

Effet de quelques facteurs physico-chimiques sur l'adhésion à la cellulose de deux espèces bactériennes cellulolytiques du rumen

Valérie ROGER ⁽¹⁾, G. FONTY ^(1, 2), Sylvie KOMISARCZUK ^(1, 3), Ph. GOUET ⁽¹⁾

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

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

⁽³⁾ Station de Recherches de Nutrition, I.N.R.A., 78350 Jouy-en-Josas.

Summary. The effect of some physico-chemical factors on the attachment to cellulose was studied in 2 cellulolytic rumen bacteria, *Ruminococcus flavefaciens* and *Bacteroides succinogenes*. The differences in response to some factors suggested that the mechanisms involved in the attachment differed between the 2 species.

L'adhésion à la cellulose a fait l'objet de nombreux travaux mais ceux-ci sont pour l'essentiel des observations descriptives et qualitatives en microscopie électronique (Kudo *et al.*, 1987). Notre objectif a été d'étudier, *in vitro*, l'effet de quelques facteurs physico-chimiques susceptibles d'influencer l'adhésion des deux principales bactéries cellulolytiques du rumen, *Ruminococcus flavefaciens* et *Bacteroides succinogenes*, afin de mieux définir, à terme, les mécanismes en jeu.

Matériels et méthodes. *Ruminococcus flavefaciens* 007 et *Bacteroides succinogenes* S85 ont été cultivés, sous CO₂, en milieu liquide ne contenant que du cellobiose comme source d'énergie : *R. flavefaciens* sur le milieu de Scott et Dehority (1965) et *B. succinogenes* sur le milieu de Bryant *et al.* (1959) modifié au laboratoire par Komisarczuk et Fonty. La culture bactérienne est centrifugée pendant 10 min à 2 000 g pour *B. succinogenes* et à 3 500 g pour *R. flavefaciens*. Le culot est lavé, centrifugé à nouveau puis remis en suspension dans un milieu de même composition exempt de cellobiose mais contenant le facteur dont on souhaite étudier l'effet. Le pourcentage de cellules bactériennes capables de se fixer à la cellulose à partir de cette culture a été déterminé selon la méthode de Minato et Suto (1978) qui consiste à mesurer la densité optique de la culture bactérienne avant et après addition de cellulose.

Nous avons étudié l'influence du temps de contact entre bactéries et cellulose, de la phase de croissance, de la température, de l'oxygène, des oses, des celluloses substituées (hydroxyéthylcellulose (HEC), carboxyméthylcellulose (CMC) et méthylcellulose (MC)) et des acides phénoliques ajoutés à différentes concentrations, ainsi que l'effet des carences minérales sur l'adhésion des deux espèces à la cellulose microcristalline Avicel, choisie comme cellulose de référence et ajoutée au milieu de culture à la concentration de 0,2 %.

Résultats et discussion. *R. flavefaciens* adhère à la cellulose Avicel après seulement une minute de contact (80 à 90 % de bactéries fixées). *B. succinogenes*

n'atteint ce maximum qu'après 25 min de contact ; le pourcentage de bactéries adhérentes n'est que de 30 % après une minute de contact. L'adhésion de *R. flavefaciens* et *B. succinogenes* à la cellulose Avicel est maximale à 38 °C (température optimale) et en fin de phase exponentielle (80 à 90 % de bactéries adhérentes). La capacité à adhérer de *B. succinogenes* décroît lorsque la température diminue (– 25 % à 4 °C par rapport à 38 °C) et est totalement inhibée en présence d'oxygène alors que celle de *R. flavefaciens* n'est pas modifiée par ces deux paramètres.

À faibles concentrations (0,1 à 1 %), les oses (glucose, cellobiose, mannose, xylose, maltose et amidon soluble) sont sans effet sur l'adhésion des deux espèces. En revanche, à une concentration de 5 %, ces mêmes oses diminuent le nombre de *R. flavefaciens* (– 10 % de bactéries fixées) mais seuls le cellobiose et le glucose ont un effet marqué sur *B. succinogenes* (respectivement – 46 et – 36 % de bactéries fixées).

La CMC à 0,1 % n'a pas d'effet sur l'adhésion des deux espèces bactériennes. L'effet des autres celluloses substituées, des carences minérales, des acides p-coumarique et férulique diffère selon l'espèce bactérienne étudiée (tabl. 1). L'acide phlorétique n'a montré aucun effet sur l'adhésion des deux espèces aux concentrations testées (5 à 20 mM).

TABLE 1. — Effet de quelques facteurs sur l'adhésion de *R. flavefaciens* et *B. succinogenes* à la cellulose Avicel.

Facteur étudié	Bactérie	
	<i>R. flavefaciens</i>	<i>B. succinogenes</i>
Carboxyméthylcellulose 0,1 %	0	– 2 ± 1 %
Méthylcellulose 0,1 %	– 55 ± 7 %	0
Hydroxyéthylcellulose 0,1 %	– 79 ± 6 %	– 31 ± 9 %
Ac. p. coumarique 5 mM	– 2 ± 1 %	0
20 mM	– 14 ± 6 %	– 8 ± 3 %
Ac. férulique 5 mM	– 12 ± 1 %	– 2 ± 1 %
20 mM	– 20 ± 7 %	– 18 ± 7 %
Absence de Mg ⁺⁺	– 13 ± 4 %	0
Absence de Ca ⁺⁺	– 9 ± 4 %	0
Absence de Mg ⁺⁺ + Ca ⁺⁺	– 23 ± 5 %	0

Résultats exprimés en pourcentage de diminution du nombre de bactéries adhérentes par rapport à la culture témoin. Moyenne d'au moins trois essais ± écart-type. Les valeurs inférieures à 5 % sont non significatives.

Nos résultats laissent supposer que les mécanismes d'adhésion mis en jeu par les deux espèces bactériennes sont différents. Ceux de *R. flavefaciens* nécessitent la présence des cations Ca⁺⁺ et Mg⁺⁺ ; ceux de *B. succinogenes* ont besoin d'une anaérobiose stricte et d'une température optimale de 38 °C, ce qui laisse supposer une participation enzymatique.

- Bryant M. P., Robinson I. M., Chu H., 1959. *J. Dairy Sci.*, **42**, 1831-1847.
 Kudo H., Cheng K. J., Costerton J. W., 1987. *Can. J. Microbiol.*, **33**, 267-272.
 Minato H., Suto T., 1978. *J. gen. appl. Microbiol.*, **16**, 1-16.
 Scott H. W., Dehority B. A., 1965. *J. Bacteriol.*, **89**, 1169-1175.