bactériennes du rumen

Annick BERNALIER (1), G. FONTY (1, 2), Ph. GOUET (1)

(1) I.N.R.A., Laboratoire de Microbiologie,
Theix, 63122 Ceyrat, France.

(2) C.N.R.S., Laboratoire de Biologie comparée des Protistes, U.A. 138,
Université de Clermont II, 63170 Aubière.

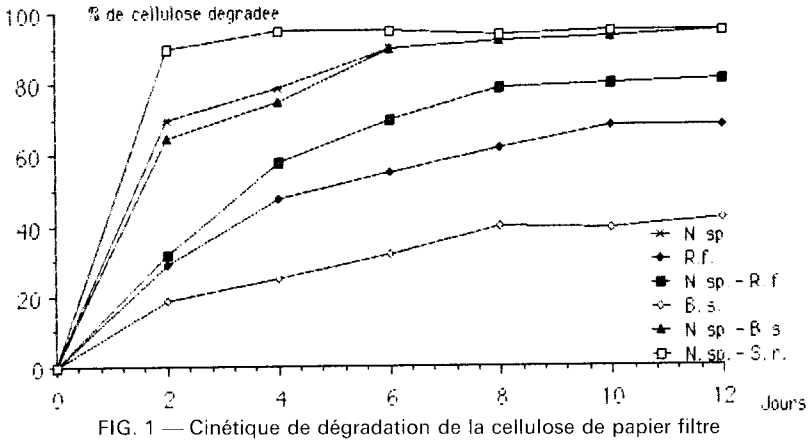
Summary. *Neocallimastix sp.* showed a greater cellulolytic activity than *B. succinogenes* and *R. flavefaciens*. It did not interact with *B. succinogenes* but competed with *R. flavefaciens*. *S. ruminantium* increased cellulose hydrolysis by *Neocallimastix*.

Les interactions entre les diverses populations microbiennes du rumen confèrent à l'ensemble de l'écosystème une grande stabilité et une grande efficacité. Notre objectif a été d'étudier, *in vitro*, les interactions pouvant exister dans la cellulolyse entre une souche de champignon anaérobie strict et trois espèces bactériennes du rumen.

Matériel et méthodes. Nous avons étudié la dégradation et la fermentation de la cellulose de papier filtre (Whatman n° 1) par *Neocallimastix sp.* (N. sp.) (souche MCH3, isolée au laboratoire) en monoculture ou en coculture avec une espèce cellulolytique [*Ruminococcus flavefaciens* (R.f.) souche 007 ou *Bacteroides succinogenes* (B.s.) souche S85] ou en coculture avec une espèce fermentative [*Selenomonas ruminantium* (S.r.) souche WPL]. Les cultures ont été réalisées sous CO₂ sur le milieu liquide de Orpin (1975) modifié au laboratoire. A chaque tube, 50 mg de papier filtre étaient ajoutés à 10 ml du milieu. Les cocultures étaient obtenues en inoculant les deux microorganismes simultanément. Les monocultures et les cocultures ont étéensemencées à partir d'un même inoculum fongique ou bactérien. Nous avons déterminé la quantité de substrat disparue (M.S.) en fonction du temps, dosé, après 12 jours de culture, les acides gras volatils, l'éthanol, le lactate et les gaz par chromatographie phase gazeuse (Jouany, 1982), le formate et le succinate par H.P.L.C., et la concentration en sucres réducteurs restants dans le milieu (Miller, 1959). Un dénombrement bactérien a également été effectué par la méthode des rolltubes.

Résultats et discussion. En monoculture, *Neocallimastix sp.* a dégradé une quantité de cellulose supérieure à celle de *B. succinogenes* et *R. flavefaciens* (fig. 1). *R. flavefaciens* s'est montré plus efficace que *B. succinogenes* : ceci peut s'expliquer par un meilleur développement du ruminocoque (10^8 bactéries ml⁻¹) que du *Bacteroides* (10^6 bactéries ml⁻¹) sur le milieu de culture utilisé.

Que l'on considère la quantité de substrat dégradé ou les produits de la fermentation (fig. 1 ; tabl. 1), la coculture *Neocallimastix sp.*-*B. succinogenes* n'a pas mis en évidence d'interactions entre ces deux microorganismes. En revanche l'association de *R. flavefaciens* à *Neocallimastix sp.* s'est traduite par une quantité



de cellulose hydrolysée inférieure à celle de la monoculture fongique (fig. 1). La bactérie a donc exercé un effet antagoniste à l'égard du champignon. Le propionate, que l'on retrouve en quantité 5 fois plus élevée dans la coculture que dans la monoculture bactérienne (tabl. 1), pourrait témoigner de l'existence d'une interaction de type métabolique entre ces deux microorganismes.

L'association de *S. ruminantium* à *Neocallimastix sp.* a augmenté la vitesse de dégradation de la cellulose (fig. 1). Cette augmentation peut être due à une utilisation, par la bactérie, de résidus de la cellulolyse (cellodextrines, cellobiose, glucose) et/ou du lactate comme en témoigne le dosage des sucres réducteurs et celui des produits de fermentation (tabl. 1).

TABLE 1. — Produits terminaux de fermentation obtenus après 12 jours de culture (exprimés en $\mu\text{moles}/100 \mu\text{moles}$ équivalent glucose/10 ml, gaz en %). — CO_2 calculé grâce aux stœchiométries théoriques de fermentation. — Sucres réducteurs exprimés en $\mu\text{moles}/10 \text{ ml}$.

	N.sp.	R.f.	B.s.	N.sp.-R.f.	N.sp.-B.s.	N.sp.-S.r.
Formate	+	++	+	+	N.D.	+
Acétate	48,0	55,0	31,0	40,0	42,6	68,8
Propionate	0,0	traces	0,0	5,3	0,0	56,0
Lactate	76,3	28,3	0,0	31,4	55,2	7,2
Succinate	17,5	53,0	137,9	59,3	N.D.	53,0
Ethanol	7,0	0,0	traces	0,0	2,6	0,0
H_2	25%	3,2%	0%	8,4%	27%	10,3%
CO_2 calculé	37,5	2,0	-106,8 ⁽¹⁾	-19,0 ⁽¹⁾	N.D.	15,8
Bilan carbone (%)	68,8	65,9	68,4	75,7	N.D.	92,5
Sucres réducteurs restants	3,0	1,1	2,2	0,0	2,9	0,0

(¹) = indique une consommation de CO_2 . N.D. = Non déterminé.

Ces résultats mettent en évidence deux nouveaux exemples d'interactions entre microorganismes eucaryotes et procaryotes du rumen, mais les mécanismes mis en jeu restent à déterminer.

Jouany J. P., 1982. *Sci. Al.*, **2**, 131-144.

Orpin C. G., 1975. *J. gen. Microbiol.*, **94**, 249-262.

Miller G. L., 1959. *Anal. Chem.*, **31**, 426-428.