

## Écologie de la dégradation et de la fermentation des polyholosides constitutifs des parois végétales dans le rumen

Gérard Fonty, Évelyne Forano

Les ruminants occupent, avec les autres herbivores, une niche écologique unique parmi les mammifères en raison de leur capacité à utiliser l'appareil aérien des plantes comme seule source de nourriture. Parmi les herbivores, ils sont les plus performants pour tirer profit de l'énergie fixée par les végétaux grâce à une communauté microbienne extrêmement abondante ( $10^{10}$  à  $10^{11}$  cellules/ml) et diversifiée qu'ils hébergent dans leur rumen, sorte de fermenteur pré-stomacal. C'est, en effet, dans cet organe que sont dégradés, puis fermentés, 50 à 80 % des polyholosides des parois végétales, 40 à 70 % des composants azotés, la quasi-totalité de l'amidon et la totalité des glucides solubles. Cette symbiose animal-micro-organismes permet ainsi aux ruminants, quelle que soit la zone de climat et de végétation, d'utiliser l'énergie fixée par les écosystèmes herbacés. Ils peuvent également consommer des sous-produits de l'industrie agro-alimentaire (déchets lignocellulosiques) ainsi que diverses formes d'azote non protéique. Dans les conditions naturelles, le « fermenteur rumen » est un écosystème anaérobie strict qui produit un mélange d'acides gras volatils (acide acétique, propionique,

butyrique), de corps microbiens, d'ammoniaque, de gaz carbonique et de méthane. Les acides gras volatils et les corps microbiens représentent respectivement les trois quarts de l'énergie métabolisable du ruminant et plus de la moitié des acides aminés absorbés dans l'intestin. Les micro-organismes assurent par ailleurs la couverture des besoins de l'animal en vitamine B. Le méthane est éruécté, ce qui représente une perte à la fois de carbone et d'énergie pour l'animal. Pour sa nourriture, le ruminant n'est donc pas en compétition avec l'homme et les autres animaux monogastriques et le nutritionniste devrait éviter qu'il le devienne.

L'objectif de cet article est de décrire les principaux aspects de la dégradation et de la fermentation des glucides pariétaux des parois végétales dans le rumen, la cellulolyse constituant le processus majeur de la physiologie digestive du ruminant. Il ne s'agit pas d'une synthèse exhaustive des connaissances actuelles sur ce sujet, mais d'une approche focalisée sur les aspects écologiques de la cellulolyse. Pour les aspects plus approfondis, le lecteur est invité à se reporter à des revues et ouvrages spécialisés [1-5].

### Polyholosides des parois végétales

Les polyholosides structuraux (cellulose, hémicelluloses, substances pectiques) constituent la forme essentielle de stoc-

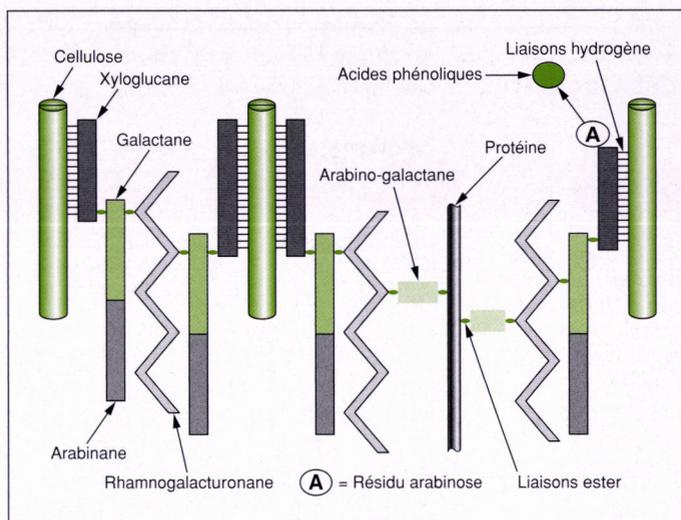
kage de l'énergie des végétaux et représentent 40 à 60 % de la matière sèche des fourrages. La partie végétative des plantes renferme également des polyosides de réserve (amidon, fructosanes, etc.) mais ceux-ci représentent généralement moins de 5 % de la matière sèche totale [2]. On trouve également de faibles quantités de glycoprotéines et quelques fois de lipides complexes (cire, cutine, subérine) [6]. Les polyholosides structuraux sont classés empiriquement selon leur solubilité dans différents solvants d'extraction à partir des parois végétales. Les substances pectiques, qui se caractérisent par la présence d'une chaîne principale constituée d'unités d'acide galacturonique liées en  $\beta$ 1-4 (*figure 1*) [7], sont extraites à l'eau ou avec des agents chélatants. De place en place, la chaîne linéaire est interrompue par des unités de L-rhamnose liées aux acides galacturoniques. Les groupements carboxyliques sont généralement neutralisés par des sels de calcium, de sodium ou de potassium ou bien estérifiés par du méthanol. Le squelette rhamnogalacturonique porte des chaînes latérales essentiellement composées d'arabinose et de galactose [6]. La concentration des substances pectiques est généralement faible chez les graminées (moins de 1 à 4 % de la matière sèche). Elle est plus élevée chez les légumineuses (de 5 à 10 % de la matière sèche) [5, 6].

Les hémicelluloses recouvrent un ensemble assez flou de polysaccharides qui sont solubles en milieu alcalin dilué. Elles sont composées d'oses neutres (D-xylose, D-mannose, D-glucose,

G. Fonty, É. Forano : Laboratoire de microbiologie, INRA, Centre de recherches de Clermont-Ferrand-Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France.

Tirés à part : G. Fonty





**Figure 2.** Représentation schématique de la structure des parois primaires d'une cellule végétale (d'après Albersheim, 1975 et modifié [9]).

**Figure 2.** Structural diagram of primary plant cell walls.

dans une matrice très organisée de glycoprotéines, pectines, hémicelluloses et lignines. La cellulose est liée aux autres polymères, principalement aux xyloglucanes, par des liaisons hydrogène. Des liaisons de type ester s'établissent entre les pectines et les arabinogalactanes, tandis que celles de type éther se forment entre les résidus arabinose des xyloglucanes et les acides phénoliques des lignines. Les parois végétales ne sont pas totalement dégradées dans le rumen ; la présence de lignine est souvent corrélée avec une diminution de la digestibilité des végétaux, le type et le degré de liaisons entre la lignine et les autres constituants pariétaux semblant représenter le facteur limitant.

La dégradation des différents polymères en composés simples, utilisables comme source d'énergie par les micro-organismes, nécessite donc l'action d'une multiplicité d'enzymes (figure 1) hydrolysant les chaînes de polymères, mais aussi les liaisons des polymères entre eux. L'hydrolyse complète de la cellulose (molécule relativement simple puisque homopolymère linéaire de glucose) en monomères requiert l'action synergique d'endoglucanases (enzymes hydrolysant au hasard les liaisons situées à l'intérieur des chaînes), d'exoglucanases (libérant du cellobiose, dimère de glucose, à partir d'une extrémité de la chaîne), d'oligosaccharidases, et *in fine* d'une  $\beta$ -glucosidase (ou cellobiase) scindant le cellobiose en deux glucoses [8]. Pour hydrolyser les hémicelluloses de type xylanes, des

endoxylanases, exoxylanases et xylosidases sont produites, mais dans ce cas, des enzymes débranchantes de type estérases sont également nécessaires (figure 1) [7]. Il faut souligner que l'action des estérases est particulièrement importante, puisque ces enzymes permettent de rompre des liaisons entre lignine et hémicelluloses, rendant ces dernières accessibles aux xylanases, ce qui augmente la digestibilité des parois végétales. La dégradation des substances pectiques en composants monomériques nécessite l'action combinée de polygalacturonase, pectine lyase et pectine méthylestérase (figure 1).

Les micro-organismes du rumen possèdent un équipement enzymatique leur permettant d'hydrolyser la quasi-totalité des liaisons présentes dans les composés pariétaux, excepté la lignine [2, 4].

## Agents microbiens responsables de la dégradation des parois végétales dans le rumen

Les agents microbiens qui dégradent et fermentent les polyholosides pariétaux des végétaux appartiennent aux trois communautés microbiennes majeures du

rumen : les bactéries, les protozoaires et les champignons.

## Bactéries

C'est la flore bactérienne qui est la plus performante pour digérer la cellulose et la quasi-totalité de nos connaissances de la cellulolyse ruminale repose sur l'étude de l'activité des bactéries cellulolytiques. Celles-ci ont fait l'objet de nombreux travaux depuis la mise au point par Hungate [10] d'une technique permettant la culture des anaérobies stricts. C'est grâce au développement de cette technique performante que la connaissance des écosystèmes anaérobies aboutissant à la dégradation de la matière organique a pu progresser.

Compte tenu de leur nombre dans le rumen ( $10^9$  cellules/ml) et de leur aptitude à hydrolyser la cellulose purifiée et la cellulose des fourrages, les principales espèces bactériennes cellulolytiques du rumen sont : *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* et *Ruminococcus albus* [1, 4, 11]. Bien que quelques souches de *Butyrivibrio fibrisolvens* soient cellulolytiques, leur capacité à dégrader la cellulose des fourrages est faible et la contribution de cette espèce à la cellulolyse ruminale est probablement mineure. Il en est de même de *Eubacterium* (initialement *Cellobacterium*) *cellulosolvens* et de *Clostridium longisporum*, autres espèces cellulolytiques trouvées seulement de façon sporadique [1]. Les bactéries cellulolytiques apparaissent dans le rumen trois à quatre jours après la naissance de l'animal, alors que cet organe n'est pas encore fonctionnel [12]. Leur implantation n'est donc pas conditionnée par la consommation d'aliment solide.

La fonction hémicellulolytique est plus largement distribuée parmi la flore bactérienne que la fonction cellulolytique, comme le montre le tableau 1 [13]. Il faut distinguer trois catégories de bactéries hémicellulolytiques : la première est composée d'espèces qui possèdent une activité dépolymérase et une activité glycosidase capables d'hydrolyser la chaîne principale et de couper les chaînes latérales tout en utilisant les oligosaccharides et les oses libérés. Dans la deuxième catégorie, les espèces comme *Fibrobacter succinogenes*, par exemple, possèdent une activité polymérase mais sont incapables d'utiliser les produits d'hydrolyse des hémicelluloses [13, 14]. Une troisième catégorie possède diffé-

**Tableau 1**

**Espèces bactériennes du rumen possédant des activités hémicellulolytiques (d'après Dehority *et al.* [13])**

Dépolymérase et glycosidase	Type d'activité enzymatique	
	Dépolymérase	Glycosidase
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	<i>Ruminobacter amylophilus</i>
<i>Prevotella ruminicola</i>	<i>Ruminococcus flavefaciens*</i>	<i>Succinomonas amylolytica</i>
<i>Ruminococcus flavefaciens*</i>	<i>Ruminococcus albus*</i>	<i>Succinivibrio dextrinosolvans</i>
<i>Ruminococcus albus*</i>		<i>Selenomonas ruminantium</i>
<i>Eubacterium ruminantium</i>		<i>Selenomonas lactilytica</i>
<i>E. uniforme</i>		<i>Lachnospira multiparus</i>
<i>E. xylanophilus</i>		<i>Streptococcus bovis</i>
		<i>Megasphaera elsdenii</i>

\* Le type d'activité varie selon les souches.

**Ruminal bacterial species with hemicellulolytic activity**

rentes activités glycosidasiques et peut utiliser les produits d'hydrolyse, mais est dépourvue d'activité dépolymérase [13]. Plusieurs espèces bactériennes possèdent une activité pectinolytique : *Lachnospira multipara*, *Prevotella* (initialement *Bacteroides*) *ruminicola* et *Butyrivibrio fibrisolvens* [12], *Streptococcus bovis* et quelques souches de spirochètes, mais seulement quelques-unes d'entre elles ont été isolées à partir de milieux sélectifs contenant de la pectine purifiée comme seul substrat énergétique. D'autres espèces l'ont été à partir de milieu non sélectif. Les trois espèces cellulolytiques majeures (*F. succinogenes*, *R. albus* et *R. flavefaciens*) et *S. bovis* possèdent une activité dépolymérase mais n'ont pas d'activité glycosidasique et sont donc incapables d'utiliser les oligogalacturonides [13].

**Protozoaires**

La contribution des protozoaires ciliés à la digestion de la cellulose dans le rumen est incertaine du fait de l'impossibilité de les obtenir en cultures axéniques [15-17]. Sur la base de la capacité d'extraits acellulaires de protozoaires à relarguer des oses réducteurs à partir de cellulose cristalline ou <sup>14</sup>C-cellulose, la fonction cellulolytique a tout de même pu être observée chez plus d'une douzaine d'espèces de ciliés. Cependant, dans toutes ces études la production de cellulases par des bactéries intracellulaires n'est pas à exclure. *Eudiplodinium maggii*, *Epidinium caudatum* et *Ostracodinium dilobum* ont été classés comme fortement cellulolytiques ; *Metadinium affine*, *Eudiplodinium bovis*, *Orphryoscolex caudatus* et *Polyplastron*

*multivesiculatum* sont modérément cellulolytiques ; *Diplodinium pentacanthum* est considéré comme faiblement cellulolytique. D'autres espèces sont également citées comme cellulolytiques, mais sans précision sur l'importance de leur activité [16, 17].

Une activité enzymatique capable de dépolymériser les hémicelluloses a été trouvée dans des extraits acellulaires d'une dizaine de genres de protozoaires [18]. Cette activité était particulièrement élevée chez les espèces cellulolytiques : *P. multivesiculatum*, *O. dilobum*, *M. affine*, *E. maggii*, *E. caudatus*. *Isotricha* spp., *Dasitricha ruminantium* et diverses espèces d'*Entodinium* ont montré une activité plus faible. Toutes ces espèces de ciliés possèdent également des activités glycosidasiques [19]. Les substances pectiques peuvent être dépolymérisées ou dégradées par plusieurs espèces de ciliés. Les protozoaires n'ont toutefois qu'une capacité limitée à utiliser les produits d'hydrolyse formés (acide galacturonique, oligogalacturonide, méthanol) comme source d'énergie. *P. multivesiculatum*, *I. intestinalis* et *I. prostoma* possèdent une activité pectinestérase et polygalacturonase ; d'autres comme *E. maggii*, *E. bovis*, *E. caudatum*, *M. affine*, *Ophryoscolex caudatus* ne possèdent qu'une activité endopectate lyase [13, 20].

L'utilisation de moutons défaunés ou refaunés spécifiquement a montré que la présence des protozoaires dans le rumen conduisait généralement à une meilleure dégradation des hémicelluloses et de la cellulose lorsque les animaux recevaient un régime alimentaire à base de fourrages alors que, avec des régimes riches

en glucides solubles, la présence de ces micro-organismes était plutôt néfaste à l'animal [21-23].

**Champignons**

Comme les bactéries cellulolytiques, les champignons apparaissent dans le rumen des animaux quelques jours seulement après la naissance, donc bien avant l'ingestion d'aliment solide. Chez les ruminants adultes [12] ils sont beaucoup plus nombreux chez les animaux recevant une ration à base de fourrages [24]. En culture pure, les champignons sont capables de solubiliser une grande partie des parois végétales, fourrages, paille de blé [25] et même des tissus plus lignifiés comme le bois par exemple [26]. Leur efficacité *in vitro* peut être égale ou même supérieure à celles des bactéries cellulolytiques ou de la population microbienne totale du rumen [27-29]. À l'exception de quelques souches de *Caeomyces communis*, tous les champignons anaérobies du rumen sont cellulolytiques et leurs cellulases sont parmi les plus actives décrites jusqu'à présent. Toutes les espèces sont capables de dépolymériser les hémicelluloses et d'utiliser les oses et les oligosaccharides. Les champignons semblent, en outre, capables de solubiliser *in vitro* une petite partie de la lignine des lignocelluloses pariétales, mais n'utilisent pas ce composé comme source d'énergie [25]. Des activités estérasiqes libérant des acides phénoliques à partir des parois végétales ont également été décrites chez certaines espèces, notamment chez *Neocallimastix frontalis* [30, 31]. En revanche, les champignons ne sont pas capables de dépolymériser les substances pectiques. *In vivo*, la contribution quantitative des champignons à la dégradation des parois végétales est difficile à estimer, en partie à cause de l'impossibilité de quantifier de façon fiable la biomasse fongique du rumen. L'utilisation d'animaux gnotobiotiques à flore cellulolytique contrôlée a permis de montrer que la présence de deux espèces de champignons, *N. frontalis* et *Piromyces communis*, entraînait une augmentation de l'activité des enzymes hydrolytiques de la population microbienne adhérente aux particules végétales mais, contrairement à ce que l'on pouvait logiquement supposer, cette augmentation n'a pas abouti à une meilleure dégradation *in sacco* de la paille de blé [32].

## Localisation des micro-organismes fibrolytiques dans le rumen et stratégies d'attaque des végétaux

La population microbienne du rumen est répartie en trois sous-populations : la sous-population libre dans le milieu liquide, la sous-population fixée sur la muqueuse du rumen et celle qui comprend les micro-organismes adhérents aux particules alimentaires. C'est dans cette dernière sous-population que l'on trouve principalement les micro-organismes impliqués dans la dégradation des polyholosides structuraux [4, 10].

L'adhésion des micro-organismes est un facteur écologique essentiel dans la colonisation de nombreux biotopes, quelle que soit la nature des surfaces. Elle apparaît donc comme la première étape essentielle dans le processus de la cellulolyse et de la dégradation des aliments [4]. Les fragments végétaux qui entrent dans le rumen au moment des repas sont rapidement colonisés par les bactéries, les champignons et les protozoaires, dont la capacité d'adhésion permet aux micro-organismes

d'augmenter leur temps de présence dans le rumen et de rendre leur action plus efficace en concentrant les enzymes hydrolytiques sur leur tissu cible.

La flore bactérienne fixée aux parois végétales représente de 50 à 80 % de la population totale ; elle est surtout constituée d'espèces cellulolytiques (figure 3) ou hémicellulolytiques. Les espèces fermentatives ou hydrogénotrophes, qui ont tissé des relations trophiques avec les bactéries hydrolytiques, sont également étroitement associées à la paroi végétale, l'ensemble de ces micro-organismes formant un consortium autour des particules alimentaires [33]. La microflore adhérente peut varier selon la nature du substrat et le type de parois végétales [34]. Ainsi les ruminocoques coloniseraient préférentiellement les fragments d'herbe fraîche et *F. succinogenes* les résidus de foin. *R. flavefaciens* serait surtout présent sur les surfaces endommagées de l'épiderme, du phloème et du sclérenchyme, alors que *F. succinogenes* se situerait au niveau du mésophylle [35]. Cette répartition des différentes espèces bactériennes selon les tissus végétaux résulte d'observations pour la plupart qualitative en microscopie électronique et doit être considérée avec réserve ; elles portent sur peu d'échantillons provenant d'un nombre restreint d'espèces végétales. Des compétitions pour certains sites d'adhésion semblent exister entre les

principales espèces cellulolytiques, notamment les deux espèces de *Ruminococcus* [36]. Les mécanismes d'adhésion ne sont pas encore élucidés. Chez les ruminocoques, ils mettraient en jeu des interactions de type ionique entre leur glycocalyx (capsule glycoprotéique qui entoure la cellule bactérienne) et la cellulose. Au contraire, chez *F. succinogenes* qui adhère intimement au substrat et épouse la surface des particules alimentaires en cours de digestion (figure 4), l'adhésion se ferait par l'intermédiaire d'une ou de plusieurs protéines spécifiques [37-39]. On distingue deux stratégies d'attaque des végétaux par les bactéries. L'érosion des surfaces, qui serait le mode d'action prédominant sur les surfaces endommagées, est plutôt le fait de *Fibrobacter* et de *Butyrivibrio* alors que le *travelling*, où la surface bactérienne s'enfonce dans la paroi végétale, serait utilisé par les ruminocoques et occasionnellement par *F. succinogenes* [40]. Tous les champignons sont fixés aux particules végétales (figure 5). Ils colonisent préférentiellement les tissus lignifiés (sclérenchyme, xylème, faisceaux cribro-vasculaires, qui séjournent le plus longtemps dans le rumen). Les zoospores, attirées par chimiotactisme sur les particules végétales nouvellement ingérées, se fixent sur les tissus endommagés par la mastication et sur les stomates [25]. En germant, les spores donnent naissance à des

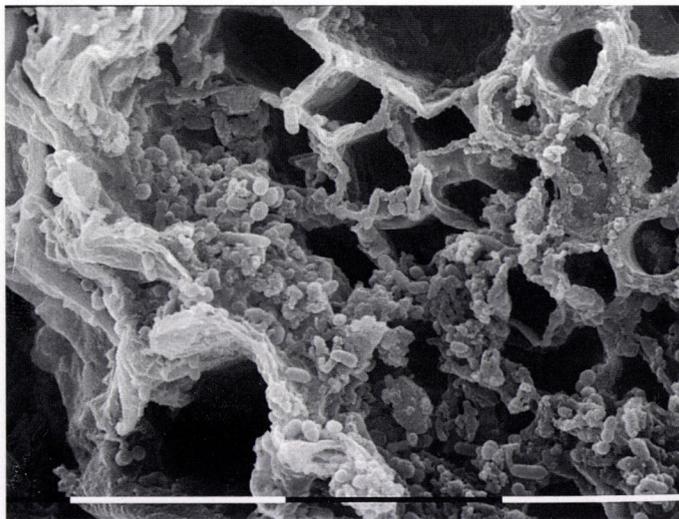


Figure 3. Bactérie cellulolytique fixée sur des fragments végétaux. Photographie en microscopie électronique à balayage (cliché : Gaillard-Martinie B, INRA, CR de Clermont-Ferrand-Theix).

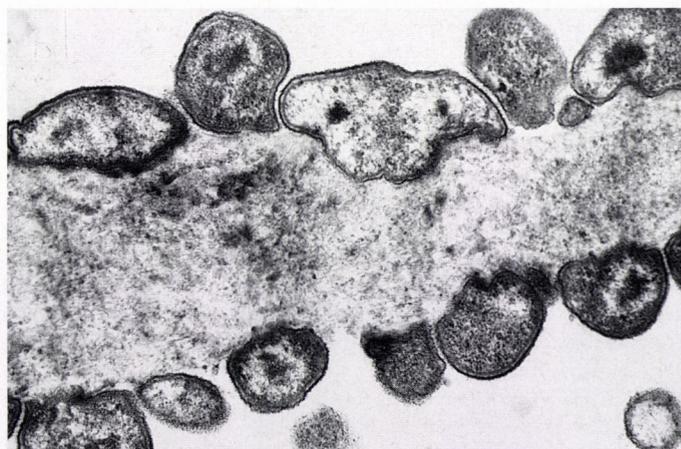
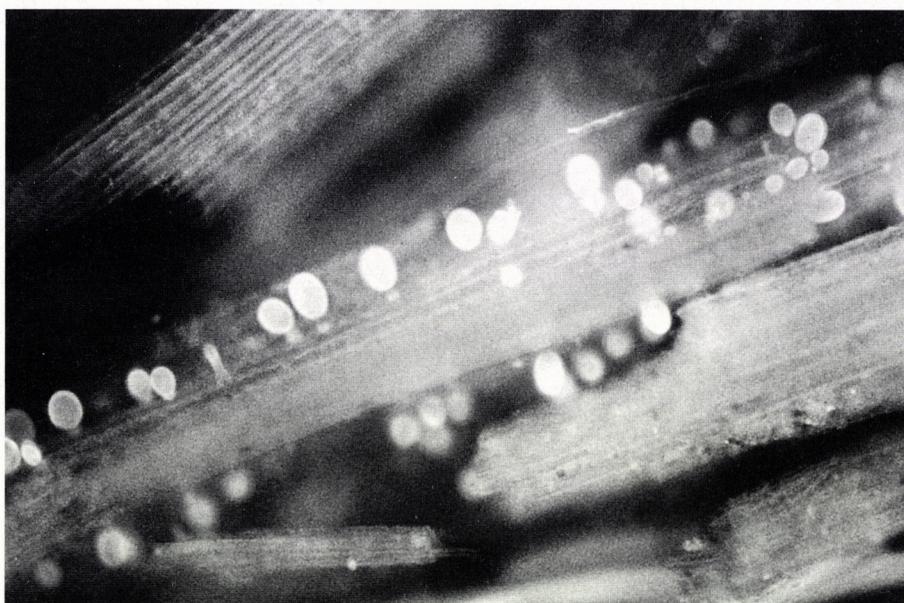


Figure 4. Photographie en microscopie électronique à transmission de *F. succinogenes* S85 adhérant à une fibre de cellulose (x 30 400). Coupe réalisée sur une culture sur papier filtre âgée de 48 heures (cliché : Gaudet G et Gaillard-Martinie B, INRA, CR de Clermont-Ferrand-Theix).

Figure 4. Transmission electron microscope photograph of *F. succinogenes* S85 cells bound to a cellulose fiber (x 30,400).

Figure 3. Cellulolytic bacteria attached to plant fragments.

Figure 4. Transmission electron microscope photograph of *F. succinogenes* S85 cells bound to a cellulose fiber (x 30,400).



**Figure 5.** Photographie en microscopie optique de champignons de rumen fixés sur des fragments de paille. Les champignons sont marqués avec une lectine de blé (WGA) marquée au FITC (isothiocyanate de fluorescéine) (cliché : Gaillard-Martinie B et Breton A, Laboratoire de Microbiologie, INRA, CR de Clermont-Ferrand-Theix).

**Figure 5.** Light microscope photograph of ruminal fungi attached to straw fragments.

rhizoïdes qui pénètrent le matériel végétal, provoquant une fragilisation des tissus [27 et Fonty *et al.*, résultats non publiés]. Cette action destructurante s'ajoute à l'action hydrolytique importante que ces micro-organismes exercent grâce aux nombreuses enzymes qu'ils sécrètent. Ainsi, probablement à cause de leur système rhizoïdal filamenteux capable de pénétrer les tissus végétaux en profondeur, les représentants des genres *Neocallimastix*, *Piromyces*, *Orpinomyces* sont plus performants *in vitro* que les souches de *Caecomycetes* dont les rhizoïdes sont globuleux [28, 29, 41, 42]. Les rhizoïdes permettent également aux champignons d'accéder rapidement aux glucides non immédiatement disponibles pour les bactéries. Cette action physique des champignons pourrait donc leur faire jouer un rôle écologique important *in vivo* ; elle serait en effet susceptible de faciliter la pénétration des enzymes fibrolytiques à l'intérieur des tissus végétaux ainsi que l'adhésion des bactéries cellulolytiques.

Les protozoaires vivent essentiellement dans la phase liquide du rumen. On peut cependant trouver certaines espèces (*Epidinium*, *Isotricha*) fixées sur les parti-

cules alimentaires. Les ciliés peuvent aussi s'insérer sous l'épiderme des parois végétales partiellement dégradées, ou se fixer par ingestion des parties fibreuses appartenant aux grosses particules alimentaires ou, encore, adhérer par la partie antérieure du protozoaire. Dans les deux premiers cas, la fixation est liée à la prise de nourriture active du protozoaire. Le troisième cas est indépendant de l'ingestion. L'association des protozoaires aux particules alimentaires est essentielle pour leur maintien dans le rumen puisque leur durée de division (25 à 35 heures) est en moyenne supérieure à celle du séjour des petites particules et de la phase liquide dans le rumen. Ce comportement expliquerait aussi le rôle actif des ciliés dans la dégradation des aliments [16, 17].

Un cas de compétition entre bactéries et ciliés pour les sites d'adhésion a été mis en évidence [43]. En effet, l'élimination des protozoaires ne diminue guère la dégradation des parois végétales, car les bactéries cellulolytiques, en l'absence de protozoaires, adhèrent en plus grand nombre et occupent les niches laissées libres par les protozoaires. La dégradation du matériel végétal ne dépend donc

pas de sa seule composition chimique, mais aussi de sa structure qui conditionne l'accessibilité des polyholosides aux enzymes hydrolytiques, ainsi que la mise en œuvre des stratégies de colonisation des tissus végétaux par les micro-organismes. Les tissus non lignifiés sont les premiers colonisés alors que les tissus lignifiés le sont rarement. La dégradation des tissus peut ainsi être hiérarchisée par ordre décroissant : mésophyllophloème > épiderme-parenchyme > sclérenchyme > vaisseaux lignifiés > xylème [4, 6, 35].

## Équipement enzymatique des micro-organismes du rumen

Des études biochimiques ont montré que les micro-organismes du rumen produisaient de nombreuses enzymes, souvent associées en complexes de haute masse molaire rendant leur isolement très difficile [2, 44]. La description de l'équipement enzymatique de chacune des espèces microbiennes a donc été abordée par le clonage des gènes d'hydrolases chez *Escherichia coli*. L'isolement de ces gènes à partir des principales espèces bactériennes cellulolytiques et xylanolytiques (*Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens*) et des champignons du rumen (*Neocallimastix frontalis* et *N. patriciarum*, *Piromyces*, *Orpinomyces*) a donc été entrepris [7, 45, 46]. Récemment, cette approche a également été utilisée pour isoler des gènes d'hydrolases à partir de protozoaires du rumen [7].

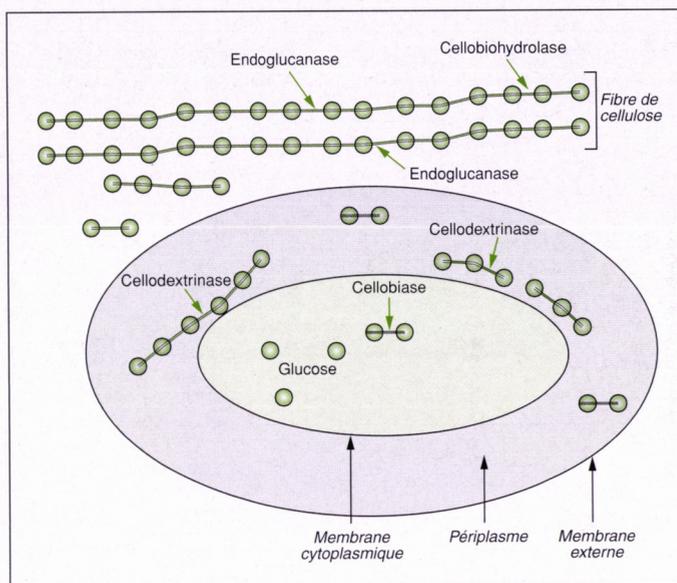
Plus de cinquante gènes ont ainsi été isolés : leur séquence nucléotidique est déterminée et les protéines pour lesquelles ils codent sont caractérisées. Par exemple, 19 gènes de glycosyl-hydrolases ont été clonés à partir de 4 souches différentes de *F. succinogenes* ; 12 codent pour des cellulases, 1 pour une lichénase, et 6 pour des xylanases [13, 47-51]. Des cellulases, xylanases et autres hémicellulases ont également été purifiées par voie biochimique à partir de cultures de *F. succinogenes*. Ainsi, le nombre minimal d'enzymes pouvant participer à la dégradation des parois végétales a été estimé à

24 pour la souche S85 de cette espèce bactérienne. Une grande multiplicité d'enzymes, en particulier de cellulases, dont certaines ont des propriétés tout à fait similaires, peut donc être produite par *F. succinogenes*, mais le rôle de chacune d'entre elles dans la dégradation des parois végétales n'est pas encore connu. L'étude de la localisation de différentes enzymes dans la cellule bactérienne [14] permet de proposer le modèle suivant pour la dégradation de la cellulose par *F. succinogenes* (figure 6) [4]. Les enzymes hydrolysant la cellulose ou les xylanes sont ancrées dans la membrane externe, ou bien excrétées dans le milieu extérieur. Une organisation des cellulases (et des xylanases) en système multienzymatique à la surface bactérienne est probable, mais n'a pas été prouvée. Les oligosaccharides libérés traversent la membrane externe bactérienne et sont clivés dans l'espace périplasmique (espace entre les deux membranes de la paroi bactérienne), et le glucose et le cellobiose résultants sont transportés vers le cytoplasme où ils sont métabolisés (figure 6). Sept gènes de cellulases et 1 gène de xylanase ont été isolés de 5 souches de *R. albus*, tandis que 7 gènes d'endoglucanases et 3 de xylanases ont été clonés à partir de 3 souches de *R. flavefaciens* [7, 45, 46]. Par ailleurs, 3 gènes de cellulases et 6 gènes d'hémicellulases (dont 3 gènes de xylanases, 2 d'estérases et 1 d'arabinofuranosidase), isolés de 5 souches différentes de *B. fibrisolvens*, ont été caractérisés. Enfin, des gènes d'endoglucanases et de xylanases ont été clonés à partir de *Prevotella ruminicola*, espèce bactérienne hémicellulolytique ne dégradant pas la cellulose mais utilisant les cellodextrines [7, 45, 46]. Des gènes de cellulases et d'hémicellulases ont également été isolés des champignons du rumen : 3 gènes de cellulases et 5 gènes de xylanases ont été clonés à partir de *Neocallimastix frontalis* ou *N. patriciarum*, 4 gènes codant pour des xylanases ou mannanases à partir de *Piromyces* spp., et 4 gènes de cellulases et 1 de xylanase à partir d'*Orpinomyces* spp. [45, 52, 53]. Deux gènes de cellulases et 2 gènes de xylanases ont été isolés de 2 espèces de protozoaires du rumen, mais ils n'ont pas encore été caractérisés [7].

L'analyse de la séquence nucléotidique des gènes clonés montre que nombre de ces enzymes sont organisées en différents modules ou domaines, structurellement et fonctionnellement indépendants. Ainsi, on retrouve sur un même poly-

**Figure 6.** Schéma des différentes étapes de la dégradation de la cellulose par *F. succinogenes* S85.

**Figure 6.** Schematic diagram of different stages of cellulose degradation by *F. succinogenes* S85.

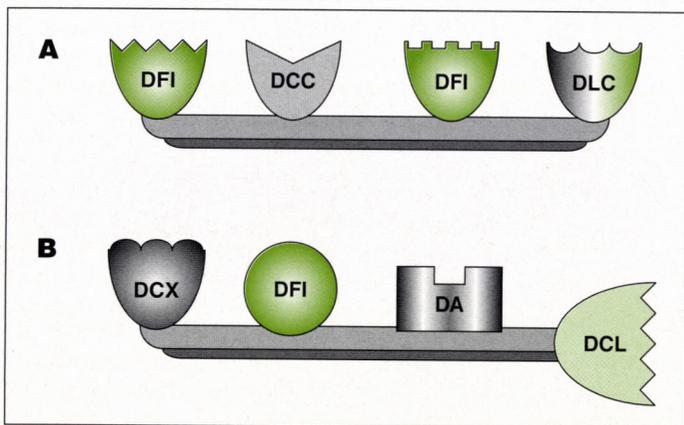


peptide un ou plusieurs domaines catalytiques, qui peuvent être de même spécificité ou de spécificité différente, des domaines de liaison à la cellulose, ou encore d'autres domaines dont la fonction n'est pas encore connue (figure 7). Ces différents domaines sont souvent séparés par des séquences de jonction composées d'acides aminés particuliers conférant une flexibilité à l'enzyme à leur niveau [8]. Certaines enzymes de ruminocoques ou de champignons possèdent, de plus, un domaine composé de séquences répétées (ou domaine d'ancrage, figure 7), qui permet leur assemblage en complexe multienzymatique (figure 8) [54, 55]. Peu d'enzymes caractérisées jusqu'à présent possèdent un domaine de liaison à la cellulose, alors que de tels domaines sont fréquemment présents dans les enzymes produites par des bactéries cellulolytiques anaérobies strictes d'autres écosystèmes [8]. La liaison au substrat, dans le cas des systèmes ruminiaux, est peut-être médiée par des protéines spécifiques présentes dans les complexes [38, 39]. Enfin, un nombre très limité des enzymes purifiées est actif envers la cellulose cristalline, suggérant qu'une organisation supramoléculaire est nécessaire pour permettre cette activité. De nombreux gènes d'hydrolases de micro-organismes du rumen ont été caractérisés ces dernières années et d'autres sont en cours de caractérisation. Leur analyse indique des homologies importantes entre les enzymes produites par différentes espèces de bactériens.

L'organisation en multidomains montre que ces enzymes dérivent d'un pool ancestral de gènes qui se sont dupliqués et combinés dans des ordres différents. Par ailleurs, la présence de plusieurs domaines catalytiques sur une même enzyme, rencontrée très fréquemment en particulier dans le cas des xylanases produites par les micro-organismes du rumen, ou bien l'assemblage de plusieurs enzymes en complexe permet sans doute une meilleure efficacité, car les produits libérés par un domaine catalytique peuvent être directement pris en charge par le domaine adjacent. Enfin, il semble que chaque micro-organisme produise une panoplie complète d'enzymes, dont certaines sont similaires au niveau à la fois de la structure moléculaire et des propriétés enzymatiques. La multiplicité et la complexité rencontrées, tant au niveau des enzymes qu'au niveau des micro-organismes, confèrent sans doute à l'écosystème rumen sa très grande efficacité à dégrader les parois végétales.

## Voies du métabolisme des polyholosides pariétaux dans le rumen

La dégradation et la fermentation des glucides dans le rumen conduisent à la

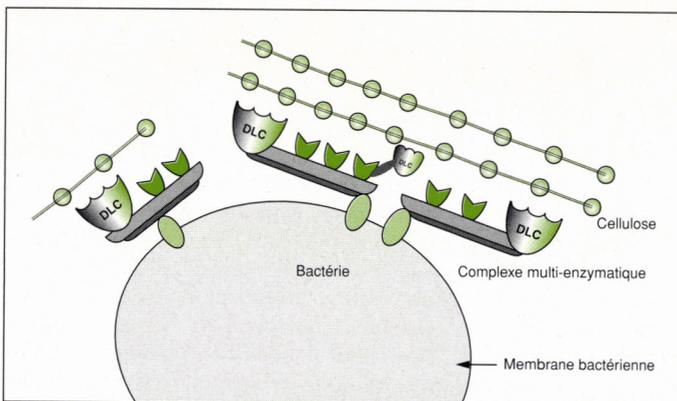


**Figure 7.** Schéma illustrant l'organisation en domaines des enzymes.

**A:** Endoglucanase Celf de *F. succinogenes*. **B:** Xylanase XYND de *R. flavefaciens*.

DFI : domaine de fonction inconnue ; DCC : domaine catalytique cellulase ; DCX : domaine catalytique xylanase ; DCL : domaine catalytique lichénase ; DLC : domaine de liaison à la cellulose ; DA : domaine d'ancrage.

**Figure 7.** Schematic organization of enzymes.



**Figure 8.** Organisation possible d'un complexe multienzymatique à la surface d'une bactérie.

Différents enzymes (vert foncé) sont fixés sur une protéine d'assemblage (grise) qui peut porter un domaine de liaison à la cellulose (DLC) et est sans doute fixée à la membrane bactérienne par l'intermédiaire d'une ou de plusieurs protéines (vert clair).

**Figure 8.** Possible organization of multi-enzymatic complex on the surface of a bacterium.

production d'acides gras volatils (AGV), de gaz, de chaleur et d'ATP. L'ATP produit à partir de réactions du catabolisme transporte l'énergie nécessaire aux réactions de synthèse, les quantités produites dépendant des voies métaboliques empruntées lors des fermentations.

Les micro-organismes qui assurent la transformation des polyholosides structuraux en composés assimilables par l'animal sont organisés en chaîne trophique. Les micro-organismes hydrolytiques (bactéries, champignons, protozoaires) dépolymérisent les polyholosides pariétaux en oses simples (cellobiose, xylobiose, xylose, glucose, etc.). Ces oses sont ensuite fermentés par les espèces « fermentaires » en pyruvate principalement selon la voie de la glycolyse (ou voie d'Embden-Meyerhof-Parnas) puis en AGV (figure 9) dont les principaux sont l'acétate, le propionate et le butyrate avec production de CO<sub>2</sub> et d'H<sub>2</sub>. Le CO<sub>2</sub> est ensuite réduit par l'H<sub>2</sub> en méthane par les espèces méthanogènes.

Des métabolites fermentaires (comme l'éthanol, le lactate, le succinate) produits en cultures pures par de nombreuses espèces bactériennes ou fongiques ne s'accumulent pas dans le rumen, car ils sont catabolisés par d'autres microbes au fur et à mesure de leur production. La production de CH<sub>4</sub>, par réduction du CO<sub>2</sub> dans le rumen, a un effet déterminant sur l'orientation des fermentations et sur leur rendement en ATP.

## Interactions microbiennes

Tout au long de l'évolution, les différentes espèces microbiennes du rumen se sont progressivement adaptées à co-exister en tissant entre elles tout un réseau d'interactions qui confèrent à l'écosystème ruminal une stabilité et une efficacité

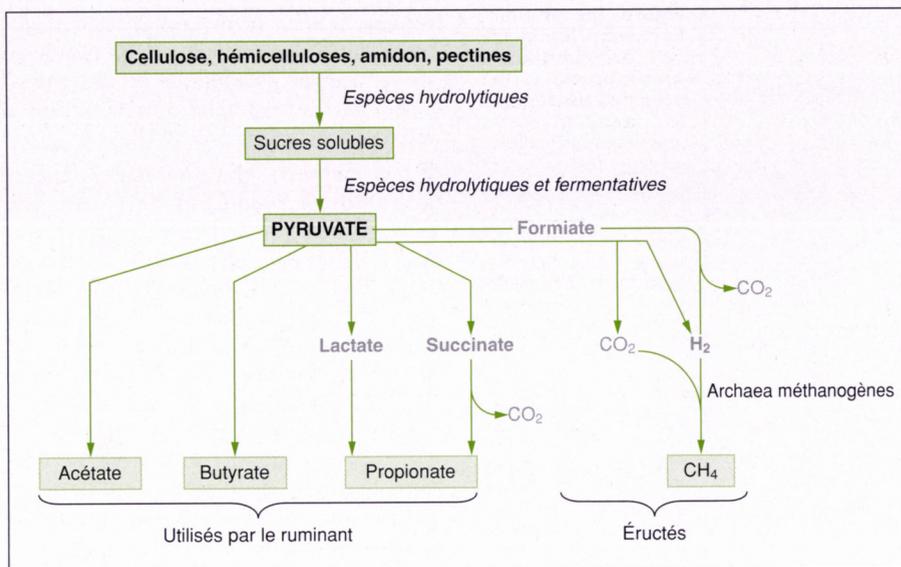
remarquables. Ces interactions conditionnent également la nature des métabolites terminaux des fermentations dont le ruminant est dépendant pour sa nourriture. On trouve ainsi dans le rumen tous les genres de vie communautaire : la compétition, le neutralisme, le commensalisme, le syntrophisme, l'amensalisme et enfin la prédation. Les mécanismes de ces interactions qui sont très variés et complexes peuvent être d'ordre physiologique, nutritionnel ou métabolique [56]. Les exemples d'interactions entre les espèces impliquées dans la dégradation des polymères structuraux sont particulièrement nombreux. Seules les plus importantes seront évoquées ici.

## Interactions entre espèces bactériennes

### Interdépendance nutritionnelle

La complémentarité nutritionnelle entre espèces bactériennes se fait pour de nombreux facteurs. Ainsi comme on l'a vu précédemment, les polymères végétaux sont dégradés sous l'action combinée de trois grands groupes microbiens entre lesquels se crée une véritable chaîne trophique. Les métabolites produits par certaines espèces sont utilisés comme sources énergétiques par d'autres. Ainsi par exemple, les oses et les acides uroniques libérés de l'hydrolyse de la cellulose, des hémicelluloses et de la pectine par les espèces hydrolytiques servent de sources énergétiques et carbonées pour les espèces fermentaires qui les transforment en AGV. Il faut la complémentarité de ces deux groupes microbiens pour aboutir à la dégradation et à la fermentation des polymères comme le montre le tableau 2 [57].

Un autre exemple est illustré par la dépendance des bactéries cellulolytiques vis-à-vis des espèces non cellulolytiques. En effet, les cellulolytiques utilisent préférentiellement l'ammoniaque comme source d'azote et requièrent également pour leur croissance des acides gras volatils ramifiés (acide isovalérique, isobutyrique, 3,4 méthylbutyrique). La satisfaction de ces besoins dépend de l'activité des espèces microbiennes protéolytiques, uréolytiques, peptidolytiques et de celles qui désaminent les acides aminés (valine, leucine, isoleucine) [4]. En retour, les espèces cellulolytiques fournissent aux autres espèces les substrats énergétiques nécessaires à leur croissance (figure 10). Cette dépendance



**Figure 9.** Chaîne trophique assurant la dégradation des polyholosides pariétaux en composés assimilables par le ruminant.

**Figure 9.** Trophic chain ensuring the degradation of cell-wall polysaccharides into compounds that can be utilized by ruminants.

des cellulolytiques vis-à-vis des autres espèces explique sans doute pourquoi celles-ci ne peuvent s'implanter dans le rumen d'animaux gnotobiotiques inoculés avec un nombre restreint d'espèces ou de souches non cellulolytiques [58, 59]. De nombreux exemples de synergie ou de compétition entre espèces ou souches bactériennes hydrolytiques ont été mis en évidence dans la dégradation des polymères pariétaux [13]. Le résultat de ces interactions varie non seulement selon les espèces ou les souches considérées, mais également

selon l'origine et la nature du substrat. Ainsi, par exemple, deux souches qui agissent en synergie dans la dégradation des hémicelluloses d'un fourrage donné peuvent être antagonistes et interagir négativement dans la dégradation des hémicelluloses provenant d'un autre type de fourrage.

L'utilisation de produits intermédiaires du métabolisme des polyholosides résulte d'autres interactions qui sont d'une importance fondamentale dans le rumen. Ainsi, le succinate est décarboxylé en

propionate par *Selenomonas ruminantium*. La majeure partie du propionate formé dans le rumen résulte de ce type d'interaction. De nombreuses espèces dominantes du rumen produisent du succinate comme métabolite principal de la fermentation des glucides. C'est le cas de *P. ruminicola* qui fermente les hémicelluloses, de *R. flavofaciens* et de *F. succinogenes*, deux espèces cellulolytiques majeures. En revanche, mis à part *S. ruminantium*, peu d'espèces sont capables de décarboxyler [1]. Les interactions entre espèces productrices de succinate et *S. ruminantium* sont extrêmement importantes dans le rumen en raison du rôle du propionate, seul substrat précurseur de la néoglucogénèse chez l'animal [4, 56]. Le lactate, produit par plusieurs espèces bactériennes et par toutes les espèces fongiques, ne s'accumule pas dans le rumen. Il est métabolisé en propionate principalement par *Megasphaera elsdenii*. Cette interaction évite l'acidification du biotope. En revanche le déséquilibre entre la production et son utilisation conduit à l'acidose lactique [4, 56]. Le formiate, produit du métabolisme de plusieurs espèces bactériennes (notamment *R. flavofaciens*) et de toutes les espèces fongiques, est rapidement utilisé par les espèces méthanogènes comme source d'hydrogène et de  $\text{CO}_2$  [60].

#### Transfert interspécifique d'hydrogène

La majeure partie de l'hydrogène issu de la fermentation des glucides est immédiatement utilisée par les espèces archaea méthanogènes pour réduire le  $\text{CO}_2$  en méthane. Ce transfert d'hydrogène métabolique entre espèces productrices et espèces hydrogénotrophes (appelé transfert interspécifique d'hydrogène) est fondamental dans le fonctionnement des écosystèmes anaérobies.

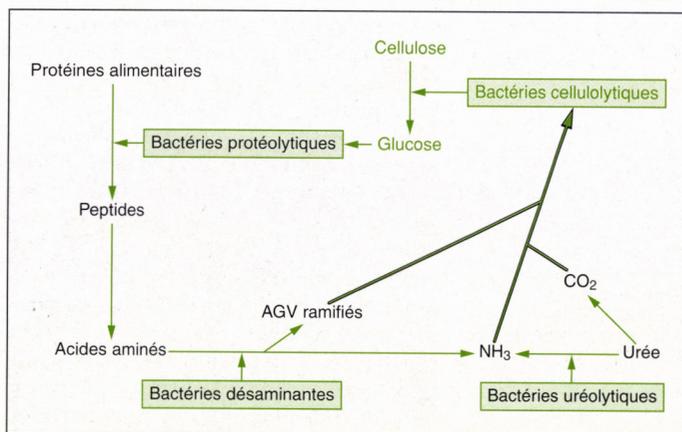
L'une des conséquences les plus importantes de ces interactions est la déviation des voies métaboliques de fermentation. En effet, la plupart des micro-organismes utilisent la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas pour oxyder les oses en pyruvate. Au cours de cette glycolyse le NAD, coenzyme assurant le transport d'électrons, est réduit en NADH. Pour que la fermentation puisse se poursuivre, le NAD, qui est en quantité limitée dans la cellule bactérienne, doit être régénéré. La stratégie de réoxydation du NADH en NAD varie selon les espèces microbiennes (figure 11) [61]. Le résultat de ces stratégies est la production de composés

**Tableau 2**

#### Synergisme entre une souche de *Ruminococcus flavofaciens* et une souche de *Prevotella ruminicola* dans la dégradation des hémicelluloses et de la pectine (d'après Dehority [57])

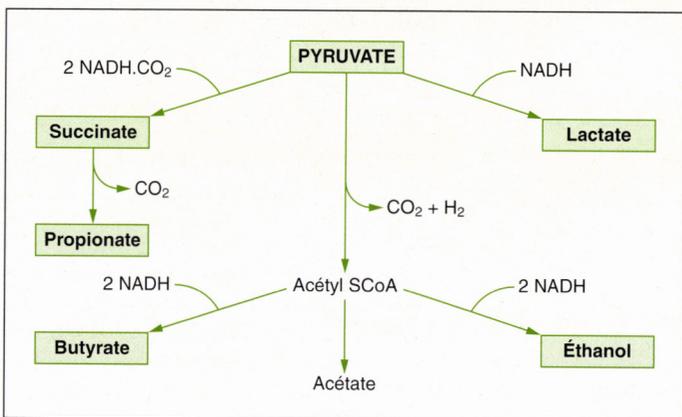
Espèces	Pourcentage de dégradation	Pourcentage d'utilisation
Hémicelluloses		
<i>Prevotella ruminicola</i>	5,0	6,1
<i>Ruminococcus flavofaciens</i>	61,0	0
Culture mixte	70,3	67,2
Pectines		
<i>Prevotella ruminicola</i>	1,0	2,6
<i>Ruminococcus flavofaciens</i>	35,5	8,1
Culture mixte	52,5	53,0

#### Synergy between a *Ruminococcus flavofaciens* strain and a *Prevotella ruminicola* strain in hemicellulose and pectin degradation



**Figure 10.** Interrelation entre les bactéries protéolytiques, uréolytiques et les bactéries désaminant les acides aminés et les bactéries cellulolytiques [4].

**Figure 10.** Interactions between proteolytic, ureolytic and cellulolytic bacteria, and bacteria that deaminate amino acids.



**Figure 11.** Stratégies d'oxydation du NADH par les micro-organismes du rumen en cultures pures (d'après Miller [61]).

**Figure 11.** NADH oxidation strategies of ruminal microorganisms in pure culture.

réduits. Certaines espèces forment du butyrate, d'autres du succinate qui est ensuite décarboxylé en propionate, d'autres produisent du lactate et enfin quelques-unes produisent de l'éthanol. Le lactate et l'éthanol qui sont trouvés dans les cultures pures de ces espèces ne sont pas détectés dans le rumen en raison du transfert interspèces d'hydrogène qui dévie le métabolisme des espèces fermentaires selon un mécanisme maintenant bien élucidé. Ainsi, la bactérie cellulolytique *R. albus* forme de l'éthanol, de l'acétate, de l' $H_2$  et du  $CO_2$  en monoculture, alors qu'elle ne produit pas d'éthanol lorsqu'elle est co-cultivée avec une espèce méthanogène (tableau 3 et figure 12) [61]. *R. albus* possède l'équipement enzymatique nécessaire (ferrodoxine oxydo-réductase et hydrogénase) pour réoxyder NADH en NAD et  $H_2$ , mais cette réaction n'est possible qu'à très faible pression partielle en  $H_2$  ( $10^{-4}$  atmosphère) et sera donc rapidement inhibée dès que l'hydrogène s'accumulera (en monoculture), la bactérie régénérant le NAD en produisant de l'éthanol à partir de l'acétyl-S-CoA. Lorsque *R. albus* est en présence de

méthanogènes,  $H_2$  ne s'accumule pas puisqu'il est utilisé dès sa formation pour former du  $CH_4$ , le NAD est complètement régénéré par la ferredoxine oxydo-réductase, et l'acétyl-S-CoA est totalement transformé en acétate. En présence de méthanogènes, ce qui est le cas dans le

rumen, *R. albus* formera donc essentiellement de l'acétate à partir de la cellulose. Le rendement énergétique de la fermentation est ainsi amélioré et la synthèse microbienne augmentée [61].

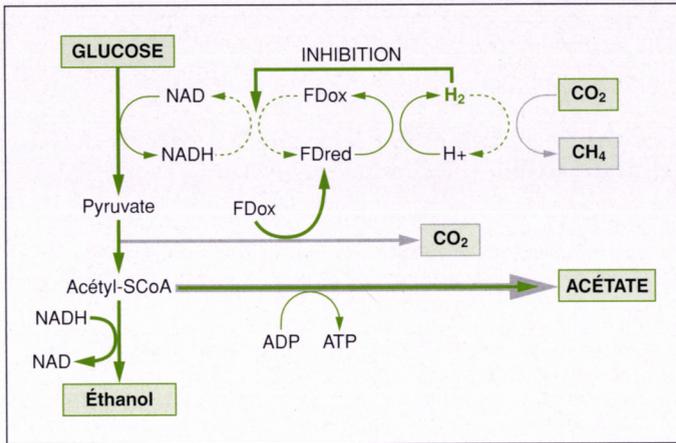
Dans le rumen, de nombreuses espèces microbiennes produisent de l'hydrogène et vont donc interagir avec les méthanogènes. C'est le cas particulièrement de *R. flavofaciens* et *R. albus*. Outre la déviation du métabolisme, l'activité des micro-organismes cellulolytiques est accrue en présence des méthanogènes. Cet effet synergique des méthanogènes sur la cellulolyse, mis en évidence *in vitro*, a également été observé *in vivo* dans le rumen d'agneaux gnotobiotiques hébergeant des flores cellulolytiques et hydrogénéotrophes contrôlées [62]. Des espèces bactériennes autres que les méthanogènes sont hydrogénéotrophes. Les espèces hydrogénéotrophes acétogènes produisent de l'acétate par réduction du  $CO_2$ . *In vitro*, leurs co-cultures avec les espèces productrices d' $H_2$  sont stables et leurs effets similaires à ceux des méthanogènes [63]. *In vivo*, toutefois, leur rôle dans l'utilisation de l'hydrogène est limité en raison du faible niveau de leurs populations et de leur affinité réduite pour  $H_2$ , par rapport aux méthanogènes. La compétition vis-à-vis des méthanogènes leur est donc défavorable. L'acétogénèse réductrice constitue toutefois une voie alternative potentielle à la méthanogénèse qui mériterait d'être optimisée si l'on souhaite réduire les émissions de méthane par les ruminants et ainsi orienter les fermentations du rumen dans un

**Tableau 3**

**Métabolites terminaux de la fermentation de la cellulose par *Ruminococcus albus* en monoculture et en co-culture avec l'espèce méthanogène *Methanobrevibacter smithii* (d'après Miller [61])**

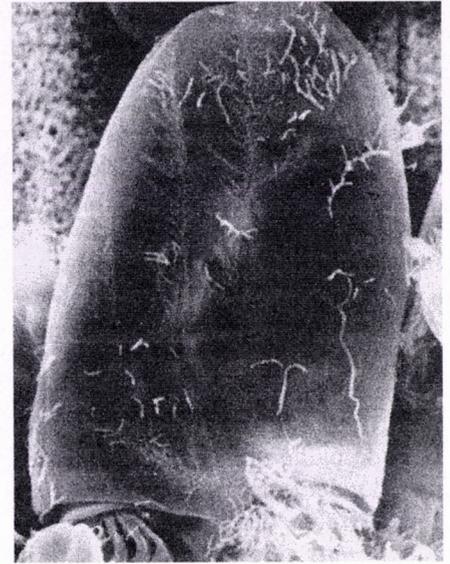
Métabolites	Quantité produite (mol/100 mol d'héxose fermenté)	
	<i>R. albus</i>	<i>R. albus</i> + <i>M. smithii</i>
Acétate	89 ± 6	151 ± 10
Éthanol	81 ± 9	22 ± 2
Formate	14 ± 4	0
$CO_2$	156 ± 3	98 ± 7
$CH_4$	0	75 ± 5
$H_2$	140 ± 13	0

**End-products of cellulose fermentation by *Ruminococcus albus* monocultures and cocultures with the methanogenic species *Methanobrevibacter smithii***



**Figure 12.** Produits de fermentation de *R. albus* en monoculture et en co-culture avec une espèce méthanogène. Produits formés dans la monoculture de *R. albus* [61].

**Figure 12.** Fermentation products of *Ruminococcus albus* monocultures and cocultures with a methanogenic species.



**Figure 13.** Photographie en microscopie électronique à balayage montrant des archées méthanogènes fixées sur un protozoaire du rumen (*Eudiplodinium maggii*) (cliché : Williams AG et Joblin KN [66]).

**Figure 13.** Scanning electron microscope photograph showing methanogenic archaea attached to a ruminal protozoan (*Eudiplodinium maggii*).

sens plus favorable à la fois pour l'animal et pour l'environnement [61, 64].

### Autres types d'interactions

Récemment [65] on a montré que la croissance de *R. flavofaciens* FD1 sur cellobiose et sur cellulose était inhibée *in vitro* par *R. albus* 8, suite à la sécrétion d'une bactériocine par *R. albus* 8. Cette bactériocine n'est pas active à l'égard de *F. succinogenes* S85.

## Interactions bactéries/protozoaires

L'interaction la plus évidente entre les protozoaires ciliés et les bactéries est la relation prédateur-proie, mais il existe également des interactions métaboliques interespèces spécifiques [66].

Les bactéries constituent pour les protozoaires la source principale de constituants azotés. Les ciliés ingèrent les bactéries, dans certains cas sélectivement, à des taux pouvant atteindre 10<sup>5</sup> cellules par protozoaire et par heure [16, 17]. Le taux d'ingestion des bactéries dépend de l'espèce et est affecté par la quantité et les caractéristiques physiques des bactéries disponibles, le statut nutritionnel des protozoaires et les conditions environnementales telles que le pH et la concentration saline [16, 17]. Les bactéries ingérées sont digérées dans les vésicules cytoplasmiques. La prédation des bactéries et le relargage des produits de leur digestion par les protozoaires conduisent à un important recyclage du carbone et de l'azote bactérien dans l'écosystème. En raison de cette activité prédatrice, la population bactérienne chez les animaux hébergeant des protozoaires est de 50 à 90 % inférieure à celle des animaux

défaunés. Les proportions des espèces bactériennes dominantes du rumen diffèrent également entre animaux faunés et défaunés [16]. L'élimination des protozoaires améliore l'efficacité de la synthèse microbienne nette (g de cellules bactériennes produites par unité de matière sèche digérée) et augmente le flux de protéines microbiennes qui sort du rumen. Certaines bactéries ingérées ne sont pas dégradées ; elles sont enfermées dans des vésicules cytoplasmiques et transitent sans être altérées dans le système digestif pour être ensuite expulsées.

La nature des interactions entre le protozoaire et les bactéries symbiotiques libres n'est pas connue ; les bactéries intracellulaires doivent cependant avoir un rôle non négligeable dans le métabolisme des composés solubles ingérés par le protozoaire et doivent participer à la digestion intracellulaire du matériel végétal ingéré [16, 17].

De nombreux ciliés du rumen possèdent des bactéries fixées sur leur surface externe (figure 13) [66]. La proportion de protozoaires colonisés et l'étendue de la colonisation sont très variables : des ectobiontes sont présents sur 60 % des *P. multivesiculatum* et *Eu. maggii*, alors que seulement 25 et 15 % des cellules de *Epidinium caudatum* et de *Entodinium* spp. sont colonisées [66]. Le nombre de bactéries fixées sur la surface des ciliés varie de 15 à 60 cellules bactériennes/200 μ<sup>2</sup> [67], sur base de l'identification par immunofluorescence de *Streptococcus bovis* et *Ruminococcus albus* dans la population adhérente. D'autres auteurs concluent cependant que la totalité de la population bactérienne adhérente aux protozoaires ciliés serait constituée essentiellement d'espèces méthanogènes [68]. Des interactions métaboliques se seraient tissées entre ces

ectobiontes méthanogènes et les ciliés, les deux partenaires bénéficiant ainsi d'un transfert interespèces d'hydrogène particulièrement efficace. La conséquence majeure de cette interaction métabolique est, comme pour les bactéries, la déviation du profil métabolique du cilié. Ainsi la production de lactate et de butyrate par *Isostricha* est inhibée en présence de méthanogènes et il n'y a pas accumulation d'hydrogène. Les méthanogènes qui sont extrêmement sensibles à l'oxygène [66] sont protégés en présence de protozoaires aérotolérants qui ont la capacité d'utiliser cet oxygène.

## Interactions protozoaires-champignons

Dans le rumen, les champignons anaérobies, tout comme les protozoaires ciliés, sont étroitement associés au matériel végétal. Ces deux groupes microbiens peuvent donc potentiellement interagir. Les résultats d'études récentes montrent que la taille des populations fongiques est affectée par les activités des protozoaires. Des protozoaires sont souvent observés sur le matériel végétal au niveau des sites de fixation des sporocystes

matures des champignons, ce qui laisse supposer qu'ils peuvent se nourrir de zoospores lorsque celles-ci sont libérées [66]. Bien qu'il n'existe pas de preuve directe de la prédation des zoospores fongiques par les protozoaires, il a été montré que le nombre de zoospores dans le rumen est augmenté chez les animaux défaunés [69]. Dans certains cas, toutefois, le nombre de zoospores est resté inchangé ou a légèrement augmenté au moment de la refaunation [70].

La colonisation fongique des fragments végétaux, estimée par le nombre de sporocystes fixés, est plus élevée chez des animaux sans protozoaires recevant différents régimes à base de paille que chez des animaux faunés [69]. De plus, la défaunation réduit *in vitro* d'environ 50 % le taux de renouvellement des protéines fongiques [66]. Les protozoaires possèdent des enzymes chitinolytiques et des études en microscopie électronique à balayage ont révélé que *P. multivesiculatum*, *Eu. maggii* et *Entodinium* sp. ingéraient des rhizoïdes fongiques et occasionnellement des sporocystes (figure 14), qui sont ensuite digérés. Il est donc manifeste que les ciliés du rumen influencent le développement et modifient les activités de la biomasse fongique dans le rumen. Plusieurs interactions champignons-protozoaires ont également été mises en évidence *in vitro* ; ainsi une population mixte de ciliés entodiniomorphes réduit fortement la cellulolyse fongique [25]. Cette inhibition de la cellulolyse par le champignon pourrait être expliquée par un effet direct des ciliés sur l'activité de certaines enzymes fongiques.

## Interactions champignons-bactéries

Les champignons anaérobies du rumen sont fortement producteurs d'hydrogène et vont donc interagir avec les bactéries hydrogénéotrophes. Des cocultures stables ont été établies *in vitro* entre archaea méthanogènes et diverses espèces fongiques ; cette association conduit à une augmentation de la vitesse d'hydrolyse de la cellulose, de la quantité de cellulose dégradée ainsi que de la biomasse fongique [42, 71-74].

Le lactate produit par toutes les espèces de champignons n'est plus retrouvé dans leurs co-cultures avec une souche de *Selenomonas ruminantium*, bactérie capable d'utiliser ce métabolite ; cependant la production de lactate par les

## Summary

### Ecological aspects of the degradation and fermentation of polysaccharides from plant cell walls within the ruminal ecosystem

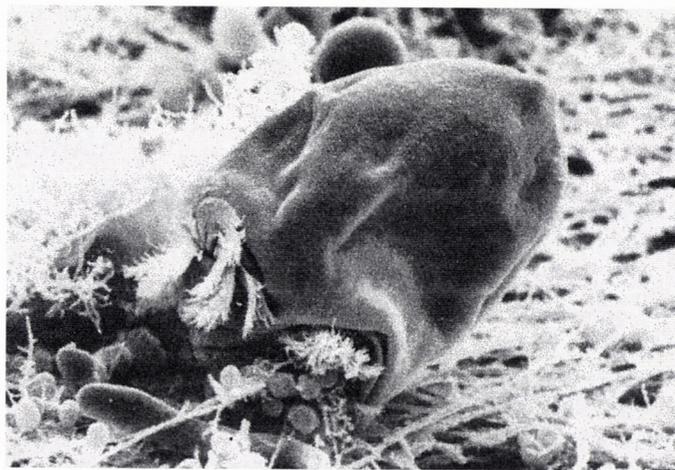
G. Fonty, É. Forano

*Ruminant and non-ruminant herbivores occupy a unique ecological niche among mammals as they can use green plants as sole food source. Energy in green plants or forage is primarily stored in the form of structural polysaccharides, cellulose, hemicelluloses and pectin. In the rumen, 40-80% of these polymers are degraded and fermented into compounds (volatile fatty acids) that can be utilized by the host, carbon dioxide, and methane, by an extremely abundant microbial population composed of several species of strictly anaerobic bacteria, ciliate protozoa and fungi organized in a trophic chain. The different microbial species have specialized and sometimes narrow-ranging metabolic functions, but their diversity allows them to overlap and substitute for each other. Cellulolytic, hemicellulolytic and pectinolytic species have extremely complex enzymatic equipment to hydrolyse almost all chemical linkages present in plant cell-wall polymers except lignin. During evolution, a multiplicity of complex interrelationships have been established between the different microbial species. These metabolic interactions ensure the stability and efficiency of the ruminal ecosystem. Interspecies transfer of hydrogen is crucial, as it controls the activity and orientation of metabolic fermentation pathways of fibrolytic hydrogen-producing microbial species.*

Cahiers Agricultures 1999 ; 8 : 21-35.

champignons est également réduite de 80 à 85 % en présence d'une souche non utilisatrice [75]. Les métabolites terminaux de la fermentation de la cellulose par les champignons en présence de *S. ruminantium* sont le formate, l'acétate, le propionate et le CO<sub>2</sub> [42]. Les champignons du rumen interagissent également avec les bactéries cellulolytiques. Les cocultures de *N. frontalis* avec *R. albus* ou *R. flavefaciens* sont moins efficaces dans la dégradation de la cellulose du papier filtre ou de la paille que la monoculture fongique.

Cette inhibition est due à une protéine relarguée dans le milieu de culture par la bactérie [76]. En revanche, en présence de *F. succinogenes*, autre espèce bactérienne cellulolytique majeure du rumen, l'activité fibrolytique des champignons n'est pas affectée [41]. *N. frontalis* peut également être associé en culture avec des espèces bactériennes utilisant uniquement les glucides simples [74, 77]. En présence de *Succinivibrio dextrinosolvens*, espèce utilisant des oligosaccharides, la quantité d'hémi-



**Figure 14.** *Eudiplodinium maggii* ingérant des rhizoïdes et des sporanges de champignons du rumen (cliché : Williams AG et Joblin KN [66]).

**Figure 14.** *Eudiplodinium maggii* ingesting rhizoids and fungal sporangia in the rumen.

cellulose dégradée par les champignons est augmentée de 35 à 75 % [76].

## Interactions entre espèces de protozoaires

Les protozoaires ont tissé entre eux de nombreuses interactions mais l'impossibilité de les cultiver *in vitro* n'a pas permis l'étude analytique de ces interactions et les mécanismes qui les sous-tendent sont encore largement inconnus. Les relations entre espèces de ciliés ont été essentiellement étudiées *in vivo* chez des animaux défaunés, puis refaunés spécifiquement avec certaines espèces [21, 22, 56, 78]. Selon les régimes et les espèces en présence, les relations peuvent être très différentes. Ainsi, par exemple, avec un régime de foin seul, il n'y a pas de compétition réelle entre *Polyplastron* et *Entodinium*. En revanche, avec un régime luzerne-orge (40/50), la compétition pour le substrat tourne au profit de *Polyplastron*, avec une prédation importante de *Polyplastron* sur *Entodinium*. La combinaison de ces deux facteurs fait que, si ces deux genres sont seuls en présence, la compétition aboutit à l'exclusion de *Entodinium*. Lorsqu'ils sont présents simultanément au sein d'une faune complexe, leurs relations sont différentes car d'autres espèces sont alors en compétition avec *Polyplastron* pour le substrat [78].

Le cannibalisme de certaines espèces et la compétition pour l'utilisation des substrats semblent être à l'origine de nombreuses incompatibilités entre ciliés. Des observations déjà anciennes avaient conduit Eadie [79] à classer les protozoaires en trois types selon leur affinité à vivre ensemble dans des conditions naturelles. Le mélange des ciliés de type A (*P. multivesiculatum*, *Diploplastron affine*, *Ophryoscolex tricolorunatus*) et de type B (*Eu. maggii*, *Epidinium* sp., *Eremoplas-tron* sp., *Ostracodinium*) est instable et conduit à l'élimination de ces derniers. Les espèces communes (*Entodinium* sp., *Istrocha* sp., *D. ruminantium*) co-existent entre elles et se rencontrent en mélange avec les ciliés de type A et B.

## Conclusion

La diversité des communautés microbiennes qui peuplent le rumen ainsi que la diversité des inter-relations que les

espèces microbiennes ont tissé entre elles tout au long de l'évolution assurent à cet écosystème une stabilité remarquable et une grande efficacité dans la dégradation des composés lignocellulosiques. La dégradation des polyholosides structuraux n'est cependant pas toujours optimale. Son efficacité dépend de très nombreux facteurs abiotiques (pH, origine et caractéristiques anatomiques et structurales du matériel végétal ingéré, interactions entre les constituants de la ration, etc.) et biotiques (caractéristiques physiologiques de souches microbiennes, conditions de synthèse des enzymes, interactions entre les différentes espèces, etc.). La grande stabilité de l'écosystème fait que les voies permettant d'optimiser la digestion ruminale des parois végétales sont probablement très étroites ; néanmoins, cette possibilité existe, comme le montre l'ajout à la ration alimentaire de certaines substances (composés chimiques ayant un pouvoir tampon élevé, probiotique stimulant la croissance des micro-organismes, etc.) Un probiotique constitué d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae* stimule *in vitro* l'activité cellulolytique de *N. frontalis*, champignon du rumen, ainsi que la capacité des souches hydrogénéotrophes acétogènes à utiliser H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> pour produire de l'acétate ; elle évite *in vivo* une diminution trop importante du pH et les risques d'acidose avec des rations riches en céréales en stimulant les espèces capables d'utiliser l'acide lactique [80-83]. Ce probiotique peut donc ainsi favoriser la cellulolyse. L'optimisation de la cellulolyse et, d'une manière plus générale, l'orientation des fermentations dans le rumen ne pourront être obtenues qu'au prix d'une parfaite connaissance de l'écologie et de la physiologie des micro-organismes du rumen ainsi que des mécanismes qui régissent leurs inter-relations. Ces connaissances progressent rapidement, en particulier grâce à l'analyse moléculaire des systèmes enzymatiques, à l'utilisation d'outils moléculaires à haute résolution pour détecter et différencier les populations microbiennes et au développement de techniques permettant la quantification des échanges interspèces [84-85] ■

## Références

1. Stewart CS, Flint HJ, Bryant MP. The rumen bacteria. In : Hobson PN, Stewart CS, eds. *The rumen microbial ecosystem*. London : Blackie Academic and Professional, 1997 : 10-72.

2. Chesson A, Forsberg CW. Polysaccharides degradation by rumen microorganisms. In : Hobson PN, Stewart CS, eds. *The rumen microbial ecosystem*. London : Blackie Academic and Professional 1997 : 329-81.

3. Fonty G, Gouet P. Plant cell wall degradation by anaerobic fungi. In : Prins RA, Stewart CS, eds. *Microorganisms in ruminant digestion*. Nottingham : University Press, 1994 : 97-112.

4. Fonty G, Jouany JP, Forano E, Gouet P. L'écosystème microbien du réticulo-rumen. In : Jarrige R. et al. *Nutrition des ruminants domestiques-Ingestion et digestion*. Paris : INRA Éditions, 1995 : 299-347.

5. Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. Covallis : OR : O et B Books, 1982, 6-373.

6. Jarrige R, Grenet E, Demarquilly C, Besle JM. Les constituants de l'appareil végétal des plantes fourragères. In : *Nutrition des ruminants domestiques-Ingestion et digestion*. Paris : INRA Éditions, 1995 : 25-81.

7. Selinger, Forsberg CW, Cheng KJ. The rumen : a unique source of enzymes for enhancing livestock production. *Anaerobie* 1997 ; 2 : 263-84.

8. Tomme P, Warren RAJ, Gilkes NR. Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi. *Adv Microb Physiol* 1995 ; 37 : 1-81.

9. Albersheim P. The walls of growing plant cell. *Sci Am* 1975 ; 232 : 81-95.

10. Hungate RE. A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. In : Norris JB, Ribbens DW, eds. *Methods in microbiology*. New York, London : Academic Press 1969 ; 313 : 117-32.

11. Fonty G, Forano E, Gaudet E, Komisarczuk S, Gouet P. Données nouvelles sur les bactéries cellulolytiques du rumen. *Reprod Nutr Develop* 1988 ; 28 : 19-32.

12. Fonty G, Gouet P, Jouany JP, Senaud J. Establishment of the microflora and anaerobic fungi in the rumen of lambs. *J Gen Microbiol* 1987 ; 133 : 1835-43.

13. Dehority BA. Microbial ecology of cell wall fermentation. In : Jung HG, et al., eds. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison : ASA-CSSA-SSSA, 1993 : 425-53.

14. Forsberg CW, Gong J, Malburg LM Jr, Zhu H, Iyo A, Cheng KJ, Krell PJ, Phillips JP. Cellulases and hemicellulases of *Fibrobacter succinogenes* and their role in fibre digestion. In : Shimada K, et al., eds. *Genetics, biochemistry and ecology of lignocellulose degradation*. Tokyo : Uni Publishers Co, LTD, 1994 : 125-36.

15. Bonhomme A, Fonty G, Senaud J. Essai d'obtention et de survie de ciliés entodiniomorphes du rumen en cultures axéniques. *Ann Microbiol Inst Pasteur* 1982 ; 133 : 335-41.

16. Williams AG, Coleman CS. *The rumen protozoa*. New York : Springer-Verlag. 1991 ; 1-423.

17. Williams AG, Coleman GS. The rumen protozoa. In : Hobson PN, Stewart CS, eds. *The rumen microbial ecosystem*. London : Blackie Academic and Professional, 1997 : 73-139.

18. Williams AG, Coleman CS. Hemicellulose-degrading enzymes in rumen ciliate protozoa. *Curr Microbiol* 1985 ; 12 : 85-90.

19. Williams AG, Withers SE, Coleman CS. Glycoside hydrolases of rumen bacteria and protozoa. *Curr Microbiol* 1984 ; 10 : 287-94.

20. Orpin CG. The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. *Anim Feed Sci Technol* 1984 ; 10 : 121-43.
21. Jouany JP. Defaunation of the rumen. In : Jouany JP, ed. *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*. Paris : INRA Éditions, 1991 : 239-61.
22. Jouany JP, Demeyer DI, Grain J. Effect of defaunating the rumen. *Anim Feed Sci Technol* 1988 ; 21 : 229-65.
23. Jouany JP, Ushida K. Plant cell wall degradation by rumen protozoa. In : Prins RA, Stewart CS, eds. *Microorganisms in ruminant digestion*. Nottingham : Nottingham University Press, 1994 : 69-78.
24. Fonty G, Grenet E. Effects of diets on the fungal population of the digestive tract of ruminants. In : Mountfort DO, Orpin CG, eds. *Anaerobic fungi-biology, ecology and functions*. New York : Marcel Dekker Inc., 1994 : 229-39.
25. Fonty G, Joblin KN. Rumen anaerobic fungi : their role and interactions with other rumen microorganisms in relation to fiber digestion. In : *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. San Diego : Academic Press. Inc., 1991 : 655-79.
26. Joblin KN, Naylor GE. Fermentation of wood by rumen anaerobic fungi. *FEMS Microbiol Lett* 1989 ; 65 : 111-22.
27. Akin DE, Lyon CE, Whindham WR, Rigsby LL. Physical degradation of lignified tissues by ruminal fungi. *Appl Environ Microbiol* 1989 ; 53 : 1987-96.
28. Roger V, Bernalier A, Grenet E, Fonty G, Jamot J, Gouet P. Degradation of wheat straw and maize stem by a monocentric and a polycentric rumen fungi, alone or in association with rumen cellulolytic bacteria. *Anim Feed Sci Technol* 1993 ; 42 : 69-82.
29. Roger V, Grenet E, Jamot J, Bernalier A, Fonty G, Gouet P. Degradation of maize stem by two rumen fungal species, *Piromyces communis* and *Caecomyces communis*, in pure cultures or in association with cellulolytic bacteria. *Reprod Nutr Develop* 1992 ; 32 : 321-9.
30. Borneman WS, Ljungdahl LC, Hartley RD, Akin DE. Purification and partial characterization of two feruloyl esterases from the anaerobic fungus *Neocallimastix* strain MC-2. *Appl Environ Microbiol* 1992 ; 58 : 3762-6.
31. Giraud I, Besle JM, Fonty G. Hydrolysis and degradation of esterified phenolic acids from maize cell wall by rumen microbial species. In : *Evolution of the rumen microbial ecosystem. Joint RRI-INRA Rumen Microbiology Symposium*. Aberdeen, 1997, March 20-21.
32. Fonty G, Williams AG, Bonnemoy F, Withers SE, Gouet P. Effect of anaerobic fungi on glycoside hydrolase and polysaccharide depolymerase activities, *in sacco* straw degradation and volatile fatty acid concentrations in the rumen of gnotobiotically reared lambs. *Reprod Nutr Develop* 1995 ; 35 : 329-37.
33. Stewart CS. Plant animal and microbial interactions in ruminant fibre degradation. In : Prins RA, Stewart CS, eds. *Microorganisms in ruminant digestion*. Nottingham : Nottingham University Press, 1994 : 13-28.
34. Akin DE. Evaluation by electron microscopy and anaerobic culture of types of rumen bacteria associated with digestion of forage cell walls. *Appl Environ Microbiol* 1980 ; 39 : 242-52.
35. Latham MJ, Brooker BE, Pettipher GL, Harris PJ. Adhesion of *Bacteroides succinogenes* in pure culture and in the presence of *Ruminococcus flavefaciens* to cell walls in leaves of perennial rye grass (*Lolium perenne*). *Appl Environ Microbiol* 1978 ; 35 : 1166-73.
36. Mosoni P, Fonty G, Gouet P. Competition between ruminal cellulolytic bacteria for adhesion to cellulose. *Curr Microbiol* 1997 ; 35 : 44-7.
37. Roger V, Fonty G, Komisarczuk-Bony S, Gouet P. Effects of physicochemical factors on the adhesion to cellulose avicel of the ruminal bacteria *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes* subsp. *succinigenes*. *Appl Environ Microbiol* 1990 ; 53 : 3081-6.
38. Gong J, Egbosimba EE, Forsberg CW. Cellulose-binding proteins of *Fibrobacter succinogenes* and the possible role of a 180-kDa cellulose-binding glycoprotein in adhesion to cellulose. *Can J Microbiol* 1996 ; 42 : 453-60.
39. Mitsumori M, Minato H, Sekizaki T, Ushida I, Ito H. Cloning, nucleotide sequence and expression of the gene encoding the cellulose-binding protein 1 (CBP1) of *Fibrobacter succinogenes* S85. *FEMS Microbiol Lett* 1996 ; 139 : 43-50.
40. Cheng KJ, Stewart CS, Dinsdale D, Costerton JW. Electron microscopy of bacteria involved in the digestion of plant cell walls. *Anim Feed Sci Technol* 1983/1984 ; 10 : 93-120.
41. Bernalier A, Fonty G, Bonnemoy F, Gouet P. Degradation and fermentation of cellulose by the rumen anaerobic fungi in axenic cultures or in association with cellulolytic bacteria. *Curr Microbiol* 1992 ; 25 : 143-8.
42. Bernalier A, Fonty G, Gouet P. Cellulose degradation by two rumen anaerobic fungi in monoculture or in coculture with rumen bacteria. *Anim Feed Sci Technol* 1991 ; 32 : 131-6.
43. Newbold CJ, Griffin PW, Wallace RJ. Interactions between rumen bacteria and ciliate protozoa in the attachment to barley straws. *Let Appl Microbiol* 1989 ; 8 : 63-6.
44. White BA, Mackie RI, Doerner KC. Enzymatic hydrolysis of forage cell walls. In : Jung HG, et al., eds. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison : ASA-CSSA-SSSA, 1993 : 455-84.
45. Forano E, Broussolle V, Durand R. Degradation of plant cell wall polysaccharides by rumen bacteria and fungi. *Ann Zootech* 1996 ; 5 : 291-5.
46. Flint HJ. Molecular genetics of obligate anaerobes from the rumen. *FEMS Microbiol Lett* 1994 ; 121 : 259-68.
47. Broussolle V, Forano E, Gaudet G, Ribot Y. Gene sequence and analysis of protein domains of EGB, a novel family E endoglucanase from *Fibrobacter succinogenes*. *FEMS Microbiol Lett* 1994 ; 124 : 439-47.
48. Iyo AH, Forsberg CW. Endoglucanase G from *Fibrobacter succinogenes* S85 belongs to a class of enzymes characterized by a basic C-terminal domain. *Can J Microbiol* 1996 ; 42 : 934-43.
49. Bera C, Broussolle V, Forano E, Gaudet G. Gene sequence analysis and properties of EGC, a family E (9) endoglucanase from *Fibrobacter succinogenes* BL2. *FEMS Microbiol Lett* 1996 ; 136 : 79-84.
50. Malburg LM Jr, Iyo AH, Forsberg CW. A novel family 9 endoglucanase gene (celD), whose product cleaves substrates mainly to glucose, and its adjacent upstream homolog celE, from *Fibrobacter succinogenes*. *Appl Environ Microbiol* 1996 ; 62 : 898-906.
51. Malburg SRC, Malburg LM Jr, Liu T, Iyo AH, Forsberg CW. Catalytic properties of the cellulose-binding endoglucanase F from *Fibrobacter succinogenes* S85. *Appl Environ Microbiol* 1997 ; 63 : 2449-53.
52. Ali BRS, Zhou L, Graves FM, Freedman RB, Black GW, Gilbert HJ, Hazlewood GP. Cellulases and hemicellulases of the anaerobic fungus *Piromyces* constitute a multiprotein cellulose-binding complex and are encoded by multigene families. *FEMS Microbiol Lett* 1995 ; 125 : 15-22.
53. Millward-Sadler SJ, Hall J, Black GW, Hazlewood GP, Gilbert HJ. Evidence that the *Pyromyces* gene family encoding endo-1-4 mannanases arose through gene duplication. *FEMS Microbiol Lett* 1996 ; 141 : 183-8.
54. Fanutti C, Ponyi T, Black GW, Hazlewood GP, Gilbert HJ. The conserved non-catalytic 40-residue sequence in cellulases and hemicellulases from anaerobic fungi functions as a protein docking domain. *J Biol Chem* 1995 ; 270 : 29314-22.
55. Kirby J, Martin JC, Daniel AS, Flint HJ. Docerkin-like sequences in cellulases and xylanases from the rumen cellulolytic bacterium *Ruminococcus flavefaciens*. *FEMS Microbiol Lett* 1997 ; 149 : 213-9.
56. Gouet P, Grain J, Dubourguier HC, Albagnac G. Interactions entre espèces microbiennes dans le rumen. *Reprod Nutr Develop* 1986 ; 26 : 147-59.
57. Dehority BA. Hemicellulose degradation by rumen bacteria. *Fed Proc* 1973 ; 32 : 1819-25.
58. Fonty G, Gouet P, Jouany JP, Senaud J. Ecological factors determining establishment of cellulolytic bacteria and protozoa in the rumen of meroxenic lambs. *J Gen Microbiol* 1983 ; 129 : 213-33.
59. Fonty G, Gouet P, Ratefiarivelo H, Jouany JP. Establishment of *Bacteroides succinogenes* and measurement of the main digestive parameters in the rumen of gnotoxenic lambs. *Can J Microbiol* 1988 ; 18 : 938-46.
60. Hungate RE. The rumen and its microbes. New York/London : Academic Press, 1966.
61. Miller TL. Biogenic sources of methane. In : Rogers JE, Whitman WB, eds. *Microbial production and consumption of greenhouse gases : methane, nitrogen oxides and halomethanes*. Washington, D.C. : American Society for Microbiology, 1991 : 175-87.
62. Fonty G, Williams AG, Bonnemoy F, Morvan B, Withers SE, Gouet P. Effect of *Methanobrevibacter* sp. MF1 inoculation on glycosides hydrolase and polysaccharide depolymerase activities, *in sacco* wheat straw degradation and volatile fatty acid concentrations in the rumen of gnotobiotically-reared lambs. *Anaerobe* 1997 ; 3 : 383-9.
63. Morvan B, Rieu-Lesme F, Fonty G, Gouet P. *In vitro* interactions between rumen H<sub>2</sub>-producing cellulolytic microorganisms and H<sub>2</sub>-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria. *Anaerobe* 1996 ; 2 : 175-80.
64. Fonty G, Morvan B. Ruminal methanogenesis and its alternative. *Ann Zootech* 1996 ; 45 : 313-8.
65. Odenyo AA, Mackie RI, Stahl DA, White DA. The use of 16S rRNA probes to study competition between rumen fibrolytic bacteria : development of probes for *Ruminococcus* species and evidence for bacteriocine production. *Appl Environ Microbiol* 1994 ; 69 : 3685-96.

66. Williams AG, Joblin KN, Butler RD, Fonty G, Bernalier A. Interactions bactéries-protistes dans le rumen. *L'année Biologique* 1993 ; T32 (1) : 13-30.

67. Imai S, Ogimoto K. Scanning electron and fluorescent microscopic studies on the attachment of spherical bacteria to ciliate protozoa in the ovine rumen. *Jap J Vet Sc* 1978 ; 40 : 9-19.

68. Krumholz LR, Forsberg CW, Veira DM. Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa. *Can J Microbiol* 1983 ; 20 : 676-80.

69. Romulo B, Bird SH, Leng RA. Effects of defaunation and protein supplementation on intake, digestibility, N retention and fungal numbers in sheep fed straw-based diets. In : Nolan JV, Leng RA, Demeyer DJ, eds. *The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion*. Armidale : Penambul Books, 1989 : 285-8.

70. Williams AG, Withers SE. Effect of ciliate protozoa on the activity of polysaccharide-degrading enzymes and fibre breakdown in the rumen ecosystem. *J Appl Bacteriol* 1991 ; 70 : 144-5.

71. Bauchop T, Mountfort DO. Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and the presence of rumen methanogens. *Appl Environ Microbiol* 1981 ; 42 : 1103-10.

72. Marvin-Sikkema FD, Richardson AJ, Stewart CS, Gottschal JC, Prins RA. Influence of hydrogen consuming bacteria on cellulose degradation by anaerobic fungi. *Appl Environ Microbiol* 1990 ; 56 : 3793-7.

73. Joblin KN, Williams AG. Effect of cocultivation of ruminal chytrid fungi with *Methanobrevibacter smithii* on lucerne stem degradation and extracellular fungal enzyme activities. *Lett Appl Microbiol* 1991 ; 12 : 121-4.

74. Williams AG, Joblin KN, Fonty G. Interactions between the rumen chytrid fungi and other microorganisms. In : Mountfort DO, Orpin CG, eds. *Anaerobic fungi-biology, ecology and functions*. New York : Marcel Dekker, Inc., 1994 : 191-227.

75. Richardson AJ, Stewart CS. Hydrogen transfer between *Neocallimastix frontalis* and *Selemonas ruminantium* grown in mixed cultures. In : Belaich JP, ed. *Microbiology and biochemistry of strict anaerobes involved in interspecies hydrogen transfer*. New York : Plenum, 1990 : 6463-5.

76. Bernalier A, Fonty G, Bonnemoy F, Gouet P. Inhibition of the cellulolytic activity of *Neocallimastix frontalis* by *Ruminococcus flavefaciens*. *J Gen Microbiol* 1993 ; 139 : 873-80.

77. Williams AG, Withers SE, Joblin KN. Xylanolysis by cocultures of the rumen fungus *Neocallimastix frontalis* and ruminal bacteria. *Lett Appl Microbiol* 1991 ; 12 : 232-5.

78. Grain J, Senaud J, Groliere CA, Jouany JP. Implantation et développement des populations de protozoaires ciliés (*Polyplastron multivesiculatum*, *Entodinium* sp., *Isotricha prostoma*) dans le rumen de moutons recevant différents régimes alimentaires. III - Considérations générales sur l'écosystème rumen. *Protistologica* 1980 ; 16 : 501-6.

79. Eadie JM. Interrelationships between certain rumen ciliate protozoa. *J Gen Microbiol* 1962 ; 29 : 579-88.

80. Chaucheyras F, Fonty G, Bertin G, Gouet P. Effects of live *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis* MCH3. *Curr Microbiol* 1995 ; 31 : 201-5.

81. Chaucheyras F, Fonty G, Bertin G, Salmon JM, Gouet P. Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell® SC1), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism *in vitro*. *Can J Microbiol* 1996 ; 42 : 927-33.

82. Chaucheyras F, Millet L, Michalet-Doreau B, Fonty G, Bertin G, Gouet P. Effect of the addition of Levucell SC on the rumen microflora of sheep during adaptation to high starch diets. In : Evolution of the rumen microbial ecosystem. *Joint RRI-INRA Rumen Microbiology Symposium* Aberdeen, 1997, March 20-21.

83. Michalet-Doreau B, Morand D. Effect of yeast culture *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation during adaptation to high-concentrate feeding. *Ann Zootech* 1996 ; 45 : 337.

84. Mackie RI. The use of oligonucleotide probes to study the ecology of ruminal microbial populations. *Ann Zootech* 1995 ; 45 : 281-5.

85. Millet L, Fonty G, Gouet P. Use of 18S-rRNA-targeted oligonucleotide probes for detection and quantification of anaerobic fungi in the rumen of different animals. *Ann Zootech* 1995 ; 45 : 286.

## Résumé

Grâce à une population microbienne extrêmement dense hébergée dans leur rumen, les ruminants tirent beaucoup mieux profit de la matière végétale que les autres herbivores et occupent ainsi une niche écologique unique pour les mammifères. Dans cet organe, 40 à 80 % des polyholosides constitutifs des parois végétales (cellulose, hémicellulose, substances pectiques) sont dégradés, puis fermentés en composés assimilables (acides gras volatils), gaz carbonique et méthane par diverses espèces de bactéries, de protozoaires ciliés et de champignons anaérobies stricts organisés en chaîne trophique. Ces espèces microbiennes sont spécialisées dans des fonctions métaboliques parfois limitées que leur diversité permet de recouvrir largement en se substituant le cas échéant les unes aux autres. Les microbes cellulolytiques, hémicellulolytiques et pectinolytiques possèdent un équipement enzymatique extrêmement complexe leur permettant d'hydrolyser la quasi-totalité des liaisons présentes dans les composés pariétaux, excepté la lignine. Les différentes espèces microbiennes du rumen ont entre elles des interactions multiples et complexes qui assurent une stabilité et une efficacité remarquables à l'écosystème. Parmi celles-ci, le transfert interspécies d'hydrogène métabolique est fondamental, car il conditionne à la fois l'activité des micro-organismes producteurs d'H<sub>2</sub> (dont font partie la majorité des espèces hydrolytiques) et l'orientation de leurs voies métaboliques de fermentation.