



**HAL**  
open science

# Rôles du microbiome bactérien ruminal dans la digestion des glucides chez les bovins : étude bibliographique métagénomique

Maurine Creuzel

## ► To cite this version:

Maurine Creuzel. Rôles du microbiome bactérien ruminal dans la digestion des glucides chez les bovins : étude bibliographique métagénomique. Médecine vétérinaire et santé animale. 2024. dumas-04558003

**HAL Id: dumas-04558003**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04558003>**

Submitted on 24 Apr 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Rôles du microbiome bactérien ruminal dans la digestion des glucides chez les bovins : étude bibliographique métagénomique

---

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement devant  
l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**CREUSEL Maurine, Alice, Cécile**

Née le 23/01/1997 à REIMS (51)

**Directrice de thèse : Mme Lydie BRET**

---

**JURY**

PRESIDENTE :

**Mme Annabelle MEYNADIER**

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURES :

**Mme Lydie BRET**

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Mme Hélène DANIELS**

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



# Rôles du microbiome bactérien ruminal dans la digestion des glucides chez les bovins : étude bibliographique métagénomique

---

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de  
DOCTEUR  
VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**CREUSEL Maurine, Alice, Cécile**

Née le 23/01/1997 à REIMS (51)

**Directrice de thèse : Mme Lydie BRET**

---

**JURY**

PRESIDENTE :

**Mme Annabelle MEYNADIER**

Professeure à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESSEURES :

**Mme Lydie BRET**

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Mme Hélène DANIELS**

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation  
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

**Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire**

**Directeur : Professeur Pierre SANS**

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*

**PROFESSEURS 2<sup>ème</sup> CLASSE**

- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

#### **MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*  
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*  
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

#### **MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*  
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*  
M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*  
M. **COMBARROS Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*  
Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*  
M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*  
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*  
M. **FERCHIOU Ahmed**, *Economie de santé des bovins*  
Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*  
M. **FUSADE-BOYER Maxime**, *Microbiologie et infectiologie*  
M. **GAIDE Nicolas**, *Anatomie Pathologique*  
Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*  
Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*  
M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*  
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*  
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*  
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*  
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*  
M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales règlementées*  
Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

#### **INGENIEURS DE RECHERCHE**

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*  
M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*  
M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*  
M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*  
M. **DELPONT Mattias**, *Clinique Aviaire*  
Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*  
Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*  
Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*  
Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*  
Mme **LAYSSOL-LAMOUR Catherine**, *Imagerie Médicale*  
Mme **POUJADE Agnès**, *Anatomie pathologique Vétérinaire*  
Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*  
M. **RAMON PORTUGAL Félipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*  
M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*  
Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*  
Mme **SAADA Chloé**, *Gestion intégrée de la santé des ruminants*

# **REMERCIEMENTS**

## **A Madame la Professeure Annabelle MEYNADIER**

Professeure de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Alimentation animale

Pour avoir accepté avec autant d'intérêt de participer au jury de cette thèse et de le présider,

*Hommages respectueux.*

## **A Madame la Docteure Lydie BRET**

Maître de conférences de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Physique et chimies biologiques et médicales

Qui m'a fait l'honneur de me guider dans l'élaboration de ce travail,

*Sincères remerciements.*

## **A Madame la Docteure Hélène DANIELS**

Maître de Conférences de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Immunologie, bactériologie, pathologies infectieuses

Qui a très aimablement accepté de faire partie du jury de cette thèse,

*Sincères remerciements.*



# Sommaire

Liste des figures.....	3
Liste des tableaux .....	4
Liste des abréviations .....	5
INTRODUCTION .....	7
I. LE MICROBIOTE RUMINAL DES BOVINS : PARTICULARITES, DIVERSITE ET FONCTION .....	9
1. Mécanismes de la digestion.....	9
2. Caractéristiques physico-chimiques du rumen.....	11
3. Diversité du microbiote ruminal des bovins adultes .....	14
a. Implantation et présentation générale du microbiote ruminal.....	14
b. Diversité du microbiote ruminal .....	15
b1. Archées.....	15
b2. Champignons.....	19
b3. Protozoaires.....	21
b4. Virus .....	23
b5. Bactéries.....	26
II. FRAGMENTATION HYDROLYTIQUE DES GLUCIDES VEGETAUX .....	37
1. Dégradation de la cellulose .....	38
a. Réactions biochimiques mises en jeu.....	38
b. Population bactérienne cellulolytique .....	44
2. Hydrolyse des hémicelluloses .....	49
a. Réactions biochimiques mises en jeu.....	49
b. Population bactérienne hémicellulolytique .....	54
3. Hydrolyse des pectines.....	57
a. Réactions biochimiques mises en jeu.....	57
b. Population bactérienne pectinolytique .....	69
4. Hydrolyse de l'amidon.....	72
a. Réactions biochimiques mises en jeu.....	72
b. Population bactérienne amylolytique .....	76
III. FERMENTATIONS INTRABACTERIENNES .....	79
1. Glycolyse.....	80
a. Réactions biochimiques mises en jeu.....	80
b. Population bactérienne glycolytique .....	84
2. Voie des pentoses phosphates .....	88

a.	Réactions biochimiques mises en jeu.....	88
b.	Population bactérienne .....	91
3.	Voie d'Entner-Doudoroff.....	94
a.	Réactions biochimiques mises en jeu.....	94
b.	Population bactérienne de la voie d'Entner-Doudoroff .....	96
4.	Production des acides gras volatils.....	99
a.	Réactions mises en jeu .....	99
a1.	Devenir du pyruvate .....	99
a2.	Voie de l'acétate.....	103
a3.	Voie du butyrate.....	105
a4.	Voies du propionate .....	107
b.	Populations bactériennes .....	111
b1.	Voie de l'acétate .....	111
b2.	Voie du butyrate.....	114
b3.	Voies du propionate .....	116
c.	Orientations des fermentations et production des AGV.....	118
	CONCLUSION .....	121
	ANNEXES .....	123
	BIBLIOGRAPHIE .....	139

## Liste des figures

Figure 1 – Anatomie du tube digestif des bovins et ses divers compartiments (d'après Drogoul, Gadoud, Joseph 2004)	10
Figure 2 - Arbre phylogénétique des principaux taxons d'archées présents dans le rumen des bovins (d'après Seshadri et al. 2018)	17
Figure 3 - Les trois voies de la méthanogenèse réalisées par les archées (d'après Lambie et al. 2015)	18
Figure 4 - Arbre phylogénétique des principaux taxons de mycètes présents dans le rumen des bovins	20
Figure 5 - Répartition des embranchements eucaryotiques majeurs chez des vaches laitières (d'après Bailoni et al. 2021)	22
Figure 6 - Arbre phylogénétique des principaux taxons de protozoaires présents dans le rumen des bovins (d'après Bailoni et al. 2021)	22
Figure 7 - Répartition des différentes familles virales présentes dans le rumen des bovins	24
Figure 8 – Arbre phylogénétique des taxons viraux dominants du rumen des bovins (Yan et al. 2023)	25
Figure 9 - Arbres phylogénétiques des principaux taxons bactériens présents dans le rumen des bovins (Seshadri et al. 2018)	29
Figure 10 - Répartition de la population microbienne en pourcentage de biomasse ruminale (Morvan et al. 1996 ; Puniya, Singh, Kamra 2015)	30
Figure 11 – Organisation des fibres de cellulose (copyright Bret, L., Delcamp, C. 2020)	39
Figure 12 – Mécanismes de cellulolyse : fragmentation des chaînes de cellulose	41
Figure 13 – Détail des réactions d'hydrolyse, de phosphorylyse, de clivage oxydatif et d'oxydation impliquées dans la cellulolyse	43
Figure 14 - Osides constituant les hémicelluloses (d'après Saha Tchinda 2015)	50
Figure 15 – Mécanisme de la dégradation de l'hémicellulose	52
Figure 16 – Détail des réactions hydrolytiques de l'hémicellulolyse (d'après Yadav et al. 2018)	53
Figure 17 – Structure primaire d'un homogalacturonane (d'après Michel Combo, Aguedo, Paquot 2011)	59
Figure 18 – Structure d'un RG I (d'après Michel Combo, Aguedo, Paquot 2011)	59
Figure 19 - Représentation schématique de la structure de la pectine (d'après Leclere, Cutsem, Michiels 2013)	61
Figure 20 – Mécanisme biochimique d'hydrolyse de la pectine (d'après Mohnen 2008)	67
Figure 21 - Réactions chimiques de dépolymérisations enzymatiques de la région HG (d'après Pedrolli et al. 2009)	68
Figure 22 - Mécanisme biochimique de dégradation de l'amidon (copyright Bret, L., Delcamp, C. 2020)	73
Figure 23 - Mécanisme de la dégradation de l'amidon	75
Figure 24 – Mécanisme de la glycolyse : étapes conduisant à la formation de pyruvate	81
Figure 25 – Voie du méthylglyoxal (d'après Weber, Kayser, Rinas 2005)	83
Figure 26 - Mécanisme de la voie des pentoses phosphates	89
Figure 27 – Mécanisme de la voie d'Entner – Doudoroff	95
Figure 28 – Principales voies métaboliques ruminales de production des AGV	100
Figure 29 – Conversion du pyruvate en acétylCoA par décarboxylation oxydative du pyruvate en acétyl-CoA (d'après Hackmann et al. 2017)	102
Figure 30 – Mécanismes de formation de l'acétate	104
Figure 31 - Mécanismes de formation du butyrate	106
Figure 32 - Mécanisme de formation du propionate par la voie succinique	108
Figure 33 - Mécanisme de formation du propionate à partir du lactate par la voie acrylique	110
Figure 34 – Métabolisme glucidique ruminal (d'après Jouany 1994)	120

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 - Caractéristiques physico-chimiques du rumen, (d'après Fonty, Chaucheyras-Durand 2007)</b>	<b>12</b>
<b>Tableau 2 – Identification des bactéries cellulolytiques et leur prévalence (cf annexe 3)</b>	<b>46</b>
<b>Tableau 3- Identification des bactéries hémicellulolytiques et leur prévalence (cf annexe 4)</b>	<b>55</b>
<b>Tableau 4 - Classification des pectinases (d'après Alimardani-Theuil, Gainvors-Claissé, Duchiron 2011)</b>	<b>62</b>
<b>Tableau 5 - Identification des bactéries pectinolytiques et leur prévalence (cf annexe 5)</b>	<b>70</b>
<b>Tableau 6 - Identification des bactéries amylolytiques et leur prévalence (cf annexe 6)</b>	<b>77</b>
<b>Tableau 7a - Identification des bactéries intervenant dans la première étape de la glycolyse et leur prévalence (cf annexe 7)</b>	<b>85</b>
<b>Tableau 7b - Identification des bactéries intervenant dans la deuxième étape de la glycolyse et leur prévalence (cf annexe 7)</b>	<b>86</b>
<b>Tableau 8a - Identification des bactéries de la phase oxydative de la voie des PPP et leur prévalence (cf annexe 8)</b>	<b>92</b>
<b>Tableau 8b - Identification des bactéries de la phase non oxydative de la voie des PPP et leur prévalence (cf annexe 8)</b>	<b>93</b>
<b>Tableau 9 - Identification des bactéries de la voie d'Entner-Doudoroff et leur prévalence (cf annexe 9)</b>	<b>97</b>
<b>Tableau 10 - Identification des bactéries intervenant dans la production d'acétate et leur prévalence (cf annexe 10)</b>	<b>112</b>
<b>Tableau 11 - Identification des bactéries intervenant dans la production de butyrate et leur prévalence (cf annexe 11)</b>	<b>115</b>
<b>Tableau 12 - Identification des bactéries intervenant dans la production de propionate et leur prévalence (cf annexe 12)</b>	<b>117</b>
<b>Tableau 13 – Synthèse des profils bactériens en fonction des voies métaboliques</b>	<b>119</b>

## Liste des abréviations

AcylCoA Acétyl Coenzyme A

ADP Adénosine diphosphate

ADN Acide désoxyribonucléique

AG Arabinogalacturonane

AMP Adénosine monophosphate

AGV Acides gras volatils

ARN Acide ribonucléique

ARNr16S ARN ribosomique 16S

ARNr 18S ARN ribosomique 18S

ATP Adénosine triphosphate

CoA Coenzyme A

CoM Coenzyme M

DHAP Dihydroxyacétone phosphate

EC Enzyme Commission

E4P Erythrose-4-phosphate

F6P Fructose-6-phosphate

FAE Féruloyl estérase

FBP Fructose-1,6-biphosphate

G1P Glucose-1-phosphate

G6P Glucose-6-phosphate

GAP Glycéraldéhyde-3-phosphate

GalA Acide galacturonique

HG Homogalacturonane

H6P Arabino-3-hexulose-6-phosphate

LPMO Monoxygénases polyssacharides lytiques

NAD<sup>+</sup> Nicotinamide adénine dinucléotide oxydé

NADH Nicotinamide adénine dinucléotide réduit

NADP<sup>+</sup> Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydé

NADPH Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

PAE Pectine-acétylestérase

PEP Phosphoénolpyruvate

P Phosphate

PG Polygalacturonase

Pi Phosphate inorganique

PL Pectine lyase

PLY Pectate lyase

PME Pectine-méthylestéras

PMG Polyméthylgalacturonase

PPi Pyrophosphate

RG Rhamnogalacturonane

RGAE Rhamnogalacturonane acétylestérase

RGL Rhamnogalacturonane lyase

RGH Rhamnogalacturonane hydrolase

RHG Rhamnogalacturonane galacturonohydrolase

RRH Rhamnogalacturonane rhamnohydrolase

S7P Sédoheptulose-7-phosphate

XG Xylogalacturonane

1,3-BPG 1,3-bisphosphoglycérate

6PGL 6-phosphogluconolactone

# INTRODUCTION

Les bovins sont des mammifères herbivores polygastriques qui se nourrissent par l'ingestion et la digestion de végétaux essentiellement constitués de polyholosides non dégradables par leurs propres enzymes gastro-intestinales. La dégradation des parois cellulaires végétales est un processus enzymatique rare chez les organismes eucaryotes, avec des exemples décrits chez certaines espèces d'arthropodes comme les termites et les écrevisses (Watanabe, Tokuda 2001), qui possèdent des cellulases permettant la dégradation de la cellulose, un polyholoside majeur constitutif des parois végétales.

Le développement d'organes spécifiques permettant de convertir l'énergie contenue dans les aliments en l'absence de dioxygène par un ensemble de processus mécaniques, chimiques et biologiques, la fermentation, a conduit à l'apparition d'individus capables d'utiliser les polymères végétaux comme source d'énergie. Aussi, le tube digestif des bovins abrite un écosystème complexe et diversifié de micro-organismes symbiotiques appartenant à des milliers d'espèces différentes permettant la digestion et l'absorption des nutriments nécessaires à la production de matière organique d'intérêt que sont la viande et le lait.

La dégradation des polymères végétaux et la fermentation des produits prennent place dans le rumen, compartiment hébergeant une large communauté de bactéries, protozoaires, champignons, archées et phages. De nombreuses enzymes hydrolytiques produites par ces micro-organismes décomposent les polymères en unités qui assurent l'essentiel des apports énergétiques. L'étape clé de la production de nutriments absorbables par les enzymes digestives de l'hôte est la fermentation ruminale anaérobie, découverte par Zuntz en 1879 (Hungate 1966), conduisant à l'obtention de gaz et d'acides gras volatils (AGV) directement utilisables par l'hôte. Les gaz sont éliminés tandis que les AGV sont absorbés et convertis, notamment en glucose, qui fournit l'énergie nécessaire au métabolisme des cellules de l'hôte. Les bactéries et les mécanismes qui permettent l'hydrolyse puis la fermentation des métabolites d'intérêt seront principalement étudiés dans ce travail.

L'objectif de cette synthèse bibliographique est de donner une vue d'ensemble des bactéries ruminales et de leurs rôles dans les biotransformations glucidiques, grâce aux enzymes qu'elles synthétisent.

L'étude débute par un bref rappel de l'anatomie du tube digestif des bovins et en particulier du rumen, suivi par une présentation de la diversité, de la composition et des diverses fonctions du microbiote ruminal. L'analyse exhaustive des voies métaboliques glucidiques ruminales et des

enzymes catalysant les réactions chimiques mises en jeu conduira à l'identification des bactéries susceptibles de sécréter ces enzymes. Les voies de digestion des glucides par les enzymes fibrolytiques et fermentaires du rumen sont présentées sous forme de mécanismes biochimiques dans une deuxième partie. Enfin, une synthèse reprenant le métabolisme ruminal complet des glucides et soulignant les interactions entre les voies métaboliques d'hydrolyse et de fermentation conclut ce travail.

# **I. LE MICROBIOTE RUMINAL DES BOVINS : PARTICULARITES, DIVERSITE ET FONCTION**

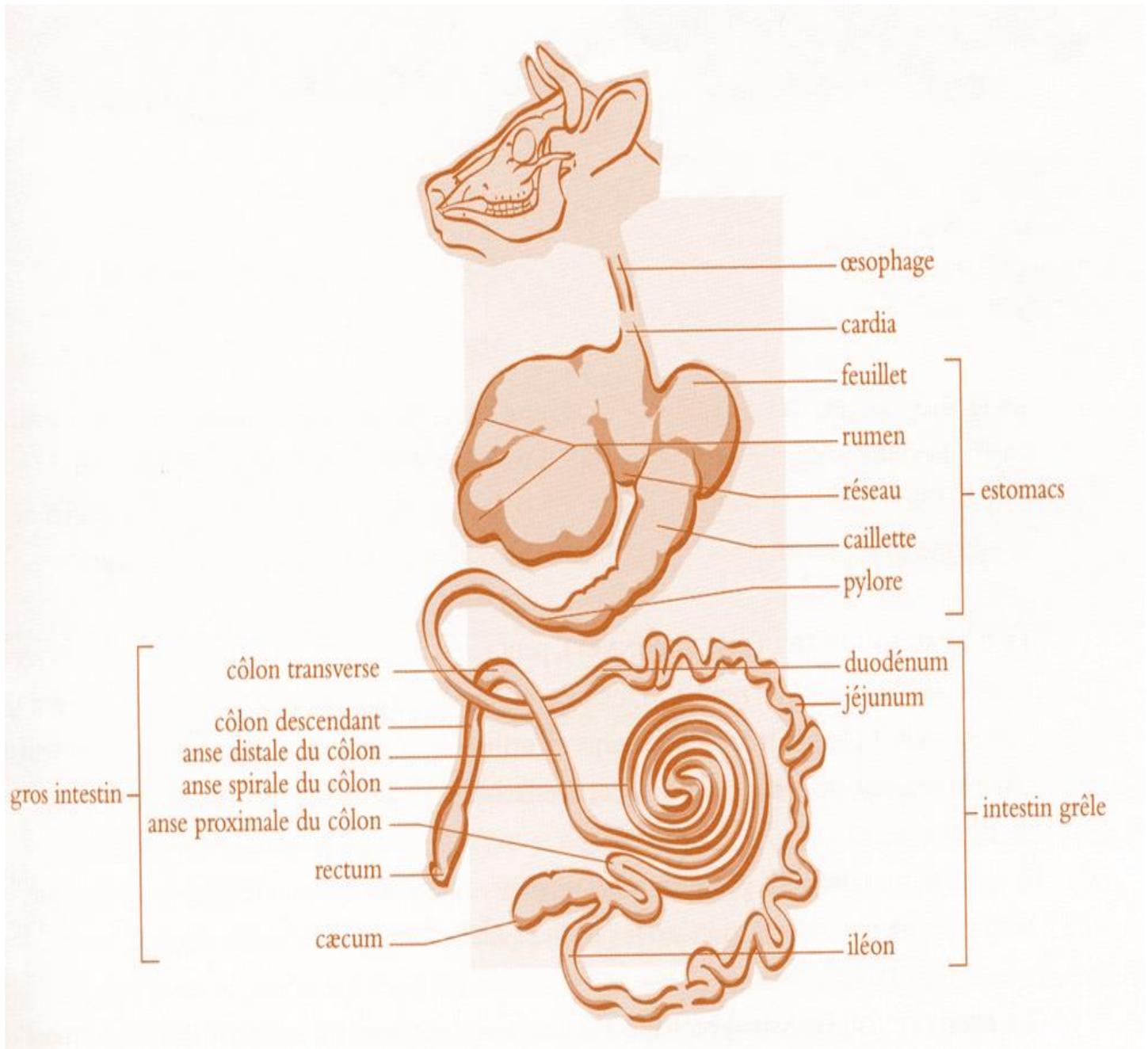
## **1. Mécanismes de la digestion**

Les bovins ont la particularité de posséder trois compartiments pré-gastriques permettant la digestion des végétaux ingérés, le rumen, le réticulum ou réseau et l'omasum ou feuillet, situés en amont d'un estomac sécrétoire, l'abomasum ou caillette, comparable à l'estomac des monogastriques (Figure 1).

Le bol alimentaire ingéré après une mastication rapide est acheminé dans l'œsophage qui s'abouche dorsalement au réseau par le cardia. La muqueuse du réseau est tapissée d'alvéoles permettant le tri des particules ingérées. Ce petit compartiment se prolonge par le rumen, sac bilobé représentant 60 à 70 % du volume total de l'appareil digestif et pouvant atteindre jusqu'à 200 litres chez le bovin adulte (Jouany 1994).

Les contractions du système réticulo-rumen poussent et mélangent le bol alimentaire. La motricité digestive est coordonnée par le système nerveux parasympathique et inhibée par le système nerveux sympathique. La réduction du bol alimentaire en particules fines est assurée au cours des ruminations par leur remastication et leur brassage réguliers (Rémond et al. 1994). Les particules indigestibles ainsi asséchées et compressées séjournent entre 25 et 60 heures dans le rumen et ne seront évacuées que lorsque leur taille atteindra quelques millimètres. Le contenu ruminal n'est pas homogène et est composé de trois phases : une phase composée de fluides en partie ventrale, constituée en majorité d'eau contenant des particules fines, imbibées en suspension et des molécules en solution ; une phase intermédiaire solide dans laquelle les particules les plus grosses s'accumulent ; et enfin une phase gazeuse en partie dorsale régulièrement vidangée par éructation (Welch 1982).

Le rumen permet la fermentation continue des polymères végétaux ingérés par une communauté complexe de micro-organismes symbiotiques. Ces micro-organismes assurent leur conversion en monomères puis en AGV tels que l'acétate, le butyrate et le propionate, dont une part est rapidement absorbée par les papilles ruminales. Cette activité fermentaire s'accompagne de la production de plus de 1000 litres de gaz par jour comprenant 65 % de CO<sub>2</sub>, 27 % de CH<sub>4</sub>, 7 % de N<sub>2</sub> et moins de 1 % de O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>S (Fonty, Chaucheyras-Durand 2007). La majeure partie de ces gaz est éliminée par éructation tandis qu'une partie est incorporée dans divers métabolismes bactériens.



**Figure 1** – Anatomie du tube digestif des bovins et ses divers compartiments (d’après Drogoul, Gadoud, Joseph 2004)

Les particules les plus petites sont ensuite évacuées vers le feuillet, dernier des pré-estomacs, où se produit une grande partie de l'absorption de l'eau et des sels minéraux qui retourneront dans le rumen via la salive. La digestion proprement dite est réalisée dans la caillette en présence des enzymes digestives de l'hôte et de sécrétions acides et de mucus (Toullec, Lallès 1995). Les produits de la digestion sont ensuite dirigés vers l'anse duodénale de l'intestin grêle qui reçoit les sécrétions biliaires et pancréatiques. La digestion y est poursuivie et l'eau et les nutriments disponibles sont absorbés par les villosités (Tisserand, Demarquilly, 1995). Le chyme avance par péristaltisme jusqu'au cæcum et au côlon, sièges de fermentations microbiennes. Cependant, chez le bovin, le rôle des micro-organismes intestinaux est considéré comme mineur puisque le rumen assure 80 à 90 % des capacités fermentaires du tube digestif (Hungate 1966). Les fèces se forment dans le côlon d'où ils sont ensuite excrétés par le rectum.

## 2. Caractéristiques physico-chimiques du rumen

Le milieu ruminal présente des conditions physico-chimiques très particulières qui constituent des contraintes écologiques majeures influençant la sélection et le maintien de la population microbienne. Cela est rendu possible par la séparation physique de la caillette, zone de sécrétion acide, des autres pré-estomacs où la digestion microbienne peut avoir lieu en permanence. Les caractéristiques physico-chimiques du rumen sont constantes (Tableau 1), et favorisent le développement et l'activité fermentaire du microbiote.

**Tableau 1** - Caractéristiques physico-chimiques du rumen, (d'après Fonty, Chaucheyras-Durand 2007 ; Huang et al. 2018)

<b>pH</b>	5,5 – 7,3
<b>Potentiel d'oxydo-réduction</b>	– 400 à – 250 mV
<b>Température</b>	38 - 41°C
<b>Humidité</b>	84 - 88 %
<b>Pression osmotique</b>	200 - 400 mOsmol/L

Le pH ruminal est compris entre 5,5 et 7,3 avec une valeur optimale autour de 6. Son maintien résulte de la production d'AGV par le microbiote, de leur vitesse d'absorption et du système tampon formé par les bicarbonates et phosphates apportés par la salive. Le pH varie au cours de la journée et surtout en fonction du régime alimentaire car il est la résultante d'un équilibre entre acides et bases faibles issus de la fermentation.

Le potentiel d'oxydo-réduction ruminal est un paramètre important car les réactions d'oxydo-réduction sont essentielles au maintien du microbiote et à leur activité métabolique (Husson 2013). Il est compris entre  $-400$  et  $-250$  mV (Huang et al. 2018) et dépend essentiellement de la ration alimentaire. Le potentiel réducteur négatif du rumen est favorable au développement de bactéries anaérobies représentant 98 % des bactéries ruminales. L'anaérobiose ruminale est maintenue par l'absorption immédiate du dioxygène par les quelques bactéries anaérobies facultatives présentes dans le rumen.

La température du rumen est comprise entre 38 et 41°C, soit environ 1°C au-dessus de la température corporelle. Elle augmente en fonction de l'intensité des fermentations ruminales et est donc maximale dans les heures suivant les repas.

La pression osmotique ruminale est voisine de celle du sang, ce qui favorise les échanges d'eau et de petites molécules hydrosolubles à travers la paroi ruminale.

De plus, le rumen est un système ouvert, dans le sens où l'entrée des ressources que sont les aliments végétaux et l'eau constituent un phénomène régulier, lié à l'ingestion de l'individu. Aussi, la nature des aliments ingérés et leur fréquence d'arrivée dans le rumen sont des paramètres susceptibles d'influencer la composition du microbiote (Jouany 1994).

En bref, l'ensemble de ces conditions est favorable au développement et à l'établissement d'une communauté complexe et diversifiée de micro-organismes formant un écosystème stable.

### 3. Diversité du microbiote ruminal des bovins adultes

#### a. Implantation et présentation générale du microbiote ruminal

Le tube digestif des bovins est stérile à la naissance. Ainsi, le veau nouveau-né possède un rumen peu développé et non fonctionnel (Tamate et al. 1962). Au cours du premier mois de vie de l'animal, les fonctions digestives s'établissent, avec une augmentation du volume ruminal, le développement des papilles ruminales et l'implantation du microbiote composé majoritairement de bactéries, archées et protozoaires, issus de l'environnement et de la mère. Ces espèces sont ensuite supplantées par des micro-organismes anaérobies qui s'installent selon une séquence bien déterminée pour constituer le microbiote de l'adulte (Fonty, Chaucheyras-Durand 2007).

Lors de l'ingestion d'aliments solides, la composition du microbiote du rumen évolue pour se rapprocher de celle de bovins adultes, sans atteindre pour autant la maturité en termes de densité et d'abondance relatives. Après le sevrage, le microbiote s'adapte à la dégradation d'aliments solides. À 4 mois d'âge, l'écosystème ruminal tend à s'approcher de celui observé chez les animaux adultes.

Depuis les travaux de Hungate (Hungate 1960), la caractérisation du microbiote ruminal s'est nettement améliorée avec le déploiement de nombreuses techniques. La culture *in vitro* associée au dénombrement microscopique a permis d'identifier les premiers micro-organismes ruminiaux. Le développement de milieux de culture spécifiques et la cytométrie de flux (technique de caractérisation et de comptage à grande vitesse de particules en suspension dans un flux liquidien) a permis ensuite de mettre en évidence une petite partie de la communauté microbienne d'un écosystème donné. L'utilisation de ces techniques implique le besoin de connaître les conditions de croissance des micro-organismes à étudier, et donc de pouvoir reproduire les conditions physico-chimiques imposées par le milieu ruminal. Le développement et l'amélioration constante des méthodes moléculaires permettent aujourd'hui de prendre en compte la diversité des micro-organismes non cultivables. Ainsi, l'essor du séquençage de nouvelle génération est à l'origine de l'identification d'un grand nombre d'individus du microbiome ruminal (Morgavi et al. 2013). Le séquençage du gène exprimant l'ARN ribosomique 16S (ARNr 16S, ARN ribosomique constituant la petite sous-unité des ribosomes des procaryotes), retrouvé de façon ubiquitaire chez les procaryotes et constitué de régions conservées favorisant son isolement (Jami, Mizrahi 2012), a permis de mieux comprendre la

taxonomie ruminale. De même, les séquences de l'ARNr 18S des eucaryotes, homologue de l'ARNr 16S des procaryotes, ont permis d'identifier certains eucaryotes présents dans l'écosystème ruminal. Ces techniques sont fondamentales puisqu'il est estimé que seulement 20 % du microbiote ruminal peut être cultivé en utilisant les méthodes standards (Krause et al. 2013). Cependant, même si de nouveaux micro-organismes sont constamment découverts et mis en culture, un grand nombre de bactéries, d'archées, de champignons et surtout de protozoaires ne sont pas encore cultivés (Creevey et al. 2014, Seshadri et al. 2018).

De plus, il est difficile d'accéder à la fonction des micro-organismes identifiés, ce qui peut conduire à des erreurs d'interprétation quant à leur rôle au sein du rumen. Seule la métagénomique permet d'identifier les gènes présents et les fonctions potentielles associées. La métagénomique est une méthode d'analyse permettant la reconstruction de génomes d'espèces inconnues à partir des séquences génétiques identifiées dans l'écosystème ruminal. Cependant, elle ne permet pas d'identifier parfaitement les micro-organismes jouant un rôle dans les voies métaboliques ruminales puisque les gènes identifiés ne sont pas systématiquement transcrits. Ainsi, cette technique ne permet pas de déterminer si les enzymes codées par ces gènes sont effectivement produites ou non (Terry et al. 2019).

## b. Diversité du microbiote ruminal

### *b1. Archées*

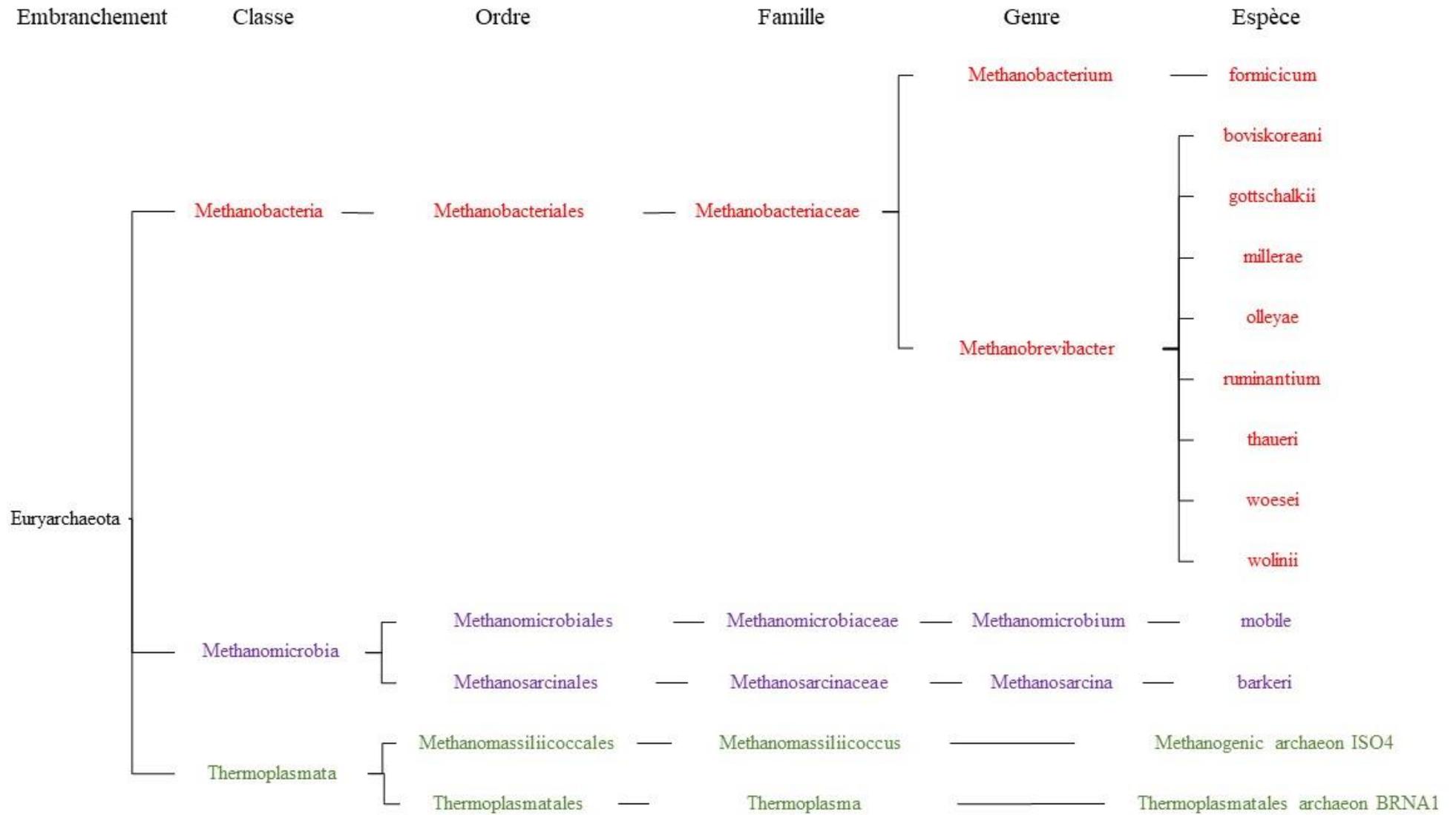
Les archées appartiennent à l'un des trois domaines du monde vivant selon la terminologie de Carl Woese définie à la fin des années 1990 : *Bacteria*, *Archaea* et *Eukaryota*. Si tous les organismes appartenant à ces domaines partagent le même code génétique et les mêmes mécanismes de base pour la réplication de l'ADN, l'expression génétique (transcription et traduction), ou encore la production d'ATP, chacun des trois grands groupes se caractérise par une variante spécifique de ces mécanismes. Les archées forment également un des 6 règnes du vivant comprenant en outre les bactéries (*Bacteria*), les protistes (*Protista*), les végétaux (*Plantae*), les mycètes (*Fungi*) et les animaux (*Animalia*). Les archées sont des procaryotes (organismes unicellulaires ne possédant ni noyau ni organites délimités par une membrane), à histones (principaux constituants protéiques des chromosomes), mesurant entre 0,1 et 15 µm. Indistinctes des bactéries sur le plan morphologique, elles ont d'abord été regroupées sous le terme archéobactérie (Woese, Fox 1977). Leur spécificité a été mise en évidence en 1977 grâce à l'analyse comparée des séquences des molécules d'ARNr 16S. Ces analyses ont montré que

les séquences des ARNr 16S des archées étaient pratiquement aussi éloignées des séquences des ARNr 16S bactériens que de celles des ARNr 18S eucaryotes. Le séquençage complet des génomes à la fin des années 1990 a définitivement établi le caractère unique des archées au sein du monde vivant. En effet, les enzymes des archées réalisant la réplication de l'ADN, la transcription et la traduction sont apparentées à celles des eucaryotes et non à celles des bactéries, de même que la présence d'histones dans leur matériel génétique les distingue des bactéries.

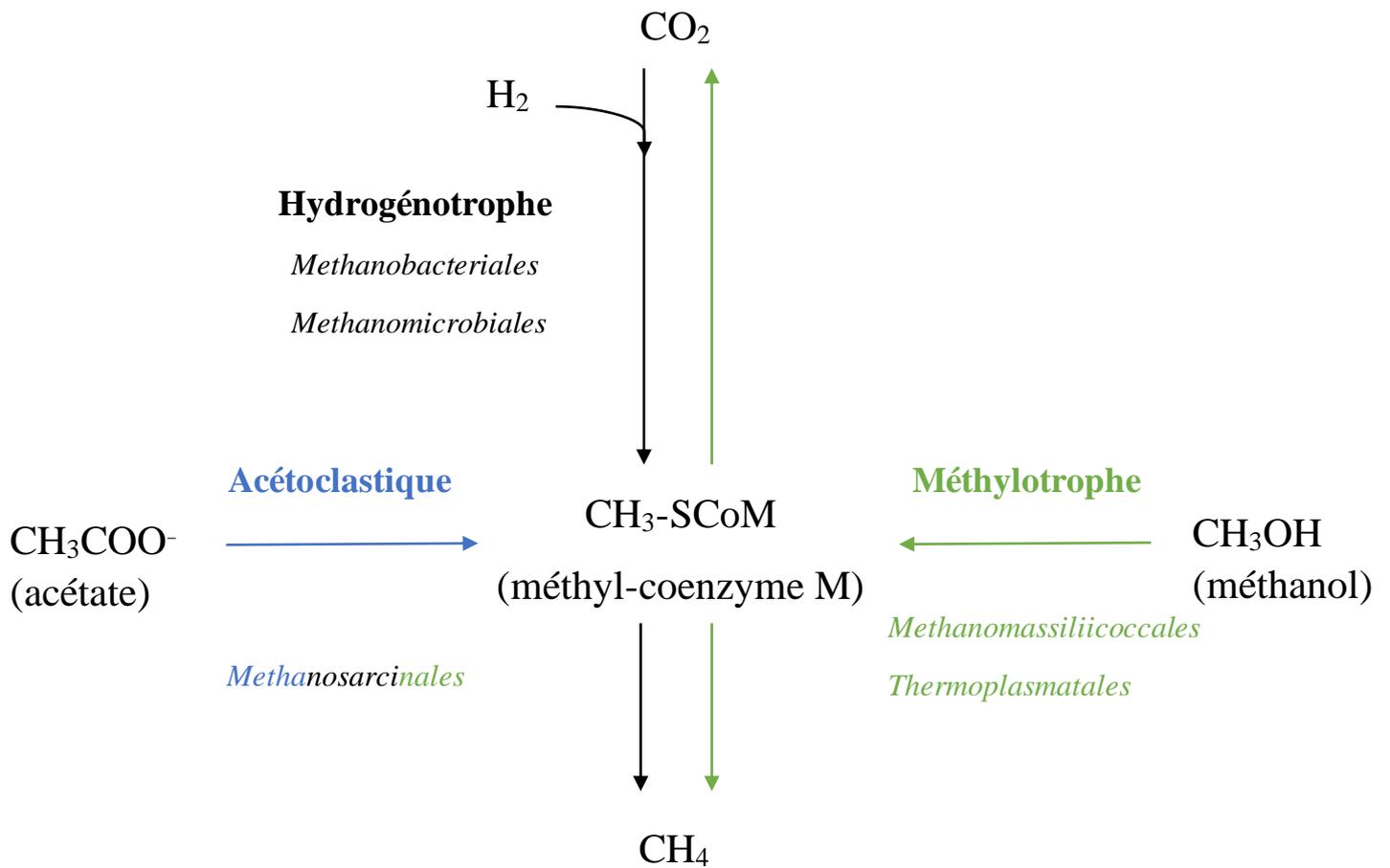
Dans le rumen, les archées ont été dénombrées à  $10^7 - 10^8$  cellules/mL de contenu et représentent moins de 4 % de la population microbienne ruminale (Morvan et al. 1996). Elles existent libres dans la phase liquide, associées aux particules végétales ou à l'épithélium, ou fixées aux protozoaires en tant qu'ectosymbiontes, lorsqu'elles vivent à leur surface, ou endosymbiontes lorsqu'elles vivent à l'intérieur de leur organisme. Les archées du microbiote ruminal des bovins se limitent à 5 ordres (*Methanobacteriales*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarcinales*, *Methanomassiliicoccales* et *Thermoplasmatales*) dont les espèces les plus fréquentes appartiennent à celui des *Methanobacteriales* (Morgavi et al. 2013). La population archéenne ruminale est estimée à près de 1000 espèces différentes (Kim, Morrison, Yu 2011). La relation de parenté entre les principales espèces ruminales est illustrée dans la figure 2.

Les archées sont strictement anaérobies et méthanogènes (Jones, Nagle, Whitman 1987). Les voies métaboliques de la méthanogenèse utilisées par les archées du rumen sont au nombre de trois : la voie hydrogénotrophe, via le dioxyde de carbone et le dihydrogène, la voie méthylotrophe, via le méthanol et ses dérivés et la voie acétoclastique, via l'acétate et ses dérivés (Popova et al. 2011) (Figure 3). Dans le rumen, il a été démontré que la voie hydrogénotrophe est la voie principale. Elle est réalisée par les archées appartenant à l'ordre des *Methanobacteriales* et des *Methanomicrobiales*, tandis que les archées méthylotrophiques appartiennent à l'ordre des *Methanomassiliicoccales* et *Thermoplasmatales*. Les archées appartenant à l'ordre des *Methanosarcinales* sont capables de réaliser les trois voies métaboliques méthanogènes citées précédemment (Seshadri et al. 2018).

Ainsi, les archées jouent un rôle majeur dans le bon fonctionnement du microbiote ruminal en assurant l'élimination du dihydrogène, connu pour son effet inhibiteur sur la croissance microbienne et donc sur la dégradation des végétaux, conduisant à une limitation des processus de fermentation.



**Figure 2** - Arbre phylogénétique des principaux taxons d'archées présents dans le rumen des bovins (d'après Seshadri et al. 2018)

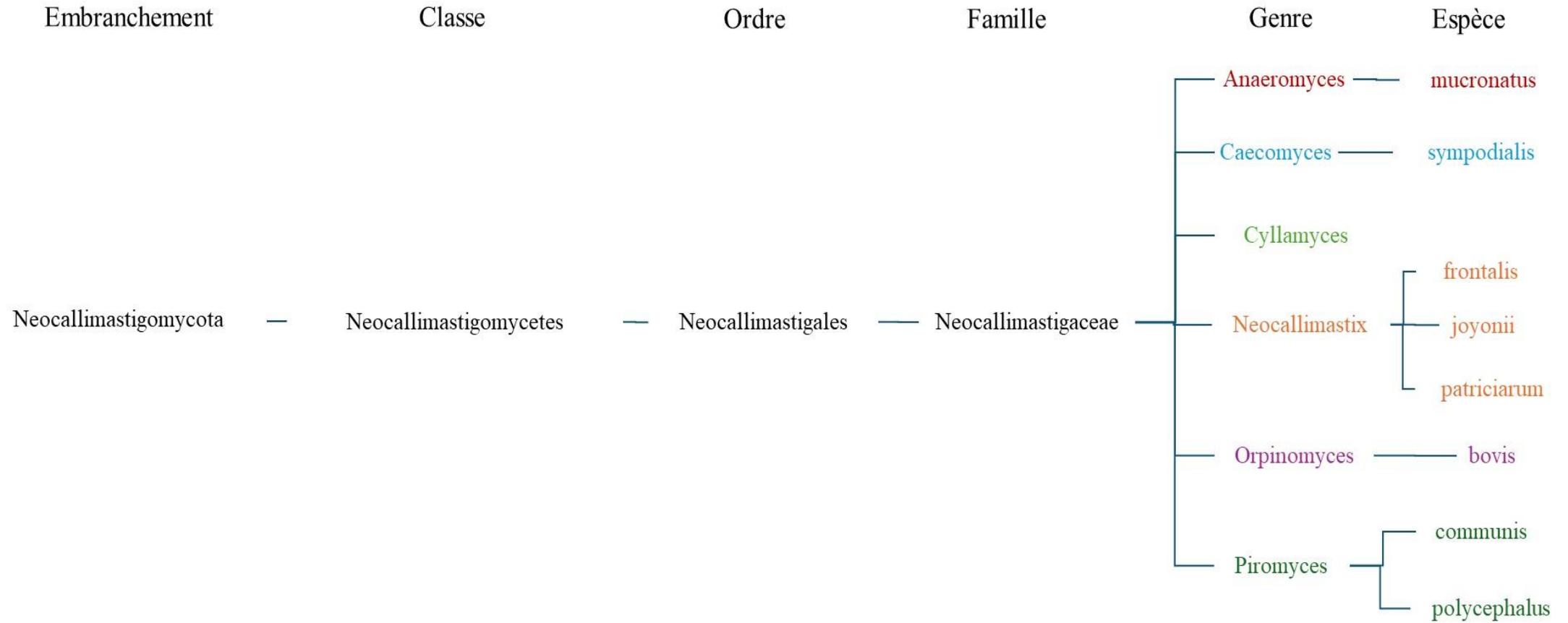


**Figure 3** - Les trois voies de la méthanogénèse réalisées par les archées (d'après Lambie et al. 2015)

## b2. Champignons

Les organismes que l'on appelle communément « champignons » ou plus justement mycètes, sont des membres du règne des *Fungi*, appartenant au domaine *Eukaryota*. Ce règne regroupe des organismes microscopiques, unicellulaires (levures) ou pluricellulaires ainsi que des macromycètes ou « champignons supérieurs », dotés le plus souvent d'un pied et d'un chapeau. Les mycètes partagent plusieurs caractéristiques communes : ce sont des êtres vivants eucaryotes (organismes dont le matériel génétique est contenu dans un noyau et possédant des organites délimités par une membrane), hétérotrophes vis-à-vis du carbone, qu'ils doivent trouver dans leur environnement immédiat pour former la matière organique qui les compose. Ils sont également absorbotrophes, se nourrissant par absorption, ce qui implique la sécrétion d'enzymes extracellulaires hydrolytiques. Leur nutrition est permise par leur appareil végétatif, appelé mycélium, diffus, ramifié et tubulaire, constitué de filaments fins enchevêtrés, les hyphes.

Les champignons représentent 8 à 10 % de la biomasse du rumen et dégradent les constituants organiques (Krause, Whitaker 2015). Leur densité est estimée à  $10^4$  cellules/mL de volume ruminal (Puniya, Singh, Kamra 2015). La majorité des mycètes ruminiaux constituent un embranchement distinct, les *Neocallimastigomycota*, comprenant une seule classe, les *Neocallimastigomycetes*, un seul ordre, les *Neocallimastigales*, et une seule famille, les *Neocallimastigaceae*. Six genres ont été décrits dans le rumen, à savoir *Anaeromyces*, *Caecomycetes*, *Cyllamyces*, *Neocallimastix*, *Orpinomyces* et *Piromyces* (Figure 4). Des recherches récentes indiquent cependant l'existence de plusieurs nouveaux taxons chez les bovins (Fliegerova et al. 2015). Tous les mycètes appartenant à l'écosystème ruminal sont anaérobies, excepté un genre unique de la classe des *Saccharomycetes*, communément appelé « levures » dont le rôle demeure inconnu (Akin, Borneman 1990). Leur caractère aérobie laisse supposer qu'ils sont négligeables, d'un point de vue fonctionnel. Les mycètes anaérobies sont les premiers micro-organismes à coloniser les parois végétales dans le rumen. Ils produisent des enzymes hydrolytiques capables de lyser de nombreux polymères structuraux : cellulose, hémicelluloses et pectines. Les mycètes exercent aussi une action mécanique grâce à la fixation de leurs rhizoïdes sur les particules qui fragilise les polymères structuraux, permettant aux bactéries d'accéder aux tissus sous-jacents et de les dégrader. Cependant, leur croissance très lente les rend peu présents dans le rumen, leur action y est donc mineure. Ils ont également une activité protéolytique faible et leur contribution à la dégradation des glucides cytoplasmiques est peu connue.



**Figure 4** - Arbre phylogénétique des principaux taxons de mycètes présents dans le rumen des bovins

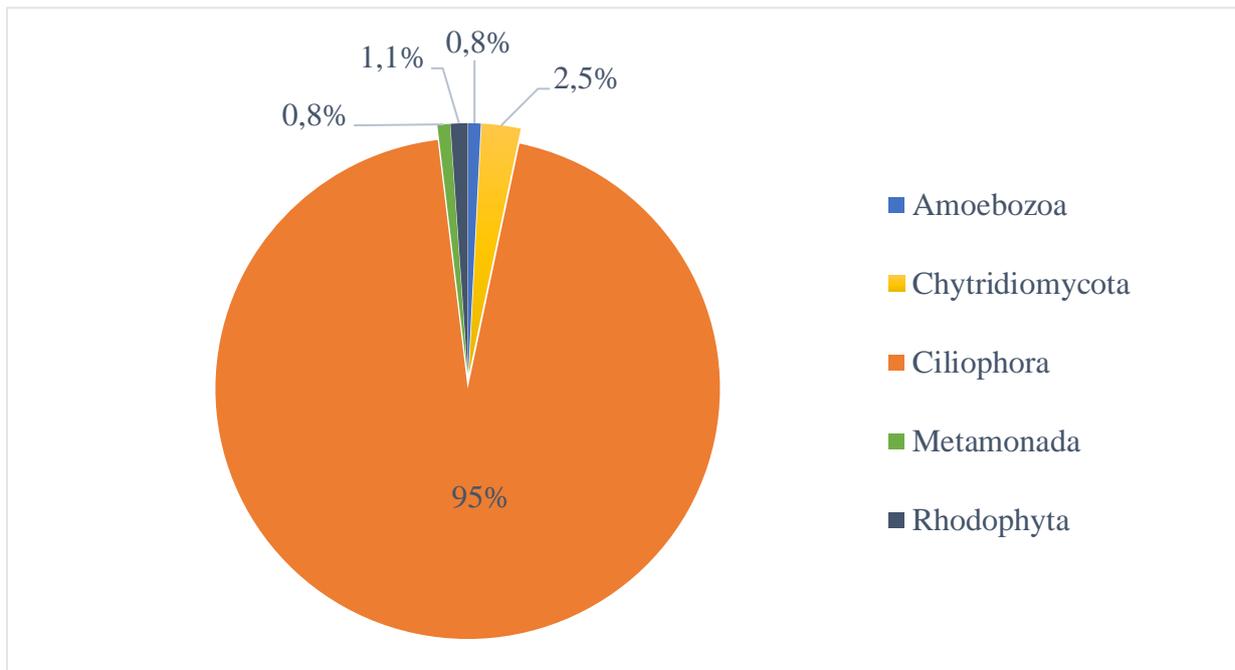
### *b3. Protozoaires*

En termes de taxonomie, les protozoaires appartiennent au domaine *Eukaryota* et au règne *Protozoa*. Les protozoaires sont des protistes (eucaryotes unicellulaires dépourvus de tissus spécialisés) hétérotrophes, mobiles qui ingèrent leur nourriture par phagocytose. Ce sont des organismes anaérobies stricts de grande taille, approchant le millimètre pour les plus gros, qui existent sous forme de cellules solitaires ou de colonies de cellules. Leur cellule est très différenciée, remplit de nombreuses fonctions nécessaires à la vie et comporte des organites complexes : vacuoles pulsatiles, cils, flagelles.

Les protozoaires représentent 40 % de la biomasse du rumen et dégradent les constituants organiques par phagocytose. Leur densité est estimée à  $10^4$  -  $10^6$  cellules/mL de volume ruminal (Puniya, Singh, Kamra 2015).

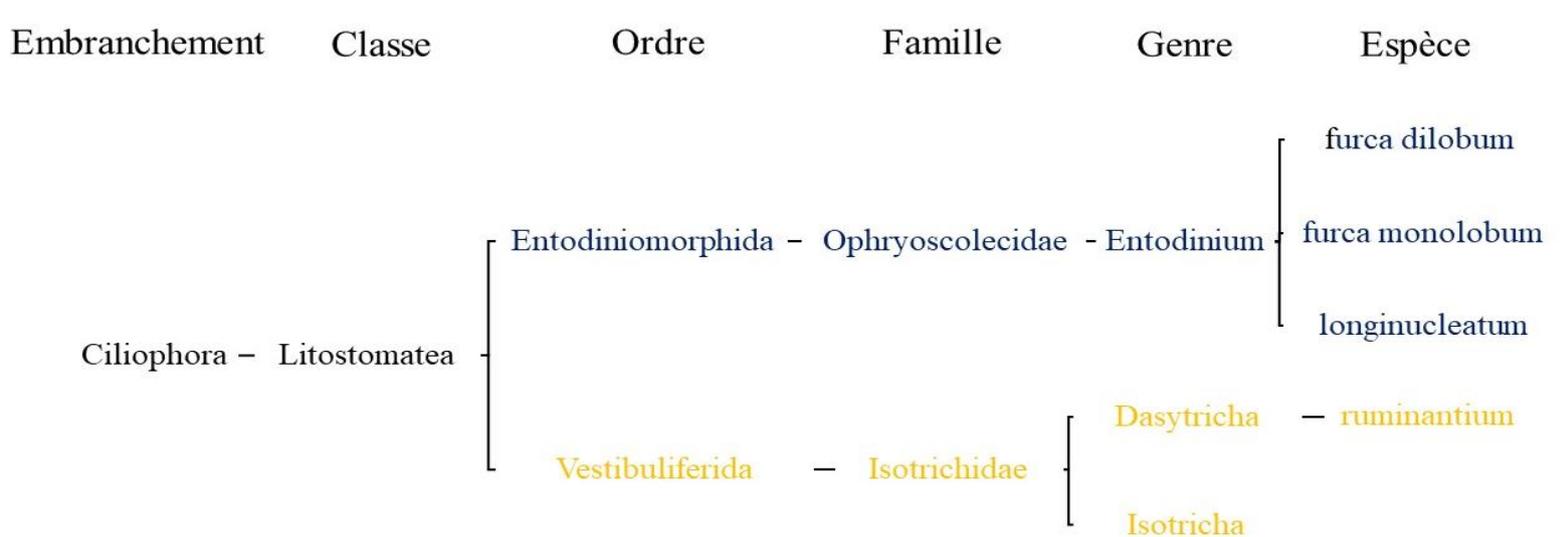
Les protozoaires ingèrent des particules alimentaires, des bactéries ou d'autres protozoaires, ce qui permet la régulation de leur population. En effet, une seule cellule protozoaire peut avaler jusqu'à plusieurs milliers de bactéries en une heure, de sorte qu'ils jouent un rôle très important dans la stabilité de la population microbienne du rumen. Ils digèrent dans leur vacuole digestive les particules végétales (glucides, protéines et lipides) et stockent certains substrats tels que l'amidon ou les acides gras saturés avant d'être eux-mêmes digérés dans la caillette. Les protozoaires peuvent également consommer l'acide lactique, limitant ainsi les risques d'acidose.

Au total, 17 embranchements du règne des protozoaires ont été observés dans le rumen, parmi lesquels les membres de l'embranchement *Ciliophora* sont majoritaires (Bailoni et al. 2021). Ils constituent la population eucaryote majoritaire du rumen, comme le montre la figure 5. Également appelés ciliés, ces protozoaires sont fixés sur les particules alimentaires ou libres dans la phase liquide, et participent à la protéolyse et à la désamination des acides aminés (Williams, Coleman 1992). Le genre *Entodinium* est majoritaire dans le rumen, la relation de parenté entre les espèces de protozoaires majeures décrites dans le milieu ruminal est présentée dans la figure 6. De nombreux travaux démontrent que la défaunation, c'est-à-dire l'élimination des protozoaires, soit par isolement des animaux quelques jours après la naissance, soit par utilisation de substances chimiques toxiques pour les protozoaires, soit par lavage du rumen et traitement de son contenu avant sa réintroduction, n'entraîne pas de conséquences pathologiques sur l'hôte (Jouany 1991). Ainsi, les protozoaires ne paraissent pas indispensables aux bovins.



**Figure 5** - Répartition des embranchements eucaryotiques majeurs chez des vaches laitières (d'après Bailoni et al. 2021)

Le séquençage de l'ARNr 18S de la communauté eucaryotique du rumen de 7 vaches Simmental italiennes a permis de mettre en évidence l'abondance de protozoaires appartenant à l'embranchement des *Ciliophora* (Bailoni et al. 2021). En effet, ils représentent 95 % de l'ensemble des eucaryotes recensés dans le rumen, tandis que les représentants des embranchements *Amoebozoa* (protozoaires), *Metamonada* (protozoaires), *Chytridiomycota* (mycètes) et *Rhodophyta* (algues rouges) ne dépassent pas 3 % de la totalité de la population eucaryotique.



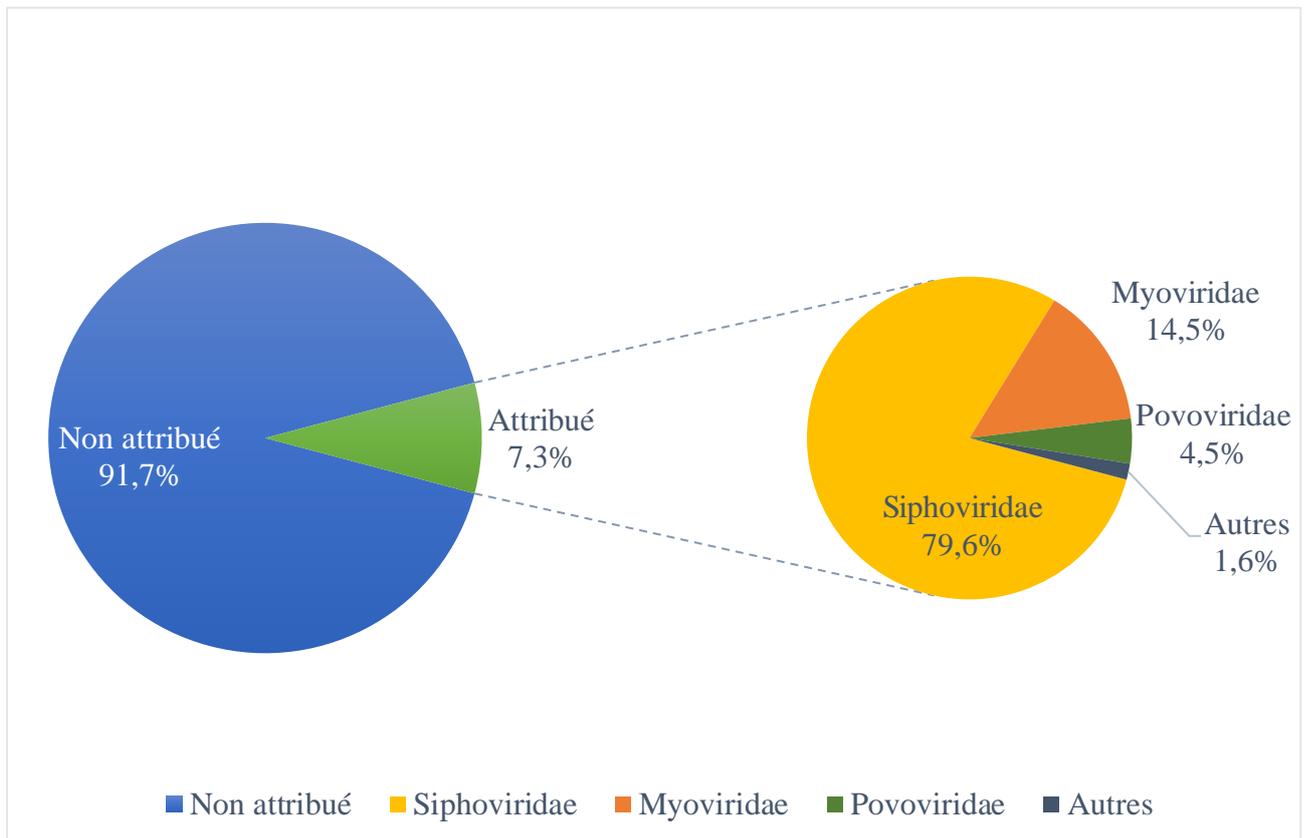
**Figure 6** - Arbre phylogénétique des principaux taxons de protozoaires présents dans le rumen des bovins (d'après Bailoni et al. 2021)

#### b4. Virus

Un virus est une entité biologique qui nécessite une cellule hôte dont il utilise les constituants pour se multiplier. Les virus existent sous une forme extracellulaire ou intracellulaire. Sous la forme intracellulaire (à l'intérieur de la cellule hôte), les virus peuvent se répliquer de façon indépendante par rapport au chromosome, mais non indépendamment de la cellule hôte dont ils détournent le métabolisme. Sous la forme extracellulaire, les virus sont des particules infectieuses, constituées au minimum d'un acide nucléique et de protéines. Un virus comporte toujours un génome composé d'un seul type d'acide nucléique, de sorte que dans la classification des virus on distingue en premier lieu les virus à ADN et les virus à ARN. Ce génome peut être monocaténaire (simple brin) ou bicaténaire (double brin). Le débat sur la nature vivante des virus reste aujourd'hui ouvert car les virus seuls ne possèdent pas les caractéristiques physiologiques propres aux êtres vivants que sont les fonctions de relation, nutrition et reproduction. Ainsi, les virus ne sont pas classés dans l'un des trois domaines du monde vivant.

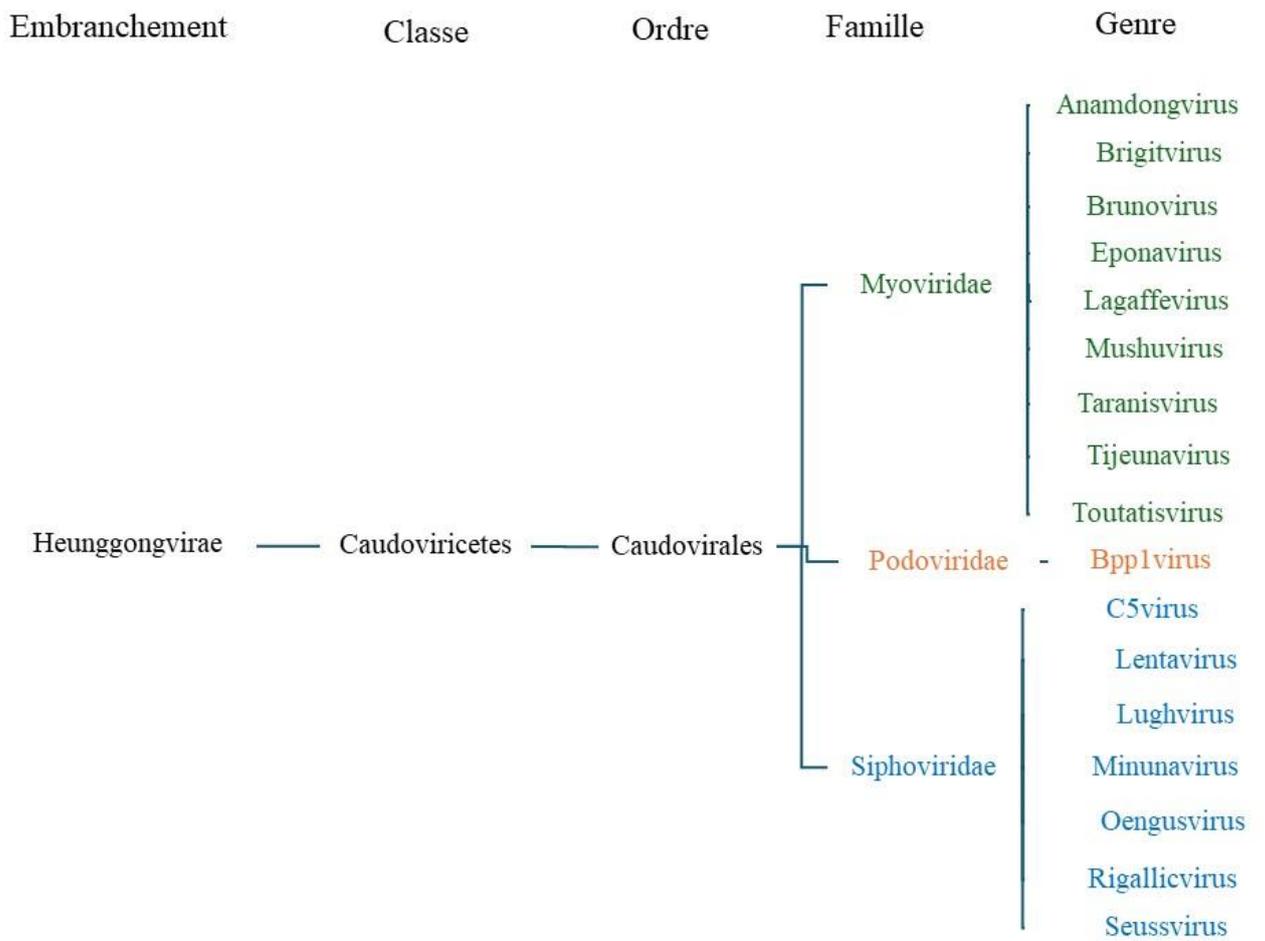
La présence de virus dans le rumen des bovins a été remarquée pour la première fois dans les années 1960 et il a été rapidement reconnu que ces virus n'étaient pas uniquement ceux ingérés par hasard dans les aliments et l'eau. Des études culturales et de séquençage génomique ont permis de démontrer que le rumen héberge des entités biologiques virales, essentiellement bactériophages, utilisant les bactéries pour se multiplier (Klieve, Swain 1993). Ils représentent jusqu'à  $10^9$  à  $10^{10}$  cellules/mL de contenu ruminal. Plus de 28 000 génotypes viraux ont été identifiés dont 78 % sont inconnus (Berg Miller et al. 2012).

Bien qu'il existe une variation interindividuelle de la composition du virome ruminal, un sous-ensemble de fragments génomiques viraux presque omniprésent a été identifié et proposé pour constituer un virome central du rumen (Anderson, Sullivan, Fernando 2017). Des études métagénomiques du rumen ont révélé que le virome est dominé par les familles *Siphoviridae*, *Myoviridae* et *Podoviridae* (Lefkowitz et al. 2018). La majorité des espèces recensées et identifiées dans le rumen des bovins appartiennent aux *Caudovirales*, l'ordre le plus peuplé parmi les virus, représentant environ 30 % de toutes les espèces virales reconnues et près de la moitié de tous les genres de virus. Ces bactériophages appartiennent à l'embranchement des *Heunggongvirae*, seuls représentants connus du domaine des *Duplodnaviria*, règne de virus comprenant tous les virus à ADN double brin. L'abondance relative des principaux virus retrouvés dans le milieu ruminal est décrite dans la figure 7 et la relation de parenté entre les principaux genres est présentée dans la figure 8.



**Figure 7** - Répartition des différentes familles virales présentes dans le rumen des bovins

Ce graphique a été réalisé à partir de l'analyse de 975 métagénomiques du rumen échantillonnés auprès de 13 espèces de ruminants issus de différents régimes d'élevage dans 8 pays sur 5 continents (Yan et al. 2023). Les séquences génomiques ont été analysées et regroupées sur la base de leur similarité avec des gènes viraux connus, permettant l'identification de séquences appartenant à des genres et des familles existantes, représentant 7,3 % des séquences étudiées. Cependant, une majorité (91,7 %) d'individus n'a pu être attribuée à aucun genre ou famille existante et représente donc de nouvelles lignées qui restent encore à étudier.



**Figure 8** – Arbre phylogénétique des taxons viraux dominants du rumen des bovins (Yan et al. 2023)

Même si les connaissances du virome ruminal et leur interaction avec les autres micro-organismes du milieu sont limitées, il a été démontré que les virus utilisent les membres du microbiote ruminal pour proliférer et sont donc capables d'infecter des bactéries, protozoaires, archées et champignons (Gilbert et al. 2020). Leur activité de lyse leur permet très probablement de jouer un rôle prépondérant dans la dynamique des populations bactériennes, participant ainsi au recyclage de nutriments tels que les protéines ou encore l'ADN, et de participer ainsi au transfert de matériel génétique (Lobo, Faciola 2021).

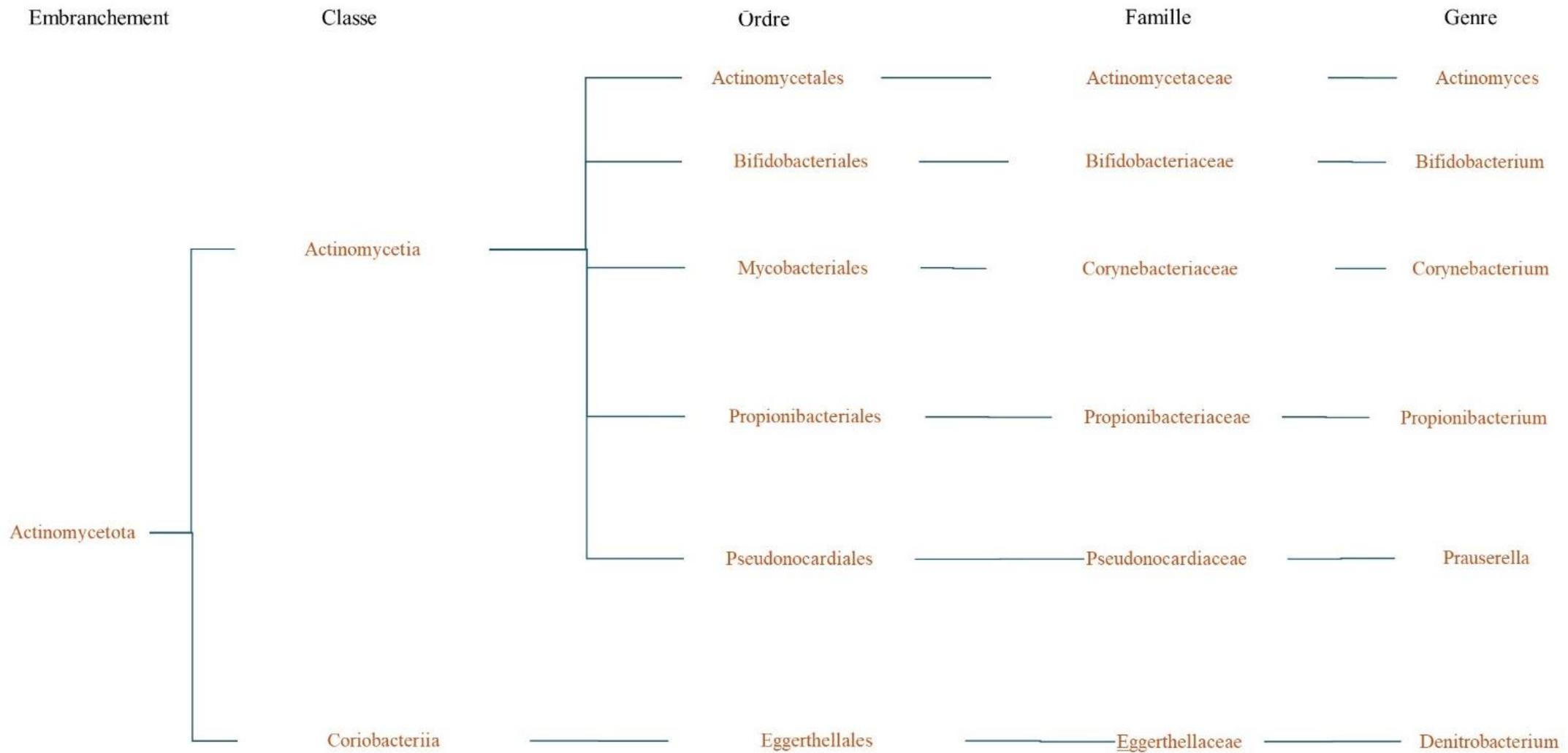
#### *b5. Bactéries*

Les bactéries sont des micro-organismes procaryotes dont le génome est constitué d'ADN consistant en seul chromosome et éventuellement des plasmides (petits morceaux d'ADN circulaires). L'ensemble des bactéries appartient au domaine *Bacteria* et au règne *Eubacteria*.

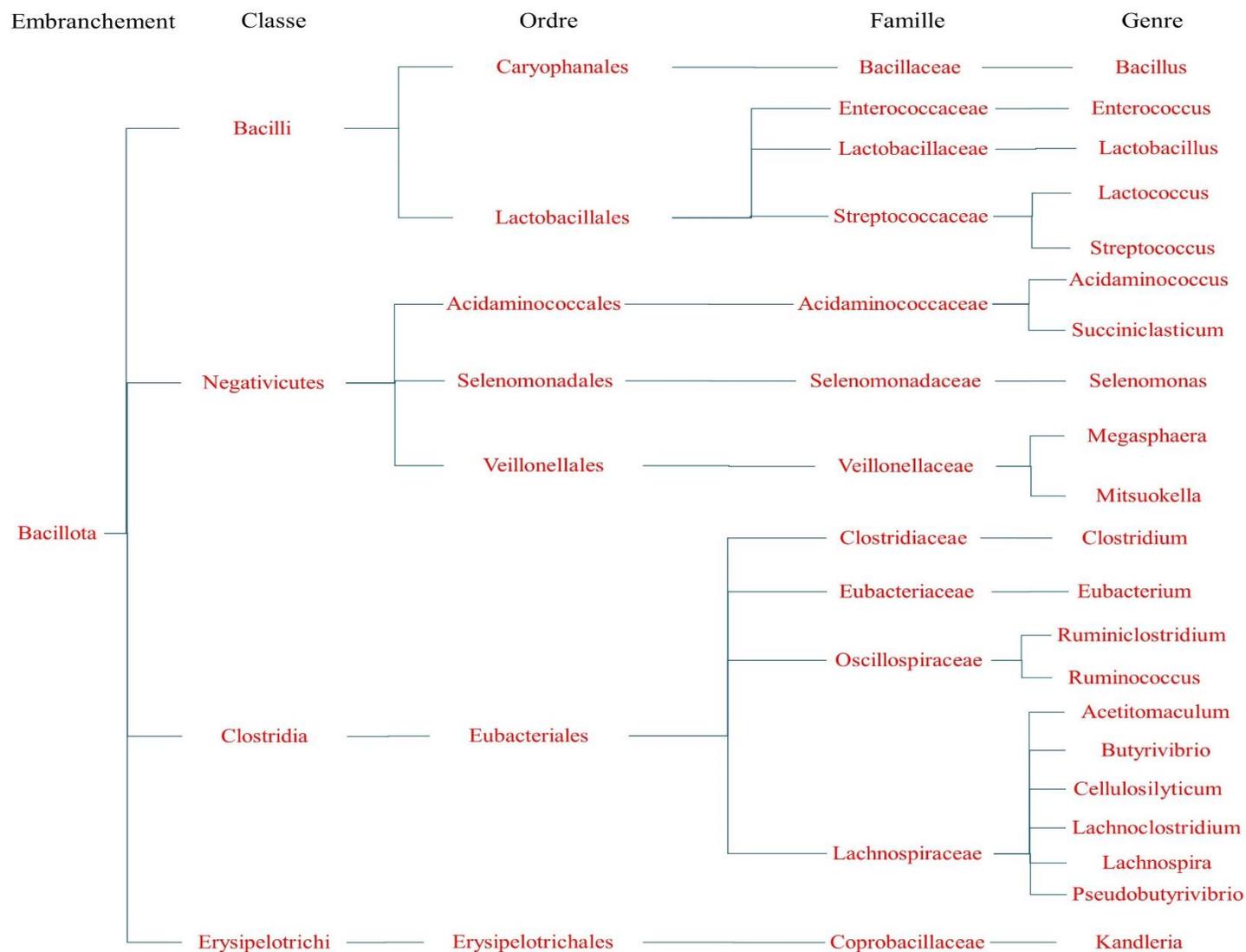
La population bactérienne est la plus abondante de l'écosystème ruminal. Les bactéries y représentent la moitié de la biomasse des micro-organismes du rumen et plus de 5 000 espèces différentes y sont représentées (Kim, Morrison, Yu 2011), dont 30 espèces au moins y jouent un rôle prépondérant. Ces espèces se répartissent en 19 embranchements dont les 3 plus abondants sont les *Bacillota* (anciennement *Firmicutes*), les *Bacteroidota* et les *Proteobacteria*, qui représentent à eux seuls jusqu'à 90 % de la communauté bactérienne (Henderson et al. 2013). Les principales espèces bactériennes recensées dans le rumen sont présentées dans la figure 9. Leur densité est estimée à  $10^{10}$ -  $10^{11}$  cellules/mL de contenu ruminal (Hungate 1966).

Les bactéries agissent en synergie avec des champignons, archées, protozoaires et phages pour dégrader les constituants végétaux sources d'énergie métabolique. La répartition de la population microbienne au sein du rumen des bovins est présentée dans la figure 10.

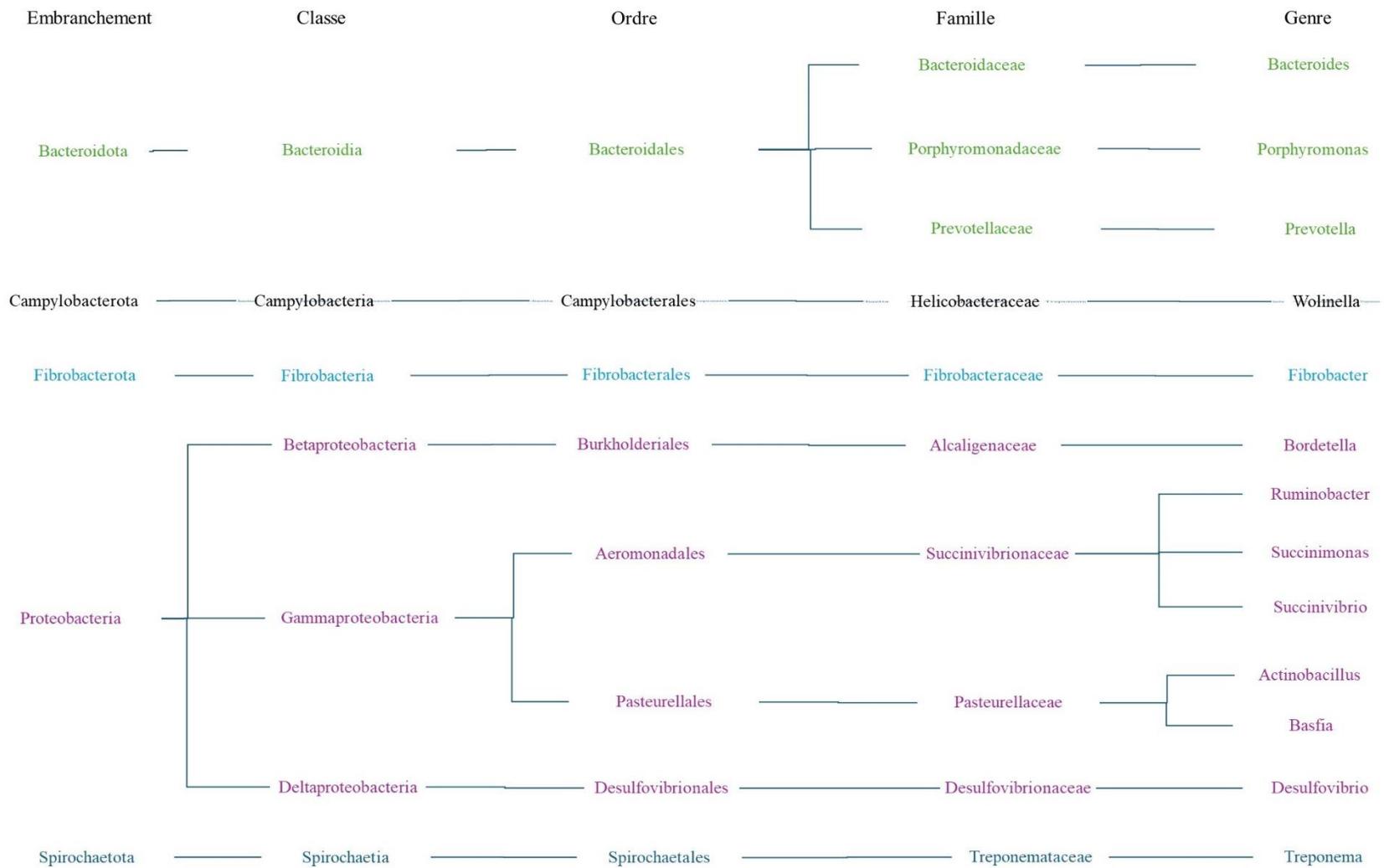
Il est estimé qu'un quart des bactéries sont libres dans la phase liquide tandis que trois quarts sont attachées aux particules alimentaires (Craig, Broderick, Ricker 1987). Seule une faible proportion, de l'ordre de 1 %, est attachée à l'épithélium ruminal ou à la surface des protozoaires et des champignons et leur rôle dans la digestion est négligeable (Miron, Ben-Ghedalia, Morrison 2001). Les bactéries sont constamment éliminées par prédation des protozoaires ruminiaux ou évacuées vers le feuillet et le reste du tube digestif. Néanmoins, ces pertes sont compensées par une croissance régulière de la population bactérienne.



A) Principaux genres bactériens de l'embranchement des *Actinomycetota* retrouvés dans le rumen

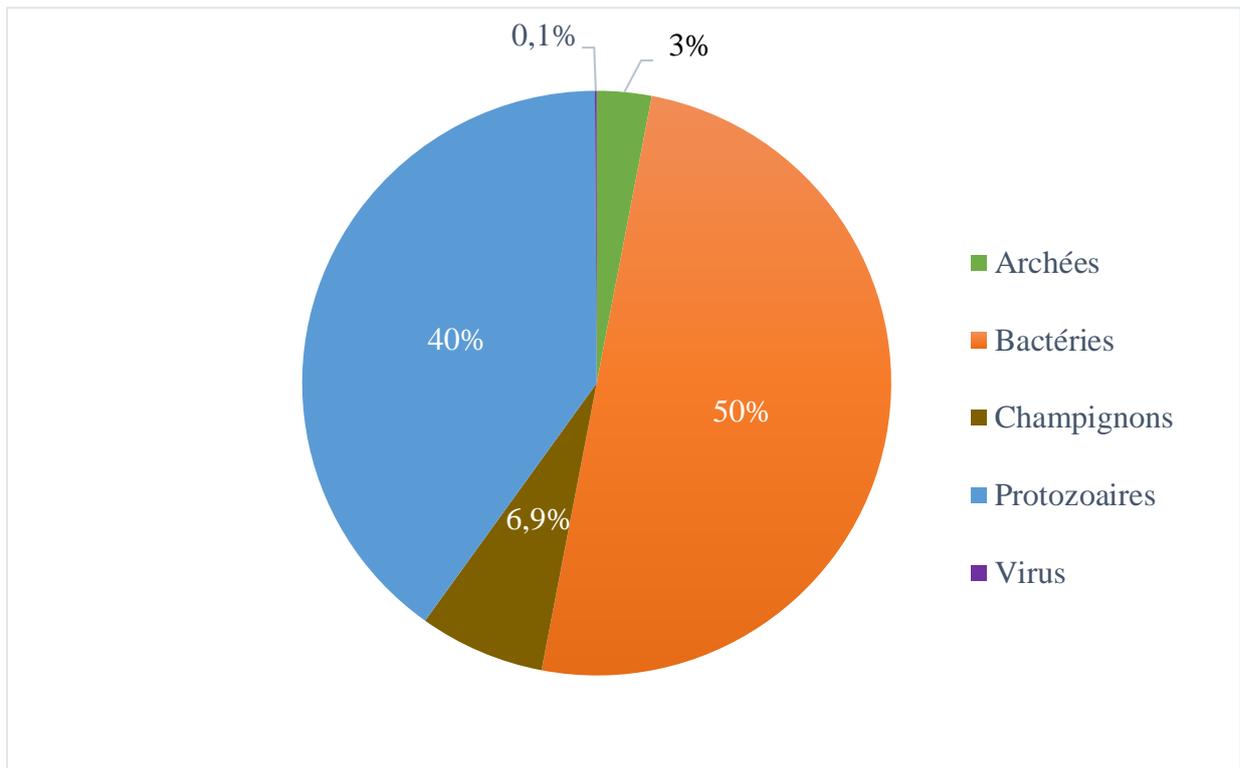


B) Principaux genres bactériens de l'embranchement des *Bacillota* retrouvés dans le rumen



C) Principaux genres bactériens des embranchements *Bacteroidota*, *Campylobacteria*, *Fibrobacterota*, *Proteobacteria* et *Spirochaetia* retrouvés dans le rumen

**Figure 9** - Arbres phylogénétiques des principaux taxons bactériens présents dans le rumen des bovins (Seshadri et al. 2018)



**Figure 10** - Répartition de la population microbienne en pourcentage de biomasse ruminale (Morvan et al. 1996 ; Puniya, Singh, Kamra 2015)

Les bactéries ruminales peuvent également être classées selon des critères morphologiques, notamment leur forme, mode de groupement, présence ou absence de flagelles, nature de la paroi, mobilité ; ou encore selon des critères physiologiques, tels que le type de substrat utilisé ou leur rôle dans les voies métaboliques. La classification selon les critères physiologiques permet de regrouper des espèces ayant une unité fonctionnelle au sein du rumen. Cette classification permet de distinguer des bactéries fibrolytiques, amylolytiques, pectinolytiques, saccharolytiques, uréolytiques, protéolytiques, lipolytiques et acétogènes en fonction de leurs capacités biochimiques prépondérantes. Les substrats utilisés par les espèces bactériennes étant multiples, elles peuvent être retrouvées dans différentes niches écologiques ou au contraire être strictement spécialisées dans une seule biotransformation (de Menezes et al. 2011). La redondance fonctionnelle et le chevauchement des niches contribuent sans doute à la stabilité de l'écosystème en cas de perturbations (Weimer 2015).

La diversité bactérienne est essentiellement influencée chez le bovin adulte par l'alimentation, même s'il existe des variations interindividuelles chez des animaux recevant une même ration, suggérant une certaine héritabilité du microbiote ruminal (Jami, Mizrahi 2012). La modulation de la structure et de la diversité du microbiote ruminal est influencée par divers facteurs, tant biotiques (associés à l'activité des êtres vivants), qu'abiotiques (relatifs aux caractéristiques physico-chimiques de l'écosystème). Parmi ces facteurs, on peut citer la parité, le stade de lactation et le niveau de stress.

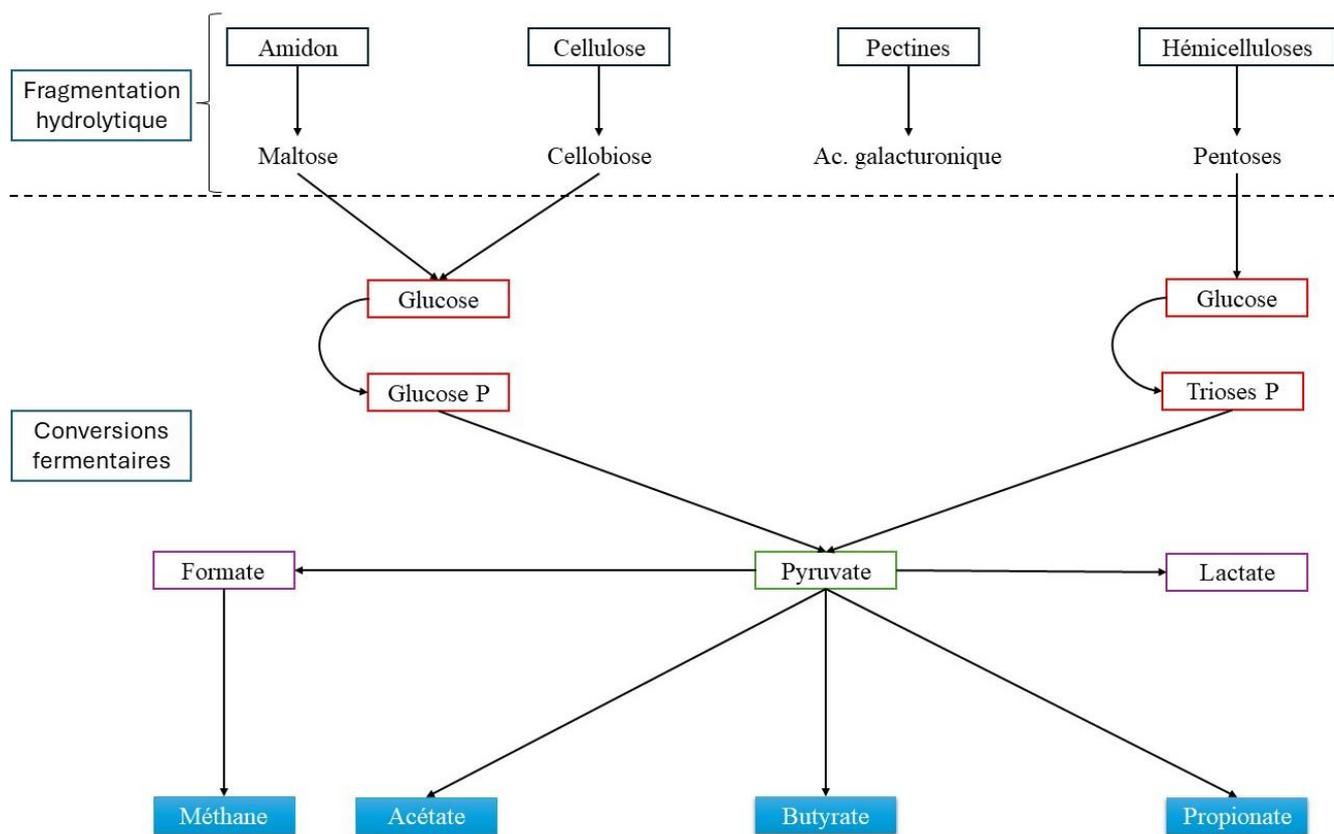
L'abondance des bactéries au sein du rumen ainsi que les nombreuses études réalisées sur leur identification et la détermination de leur rôle dans les biotransformations ruminales au travers de la métagénomique et de la transcriptomique (étude de l'ensemble des molécules d'ARN résultant de la transcription du génome), démontrent leur importance dans le processus digestif ruminal. Le projet « Hungate 1000 », banque de données de grande ampleur réunissant une vaste partie des espèces bactériennes et archéennes cultivées à partir de digestats d'un groupe diversifié d'animaux (Creevey et al. 2014), a considérablement amélioré la compréhension de la composition de la population bactérienne et son utilité biologique.

La ressource génomique Hungate représente environ 75 % des taxons bactériens et archéens présents dans le rumen (Seshadri et al. 2018). Son exhaustivité et sa précision permettant d'obtenir une couverture de micro-organismes cultivés dans le rumen aussi complète que possible.

L'identification des bactéries intervenant dans le métabolisme glucidique a été réalisée à l'aide de la littérature scientifique et du projet Hungate 1000. Pour ce faire, une banque de données de bactéries issues de cultures réalisées à partir de rumen de bovins a été construite à partir de la collection Hungate 1000. Les bactéries protéolytiques et lipolytiques ayant été écartées, ont été conservées les bactéries jouant un rôle dans le métabolisme glucidique. Lorsque plusieurs souches d'une même espèce sont décrites, une seule est retenue. En effet, lorsqu'elle existe, la souche type est sélectionnée, ce qui est le cas pour 53 % (34/64) des bactéries sélectionnées. De même, les souches bactériennes appartenant à un genre bien défini mais non strictement identifiées à une espèce ainsi que les souches non identifiées avec un pourcentage de certitude de 100 % ont été écartées. Ainsi, 64 bactéries susceptibles de participer aux biotransformations glucidiques ont été retenues. Les bactéries ruminales identifiées comme jouant potentiellement un rôle dans la dégradation des polysides végétaux et leur fermentation sont répertoriées dans l'annexe 2. Toutefois, cette étude ne prétend pas regrouper l'ensemble des bactéries ruminales intervenant dans le métabolisme glucidique.

Les glucides représentent en moyenne 75 % de la matière sèche ingérée par les bovins et leur dégradation constitue donc une étape majeure du métabolisme ruminal (Robles 2006). Celui-ci s'organise autour de 2 étapes successives : la fragmentation par hydrolyse et la fermentation (Figure 11). Bactéries, protozoaires et champignons agissent en synergie pour dégrader et fermenter les aliments ingérés, les convertissant en acides gras à chaîne courte et en dioxyde de carbone. Les archées, essentiellement méthanogènes, utilisent surtout le dioxyde de carbone et l'hydrogène produits par les autres microbes pour produire du méthane. Ainsi, les micro-organismes du rumen établissent des interactions pour assurer le fonctionnement efficace de la chaîne trophique, permettant une transformation des végétaux ingérés en produits utiles pour l'animal hôte : des AGV, des protéines et des vitamines.

Les bactéries fibrolytiques, amylolytiques, pectinolytiques et fermentaires feront l'objet d'une étude spécifique dans les parties II et III dans le cadre de l'étude des biotransformations ruminales glucidiques.



**Figure 11** – Métabolisme des glucides dans le rumen

Le microbiote ruminal possède un large panel d'activités enzymatiques permettant d'hydrolyser les constituants glucidiques fibreux tels que la cellulose, les hémicelluloses et les pectines, ainsi que l'amidon de la ration. L'hydrolyse produit dans un premier temps des oses simples qui sont ensuite fermentés pour donner les composants utilisables par le métabolisme de l'animal, principalement les AGV (acétate, propionate et butyrate).

Pour souligner le rôle des bactéries ruminales dans le métabolisme du glucose au travers des enzymes qu'elles sécrètent, les mécanismes biochimiques mis en jeu dans les diverses voies métaboliques citées précédemment seront présentés. À cet effet, une analyse bibliographique, réalisée à l'aide de la base de données enzymatiques BRENDA (BRaunschweig ENzyme DAtabase) (Chang et al. 2021), a permis d'identifier l'ensemble des réactions chimiques catalysées par les enzymes du microbiome ruminal depuis l'hydrolyse des polysides végétaux ingérés par le bovin jusqu'à la fermentation des oses simples.

L'identification des enzymes secrétées par les bactéries précédemment identifiées et catalysant les réactions d'intérêt du métabolisme glucidique a été réalisée à l'aide de la base de données UniProtKnowlegdeBase (UniProtKB). Elle recense la plupart des séquences protéiques connues et prédites, ainsi que leurs domaines et motifs structuraux, leurs fonctions associées, leurs interactions et les voies métaboliques dans lesquelles elles sont impliquées (The UniProt Consortium 2023). Cette ressource comprend 2 sections, l'une est une base de données annotée manuellement comprenant des données validées expérimentalement. L'autre section est annotée de manière automatique et contient des séquences de protéines qui n'ont pas encore été validées au niveau expérimental. Les séquences protéiques d'UniProtKB sont classées en 5 niveaux selon la preuve de leur existence, à savoir :

- 1) existence de la protéine (par exemple, identification claire par spectrométrie de masse),
- 2) existence de la séquence génomique transcrite,
- 3) existence de la protéine supposée par homologie (une protéine prédite à laquelle on a attribué l'appartenance à une famille de protéines définie dans UniProtKB),
- 4) existence de la protéine prédite,
- 5) existence de la protéine incertaine.

La séquence protéique des bactéries préalablement identifiées a été extraite à l'aide d'UniProtKB avant d'être analysée afin de distinguer les séquences protéiques enzymatiques jouant un rôle dans les voies métaboliques glucidiques d'intérêt. Pour ce faire, uniquement les séquences issues de la base de données vérifiées expérimentalement et dont la preuve d'existence est de niveau 1 (ce qui permet d'assurer une preuve fiable de l'existence de la protéine) ont été retenues. Les enzymes impliquées dans le métabolisme glucidique ruminal sont recensées dans l'annexe 1. Les enzymes propres à chaque voie métabolique et les bactéries capables de les sécréter sont recensées dans les annexes 3 à 12. Cependant, il est à noter que le comportement physiologique des bactéries au sein du rumen résulte de l'action coordonnée de nombreuses réactions, ainsi la capacité de la bactérie à agir dans une voie métabolique donnée est difficile

à prévoir de manière certaine et à relier à son activité enzymatique réelle. En effet, il peut y avoir des erreurs d'association entre les enzymes exprimées et les réactions métaboliques, en raison de l'existence de nombreux carrefours métaboliques d'une part et de nombreux échanges génétiques entre bactéries par recombinaison et transfert de plasmides d'autre part.

## II. FRAGMENTATION HYDROLYTIQUE DES GLUCIDES VEGETAUX

L'hydrolyse des glucides végétaux est réalisée par les bactéries fibrolytiques qui comprennent des bactéries cellulolytiques, hémicellulolytiques et pectinolytiques productrices d'acétate d'une part et les bactéries amylolytiques productrices de propionate d'autre part.

Dans le rumen, deux types de substrats glucidiques sont dégradés par les bactéries : les glucides pariétaux d'une part, comprenant cellulose, hémicelluloses et pectines et les glucides cytoplasmiques dits de réserve d'autre part, que sont l'amidon et les osides hydrosolubles.

La dégradation des glucides pariétaux est lente et ne débute qu'après une période de latence de quelques heures. Les substances pectiques sont dégradées plus rapidement que les celluloses et les hémicelluloses. Au contraire, la dégradation des glucides de réserve est généralement rapide, mais elle peut être décalée par un stockage temporaire dans les bactéries et protozoaires.

La communauté bactérienne fibrolytique ne représente que 1 à 5 % de la population ruminale totale (Michalet-Doreau, Fernandez, Fonty 2002), pourtant elle joue un rôle fondamental dans le fonctionnement du rumen. En effet, la fibrolyse est primordiale chez les bovins dont près de 70 % de l'énergie est apportée grâce à ce processus (Dassa et al. 2014). Les principales espèces fibrolytiques ruminales sont au nombre de quatre : *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* et *Butyrivibrio fibrisolvens* (Michalet-Doreau et al. 2001). Près de 75 % des bactéries fibrolytiques sont associées aux particules végétales (Koike, Kobayashi 2009), ce qui témoigne de la nécessité d'une étroite interaction entre les bactéries et leur substrat. En plus de favoriser la dégradation des substrats par contact direct avec les enzymes, l'adhésion permet aux bactéries de ne pas être éliminées lors des déplacements de la phase liquide et de rester dans le rumen aussi longtemps que les particules solides. Leur adhésion aux fibres végétales est réalisée en quatre étapes : 1) transport des bactéries libres au substrat par chimiotactisme, 2) adhésion initiale non spécifique, 3) adhésion spécifique au substrat, 4) prolifération et colonisation des tissus végétaux (Miron, Ben-Ghedalia, Morrison 2001). La dégradation fibrolytique est initiée par une combinaison d'enzymes comprenant des cellulases, hémicellulases et, dans une moindre mesure, des pectinases et ligninases (Chesson et al. 1986).

## 1. Dégradation de la cellulose

### a. Réactions biochimiques mises en jeu

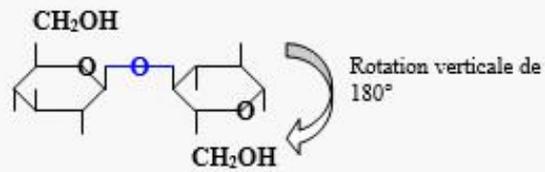
La cellulose est le composant majoritaire des parois cellulaires végétales et elle constitue 40 à 50 % de la biomasse végétale terrestre. Malgré de grandes différences dans la composition et la structure anatomique des parois cellulaires selon les taxons végétaux, la majorité d'entre eux sont constitués d'une teneur élevée en cellulose, généralement comprise entre 35 et 50 % environ du poids sec de la plante (Lynd Lee R. et al. 2002).

La cellulose est un homopolymère de polyholosides formant de longues chaînes linéaires de 1250 jusqu'à 15 000 unités de  $\beta$ -D-glucopyranose liées par des liaisons  $\beta(1\rightarrow4)$ . Le motif de base est le cellobiose, dioside formé de 2 résidus de  $\beta$ -D-glucopyranose unis par une liaison glycosidique. Ces chaînes sont associées les unes aux autres par des liaisons hydrogènes, formant des fibrilles qui s'organisent ensuite en feuillets cohésifs, l'ensemble de la structure formant des fibres (Figure 11). Celles-ci fournissent à la cellulose sa structure rigide et lui confèrent une grande résistance mécanique, formant ce qu'on appelle la cellulose cristalline (Murray, R. K. et al. 1995 ; Bret, L., Delcamp, C. 2020).

Les mammifères non herbivores ne disposent pas d'une hydrolase capable d'attaquer la liaison  $\beta$ -osidique, empêchant ainsi la dégradation et donc la digestion de la cellulose. Chez les bovins, les enzymes synthétisées par les micro-organismes permettent au contraire sa dégradation dans le rumen. Cette dernière est réalisée en majorité par des bactéries spécialisées, et elle est complétée par l'action de certains protozoaires et champignons (qui ne sera pas détaillée dans cette étude).

La cellulose cristalline, par sa structure, est insoluble et ne présente que peu de sites d'attaques enzymatiques. Ainsi, pour que les bactéries hydrolysent et métabolisent la cellulose, des cellulases extracellulaires doivent être produites, soit libres, soit associées aux cellules végétales.

**Motif de base : CELLOBIOSE**



**β D Glucopyranose (1 – 4) β D Glucopyranose**

**Organisations supérieures**

**Glucane :**

Répétitions linéaires du cellobiose

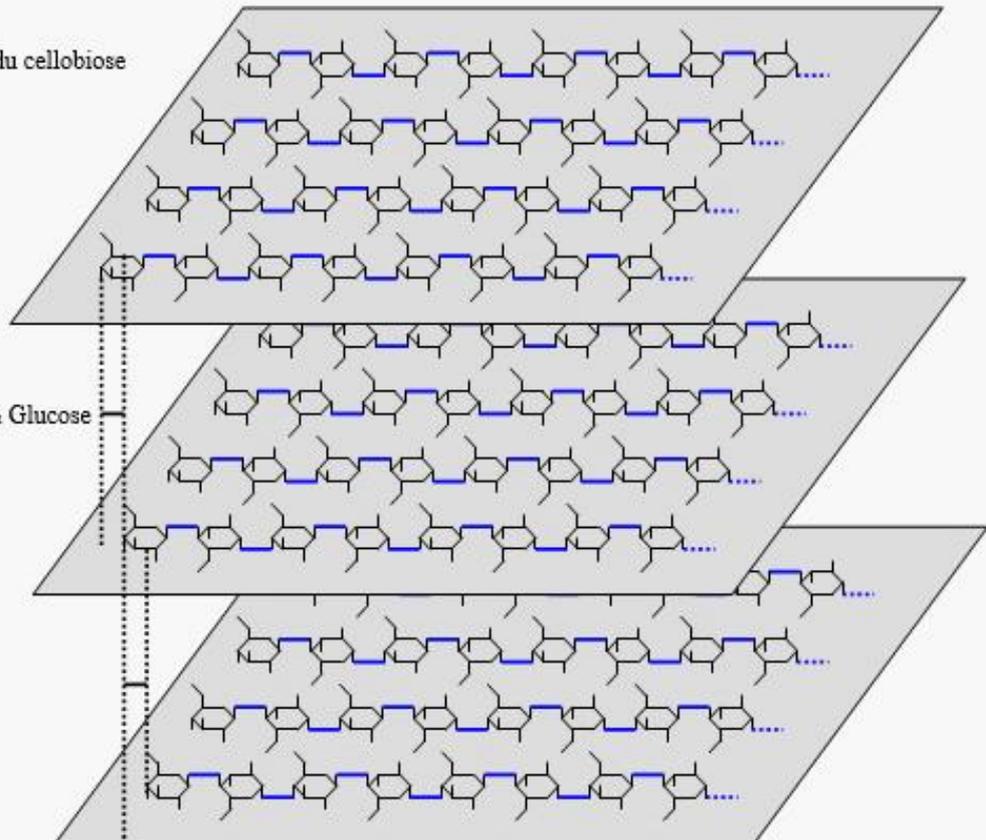
**Feuillet :**

Glucanes parallèles

Décalage : ½ Glucose

**Fibre :**

Feuillets verticaux

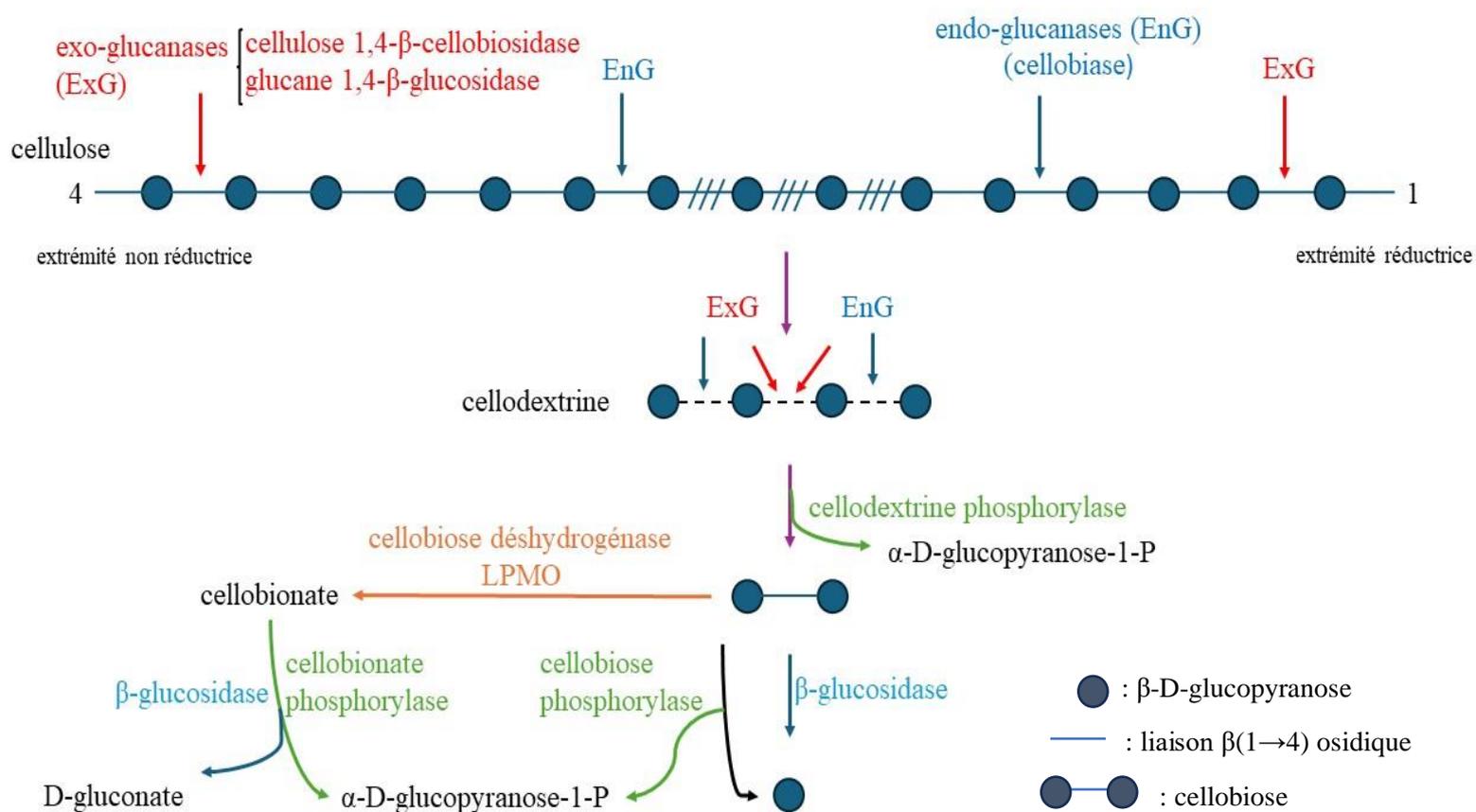


**Liaisons hydrogènes ⇒ Structure COHESIVE**

**Figure 11** – Organisation des fibres de cellulose (copyright Bret, L., Delcamp, C. 2020)

Les enzymes cellulolytiques bactériennes secrétées dans le rumen, généralement appelées cellulases, sont capables de catalyser la dégradation de la cellulose pour former des oligosides, de la cellobiose et du glucose. Elles regroupent diverses enzymes agissant en synergie. Trois enzymes jouent un rôle majeur dans le processus de la cellulolyse : 1) les endo-glucanases, également appelées cellobiases (E.C. 3.2.1.4), 2) les exo-glucanases, incluant les cellobiohydrolases (EC 3.2.1.91, EC 3.2.1.176) et les cellodextrinases (EC 3.2.1.74) et 3) les  $\beta$ -glucosidases (EC 3.2.1.21) (Lynd Lee R. et al. 2002). Les cellulases oxydatives : la cellobiose déshydrogénase (EC 1.1.99.18) et les monooxygénases polysaccharides lytiques (LPMO, EC 1.14.99.56) ainsi que les cellobiose phosphorylases : l'acide cellobionique phosphorylase (E.C.2.4.1.321), la cellodextrine phosphorylase (E.C.2.4.1.49) et la cellobiose phosphorylase (EC 2.4.1.20) interviennent dans le processus final de production d'oses simples à partir de la cellulose. L'ensemble des enzymes cellulolytiques participe de manière séquentielle et synergique à la dégradation de la cellulose afin de produire une source d'énergie exploitable sous forme de glucose. Leur action dans le processus de cellulolyse est détaillée dans la figure 12.

La dégradation de la cellulose débute par l'action des endo-glucanases, qui hydrolysent aléatoirement la structure cristalline de la cellulose en chaînes polyosidiques plus courtes. Les exo-glucanases coupent 2 à 4 unités des extrémités réductrices (extrémité où se trouve le groupe aldéhyde, capable de subir des réactions de réduction) ou non réductrices des chaînes polyosidiques, libérant soit du cellobiose par la cellobiohydrolase, soit du  $\beta$ -D-glucopyranose par action de la cellodextrinase. Les  $\beta$ -glucosidases hydrolysent le cellobiose en monomères de glucose. Ainsi, l'action conjointe des endo et des exo-glucanases, provenant du même organisme ou non, attaquant deux régions différentes de la cellulose, permet d'accélérer la dégradation de la cellulose cristalline.



**Figure 12** – Mécanismes de cellulolyse : fragmentation des chaînes de cellulose

Cellobionate phosphorylase (EC 2.4.1.321)  
 Cellodextrine phosphorylase (EC 2.4.1.49)  
 Cellobiose phosphorylase (EC 2.4.1.20)

} Réactions de phosphorolyse

Cellobiose déshydrogénase (EC 1.1.99.18)  
 LMPO = monoxygénase polysaccharide lytique (EC 1.14.99.56)

} Réactions d'oxydation

Cellulose 1,4- $\beta$ -cellobiosidase (extrémité non réductrice) (EC 3.2.1.91)  
 Cellulose 1,4- $\beta$ -cellobiosidase (extrémité réductrice) (EC 3.2.1.176)  
 Glucane 1,4- $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.74)  
 Cellobiase = cellulase (EC 3.2.1.4)  
 $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.21)

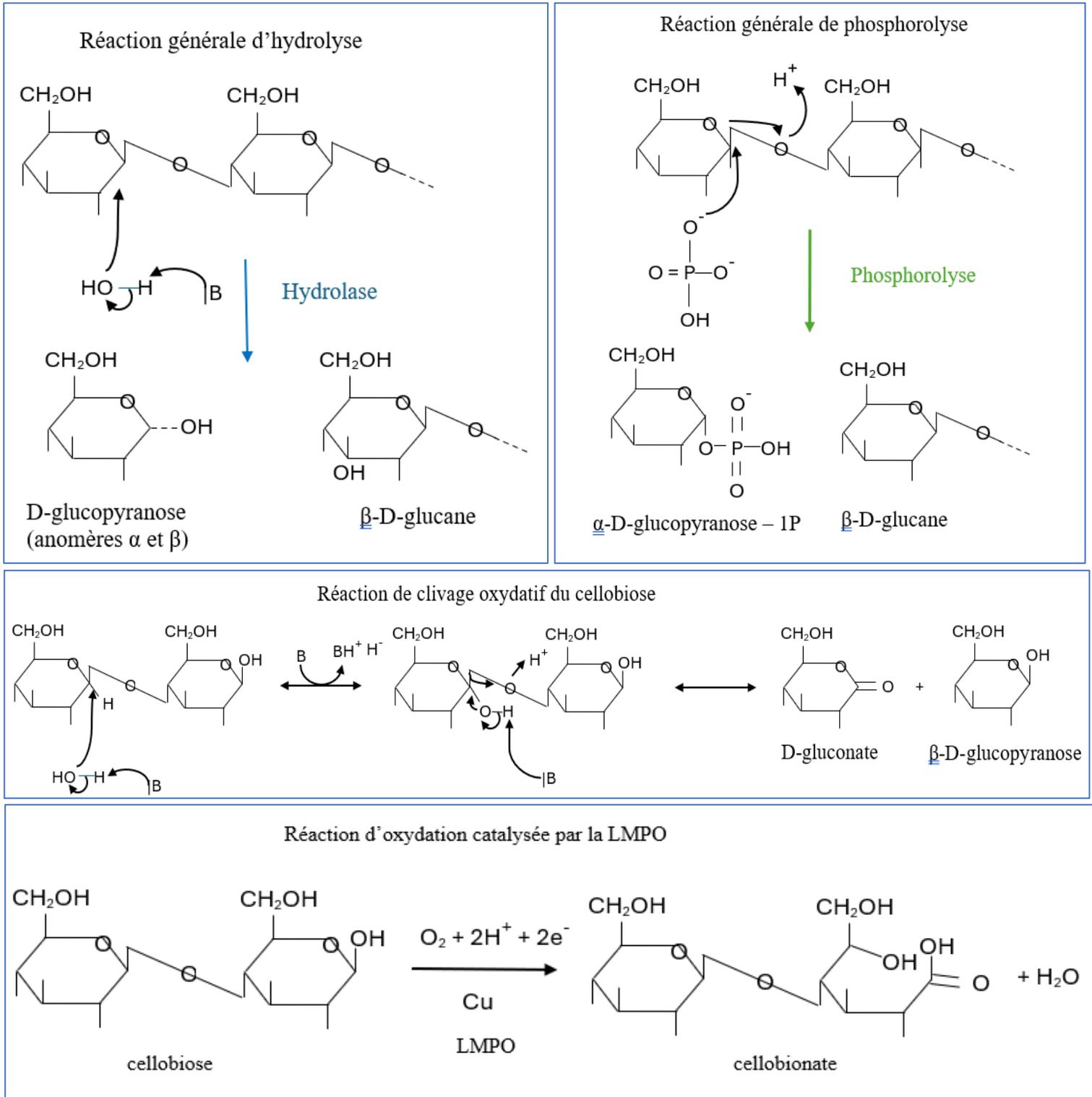
} Réactions d'hydrolyse

En parallèle, les cellulases oxydatives telles que la cellobiose déshydrogénase et les LPMO dépolymérisent par oxydation le cellobiose par action conjointe, conduisant à la formation de cellobionate. Les bactéries ne possèdent pas de cellobiose déshydrogénase, uniquement produite par des champignons cellulolytiques (Loose et al. 2016). Les LPMO appartenant à la famille des oxydoréductases, elles nécessitent de l'oxygène et un donneur d'électrons externe pour oxyder et cliver le cellobiose. Les électrons peuvent être fournis par diverses sources, telles que des composés chimiques (l'ascorbate) ou par des enzymes (les cellobiose déshydrogénases, provenant de champignons) (Lynd Lee R. et al. 2002). Le cellobionate résultant est hydrolysé par la  $\beta$ -glucosidase intracellulaire ou extracellulaire pour former du D-glucose et son dérivé oxydé en C1, l'acide D-gluconique, dans les étapes finales de dégradation de la cellulose. Ce mécanisme n'est pas encore tout à fait compris, et ne sera donc pas détaillé ici. En effet, le cellobionate est un substrat moins spécifique que le cellobiose, substrat typique de la  $\beta$ -glucosidase, et l'acide D-gluconique obtenu par catalyse enzymatique est un puissant inhibiteur de l'activité de la  $\beta$ -glucosidase, ce qui suggère qu'un autre schéma métabolique devrait être appliqué au métabolisme du cellobionate (Nihira et al. 2013) et/ou que ce dérivé d'oxydation intervient dans la régulation temporelle de la cellulolyse dans le rumen.

En bref, l'action combinée et séquentielle des enzymes hydrolytiques conduit dans un premier temps à des glucanes de plus en plus courts et des cellodextrines (mélange d'oligosides de longueur variable, constitué d'unités glycopyranose liées en  $\beta(1\rightarrow4)$ ), jusqu'à l'obtention du diholoside constitutif, le cellobiose, et la libération ponctuelle de  $\beta$ -D-glucopyranose par action de la  $\beta$ -D-glucosidase.

Le processus de fragmentation aboutit à la libération d'un nombre élevé de monomères libres et/ou phosphorylés, grâce à l'action simultanée de diverses phosphorylases. Ces enzymes effectuent de manière irréversible la phosphorolyse des osides, générant des oses 1-phosphates avec des spécificités de substrat strictes. La voie catabolique, incluant la phosphorolyse qui permet la production directe d'oses phosphorylés sans consommation d'ATP, se caractérise par une efficacité énergétique augmentée.

Les réactions générales d'hydrolyse, de phosphorolyse et de clivage oxydatif et d'oxydation sont données dans la figure 13.



**Figure 13** – Détail des réactions d'hydrolyse, de phosphorolyse, de clivage oxydatif et d'oxydation impliquées dans la cellulolyse

## b. Population bactérienne cellulolytique

Les bactéries cellulolytiques adhèrent très étroitement au substrat cellulosique au moyen de leur glycocalyx, enveloppe cellulaire constituée de polyholosides, de glycolipides et de glycoprotéines, protégeant la bactérie et participant à la reconnaissance et à l'adhérence cellulaire. L'adhésion offre plusieurs avantages, notamment le contact direct des cellulases de la surface avec le substrat, minimisant ainsi la libération inutile de cellulases en vrac dans la phase liquide. De plus, elle assure un accès préférentiel aux cellodextrines issues de l'hydrolyse de la cellulose et elle permet de prolonger le temps de rétention des bactéries dans le rumen, améliorant le temps de contact entre les enzymes et le substrat (Lynd Lee R. et al. 2002). Les bactéries sont également capables de dégrader les végétaux en produisant des vésicules qui contiennent des enzymes qui continuent d'être actives même après autolyse de la bactérie (Chesson et al. 1986).

La plupart des cellulases possèdent une structure modulaire comprenant des unités de liaison aux glucides qui ont également une fonction catalytique, connus sous le nom de Carbohydrate Binding Modules (CBM). Le CBM facilite l'adhésion à la surface de la cellulose, rapprochant ainsi le domaine catalytique du substrat. Cette proximité favorise vraisemblablement son hydrolyse. La présence de CBM est particulièrement importante pour l'initiation et la continuité de l'activité des exo-glucanases (Teeri et al. 1998). Les systèmes cellulolytiques ne sont pas simplement un agglomérat d'enzymes représentant les trois groupes d'enzymes (endo et exo-glucanases et  $\beta$ -glucosidases, avec ou sans CBM), mais agissent plutôt de manière coordonnée pour hydrolyser efficacement la cellulose. Ils présentent une activité collective plus élevée que la somme des activités des enzymes individuelles, un phénomène connu sous le nom de synergie. Quatre formes de synergie ont été rapportées : (1) synergie endo-exo entre endo et exo-glucanases, (2) synergie exo-exo entre exo-glucanases actives à partir des extrémités réductrices et non réductrices des chaînes cellulosiques, (3) synergie entre exo-glucanases et  $\beta$ -glucosidases qui éliminent le cellobiose (et les cellodextrines) en tant que produits finaux des deux premières enzymes, et (4) synergie intramoléculaire entre les domaines catalytiques et les CBM (Din et al. 1994).

Les bactéries ont adapté différentes approches pour hydrolyser efficacement la cellulose, présente naturellement dans des particules insolubles ou incorporée dans des polymères d'hémicellulose et de lignine (Tomme, Warren, Gilkes 1995). Les bactéries actinomycètes ont la capacité de pénétrer dans les substrats cellulosiques à travers des extensions d'hyphes, présentant ainsi souvent leurs systèmes de cellulase dans des cavités confinées au sein des

particules cellulosiques (Eriksson, Blanchette, Ander 1990). La production de cellulases libres, avec ou sans CBM, peut donc suffire à l'hydrolyse efficace de la cellulose dans ces conditions. En revanche, la plupart des bactéries n'ont pas la capacité de pénétrer efficacement dans la matière cellulosique et possèdent donc des mécanismes alternatifs pour dégrader la cellulose et accéder aux produits de l'hydrolyse. En effet, certaines bactéries ruminales possèdent des systèmes cellulolytiques complexes, appelés cellulosomes, qui assurent une activité enzymatique à proximité immédiate de la bactérie. Le cellulosome est un complexe enzymatique stable fermement lié à la paroi cellulaire bactérienne mais suffisamment flexible pour se lier également étroitement à la cellulose microcristalline. Parallèlement, il minimise également la distance sur laquelle les produits d'hydrolyse de la cellulose doivent diffuser, permettant une absorption efficace de ces oligosides par la bactérie (Bayer, Morag, Lamed 1994).

Les cellulosomes possèdent différentes activités enzymatiques (cellulolytique ou hémicellulolytique) permettant d'éliminer les autres polyosides des parois végétales. Les bactéries de l'ordre des *Clostridia* telles que les espèces appartenant aux genres *Clostridium* et *Ruminococcus* possèdent des cellulosomes (Ding et al. 2001). L'architecture des cellulosomes est similaire parmi ces organismes, bien que la composition des cellulosomes varie d'une espèce à l'autre (Lynd Lee R. et al. 2002).

Les enzymes intervenant dans la dégradation de la cellulose et les bactéries capables de les synthétiser sont présentées dans le tableau 2.

**Tableau 2** – Identification des bactéries cellulolytiques et leur prévalence (cf annexe 3)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à la classe des *Clostridia* ; Bactéries appartenant à la classe des *Fibrobacteria*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)	
<b>Cellobiase</b> <b>EC 3.2.1.4</b>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Butyrivibrio hungatei</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	++	
	<i>Cellulosilyticum ruminicola</i> <i>Clostridium longisporum</i> <i>Eubacterium cellulosolvens</i>	+	
	<i>Fibrobacter succinogenes</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Ruminococcus flavefaciens</i>	++	
	<b>Glucane 1,4-β-glucosidase</b> <b>EC 3.2.1.74</b>	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	++
	<b>Cellulose 1,4-β-cellobiosidase</b> <b>(extrémité non réductrice)</b> <b>EC 3.2.1.91</b>		
	<b>Cellulose 1,4-β-cellobiosidase (extrémité non réductrice) EC 3.2.1.176</b>		
<b>β-glucosidase</b> <b>EC 3.2.1.21</b>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Butyrivibrio hungatei</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Ruminococcus albus</i>	++	
	<b>Cellulose phosphorylase</b> <b>EC 2.4.1.20</b>		
	<b>Cellodextrine phosphorylase</b> <b>EC 2.4.1.49</b>		
	<b>Cellobionate phosphorylase</b> <b>EC 2.4.1.321</b>		
<b>Cellulose déshydrogénase</b> <b>EC 1.1.99.18</b> <b>LMPO</b> <b>EC 1.14.99.56</b>			

Les bactéries cellulolytiques ruminales sont représentées par deux classes différentes, les *Clostridia* dont font partie *Butyrivibrio fibrosolvans*, *hungatei* et *proteoclasticus*, *Cellulosilyticum ruminicola*, *Clostridium longisporum*, *Eubacterium cellulosolvans*, *Ruminococcus albus* et *flavefaciens* et la classe des *Fibrobacteria* dont fait partie *Fibrobacter succinogenes*. Ces bactéries sont polyvalentes dans la dégradation de la cellulose puisqu'elles produisent toutes au moins deux enzymes aux fonctions différentes. Cependant, aucune bactérie citée ici ne sécrète la totalité des enzymes mises en jeu dans la cellulolyse. Toutes ces bactéries présentent une activité exclusivement hydrolytique, les phosphorylases et les oxydases n'étant pas synthétisées par les bactéries cellulolytiques du rumen. Certaines de ces enzymes sont en effet strictement sécrétées par d'autres micro-organismes, comme la cellobiose déshydrogénase uniquement produite par des champignons (cf supra).

Les enzymes bactériennes les plus fréquemment décrites sont au nombre de quatre, à savoir des membres des exo-glucanases, des endo-glucanases et des  $\beta$ -glucosidases. Ces enzymes sont respectivement responsables de l'initiation de la cellulolyse par attaque préliminaire du squelette de cellulose et de l'hydrolyse de la cellobiose en unités glycopyranose. Quatre bactéries sont capables de sécréter à la fois des endoglucanases et des  $\beta$ -glucosidases, à savoir les représentantes du genre *Butyrivibrio* et l'espèce *Ruminococcus albus*. Ces bactéries sont présentes au début et à la fin du processus de cellulolyse, ce qui suggère qu'elles sont également capables de participer à l'ensemble de la dégradation de la cellulose. *Fibrobacter succinogenes* présente à la fois des exo et endo-glucanases, elle est donc capable d'initier la cellulolyse seule. L'abondance des bactéries capable de sécréter des endo-glucanases suggère que les produits majeurs de l'hydrolyse bactérienne de la cellulose sont des cellodextrines, ce qui est corroboré par la littérature (Weimer 2022).

Les principales bactéries cellulolytiques retrouvées dans le rumen sont *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens* (Krause et al. 2003). *Fibrobacter succinogenes* est l'une des bactéries cellulolytiques les plus répandues dans le rumen, qui représente 5 à 6 % de l'ARNr 16S procaryote total dans le contenu du rumen des bovins (Briesacher et al. 1992). La bactérie *Fibrobacter succinogenes* a une activité hydrolytique élevée à l'égard de la cellulose et plus précisément contre la cellulose cristalline mais aucune structure cellosomique n'a été identifiée (Lynd Lee R. et al. 2002). La plupart des bactéries cellulolytiques ont aussi des activités hémicellulolytiques (Jouany 1994).

Cependant, le comportement physiologique des bactéries au sein du rumen découle notamment de leurs propriétés physiologiques telles que l'existence de CMB ou de cellosomes. Or les séquences protéiques de ces structures peuvent être différentes de celles des enzymes simples

citées précédemment. D'autre part, les enzymes sécrétées par les bactéries dépendent de divers paramètres biotiques et abiotiques, notamment les conditions physico-chimiques du milieu ou la nature des substrats en présence. Par conséquent, la capacité d'une bactérie à participer à une voie métabolique spécifique est difficile à prédire de manière certaine et à corréler avec son activité enzymatique effective.

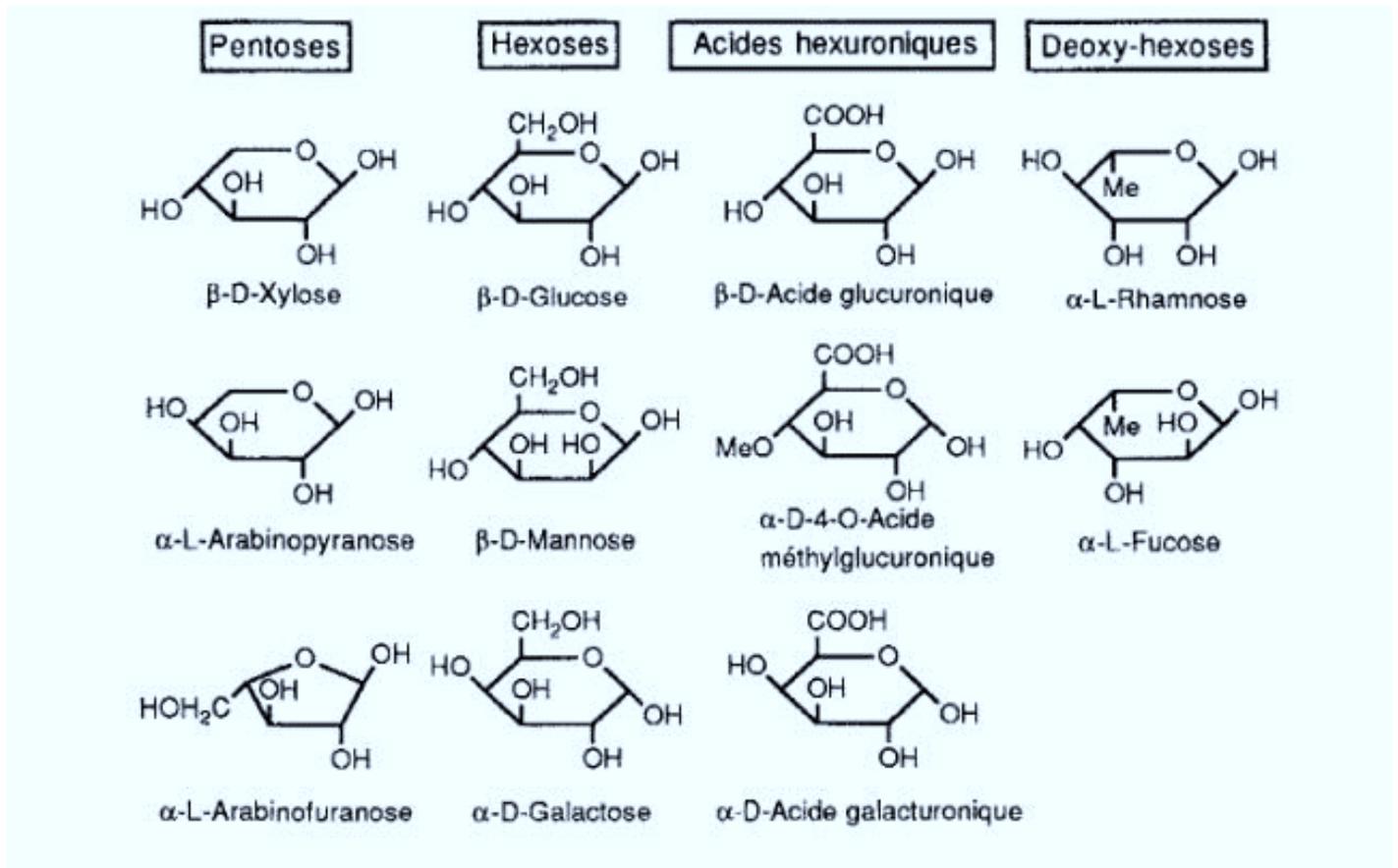
## 2. Hydrolyse des hémicelluloses

### a. Réactions biochimiques mises en jeu

Les hémicelluloses sont des constituants majeurs de la paroi cellulaire végétale et sont des composantes du bois. Elles constituent 30 à 45 % de la biomasse végétale terrestre et constituent donc le deuxième polysaccharide le plus abondant derrière la cellulose. Le terme hémicellulose ne faisant pas référence à une entité chimique particulière, les hémicelluloses extraites de différentes sources végétales sont rarement identiques. En effet, le terme hémicellulose est utilisé pour qualifier les composants de la paroi des cellules végétales autres que la cellulose. Dans la paroi végétale, les molécules d'hémicelluloses longent les microfibrilles de cellulose, auxquelles elles s'accrochent par leurs barbules, grâce à de nombreuses liaisons hydrogène, et participent ainsi à la cohésion du réseau.

Les hémicelluloses sont des hétéropolymères de polyholosides organisés en chaînes plus courtes que la cellulose, généralement de 500 à 3 000 unités d'oses et souvent caractérisé par une structure ramifiée. Les hémicelluloses sont regroupées en différentes catégories en fonction du résidu primaire présent dans leur structure, soit des pentoses (xylose, arabinose), des hexoses (glucose, mannose, galactose), des désoxyhexoses (rhamnose, fucose) ainsi que les acides uroniques (acide glucuronique, méthylglucuronique et galacturonique) (Figure 14). La chaîne principale des hémicelluloses peut être constituée d'un seul type d'unités, des homopolymères comme les xylanes, ou de plusieurs unités de natures différentes. Les hémicelluloses sont constituées de courtes ramifications d'1 ou 2 résidus, attachées à la chaîne principale par des liaisons de configuration  $\alpha(1\rightarrow2)$ ,  $\alpha(1\rightarrow3)$  ou  $\alpha(1\rightarrow6)$ . Ces ramifications sont le plus souvent constituées de D-galactose, de L-arabinofuranose et d'acide D-glucuronique. Des méthylations sont souvent observées, tant sur la chaîne principale (sur les alcools en positions 2 et/ou 3) que sur les ramifications portant les résidus de glucuronate.

Les hémicelluloses présentent une structure amorphe et non cristalline, ce qui les rend plus facilement hydrolysables que la cellulose. Les hémicellulases, enzymes responsables de la dégradation des hémicelluloses, appartiennent à la famille des glucanes hydrolases (EC 3.2.1). Les hémicellulases typiques sont les D-xylanases, les L-arabinases, les D-galactanases et les D-mannases.



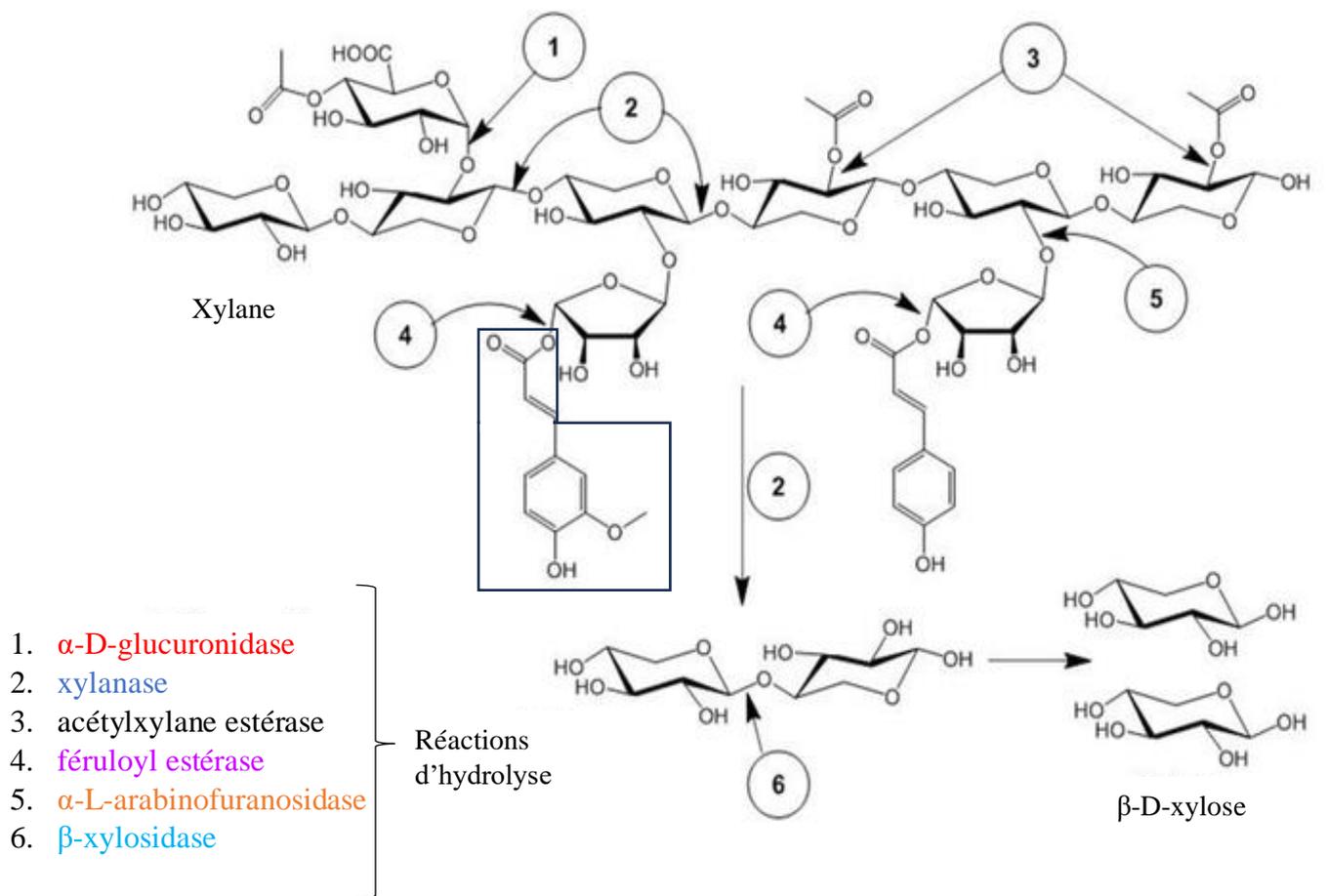
**Figure 14** - Osides constituant les hémicelluloses (d'après Saha Tchinda 2015)

Le mécanisme de dégradation des hémicelluloses partage des similitudes avec celui des homopolymères comme la cellulose (Ellis, Magnuson 2012). Pour simplifier, nous allons nous intéresser exclusivement au mécanisme de dégradation du xylane. Il s'agit du polysaccharide non-cellulosique le plus abondant dans la nature, pouvant constituer jusqu'à la moitié de la paroi cellulaire des végétaux. Ainsi, le xylane peut être considéré comme représentatif des hémicelluloses. Il se compose d'un squelette de résidus de xylose liés en  $\beta(1\rightarrow4)$ , auxquels sont également attachées des branches de résidus  $\alpha$ -L-arabinofuranose, acide férulique (acide phénolique), groupe acétyle, D-galactose et 4-O-méthyl- $\alpha$ -acide-D-glucuronique.

Étant donné que la dégradation des groupes substituants des hémicelluloses est plus rapide que celle du xylane, il semble que l'élimination préalable des chaînes latérales soit essentielle pour favoriser la dégradation complète de la chaîne principale (Hespell, Wolf, Bothast 1987). Une fois les chaînes latérales éliminées, l'hydrolyse de la chaîne principale est réalisée par un mélange d'endo et d'exo-xylanases, dont la plupart sont extracellulaires. Cette hydrolyse génère principalement des xylo-dextrines, analogues à l'hydrolyse de la cellulose en cello-dextrines (Cotta 1993).

La dégradation complète de l'hémicellulose en pentoses requiert l'action synergique de plusieurs enzymes. Elle débute par l'action des enzymes de clivage des chaînes latérales, ouvrant ainsi la chaîne glycanique du squelette. Ces enzymes sont l' $\alpha$ -L-arabinofuranosidase (EC 3.2.1.55), la féruloyl estérase (EC 3.1.1.73), l'acétylxylane estérase (EC 3.1.1.72), l' $\alpha$ -D-galactosidase (EC 3.2.1.22) et l' $\alpha$ -glucuronidase également appelée  $\alpha$ -D-glucosiduronate glucuronohydrolase (EC 3.2.1.139). Cette première étape expose la chaîne glycanique, facilitant son attaque ultérieure par les hémicellulases. En effet, la réduction de l'encombrement stérique dû aux résidus de la chaîne latérale facilite le processus. Ensuite, les hémicellulases dégradent les liaisons glycosidiques  $\beta(1\rightarrow4)$  de manière aléatoire, produisant des xylo-oligosides comme le xylobiose ainsi que du xylose (Kamble, Jadhav 2012). Les hémicellulases regroupent notamment les endo-xylanases, comprenant l'endo- $\beta$ -1,4-xylanase (E.C.3.2.1.8), également appelée xylanase. Ces enzymes génèrent des xylo-dextrines qui sont ultérieurement dégradées en monomères de xylose par les  $\beta$ -xylosidases, la xylane 1,4- $\beta$ -xylosidase (E.C.3.2.1.37), (Dodd, Mackie, Cann 2011). Les réactions de dégradation de l'hémicellulose sont détaillées dans les figures 15 et 16.





**Figure 16** – Détail des réactions hydrolytiques de l'hémicellulolyse (d'après Yadav et al. 2018)

## b. Population bactérienne hémicellulolytique

En raison de la diversité marquée de composition et de structure des hémicelluloses, on pourrait s'attendre à ce que la communauté bactérienne dégradant les hémicelluloses soit abondante et variée. En fait, la dégradation de l'hémicellulose ruminale est réalisée par deux groupes physiologiques distincts : les bactéries cellulolytiques hautement spécialisées et certaines bactéries non cellulolytiques polyvalentes. Les bactéries cellulolytiques ruminales sont hautement capables d'hydrolyser à la fois les hémicelluloses pures et les molécules d'hémicellulose reliées aux autres composants de la paroi végétale (Weimer 2022). Les bactéries cellulolytiques et hémicellulolytiques qui hydrolysent la cellulose et les hémicelluloses ne représentent jamais plus de 25 % de la population bactérienne ruminale (Jouany 1994). Tout comme pour le mécanisme de dégradation de la cellulose, les bactéries hémicellulolytiques produisent également différents types d'hémicellulases, soit sous forme d'enzyme unique, soit sous forme de système multi-enzymatique. Les enzymes intervenant dans la dégradation des hémicelluloses et les bactéries capables de les synthétiser sont présentées dans le tableau 3.

**Tableau 3-** Identification des bactéries hémicellulolytiques et leur prévalence (cf annexe 4)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à la classe des *Actinomycetia* ; Bactéries appartenant à la classe des *Clostridia* et des *Bacilli* (ordre des *Bacillota*) ; Bactéries appartenant à la classe des *Bacteroidia* ; Bactéries appartenant à la classe des *Fibrobacteria* ; Bactéries appartenant à la classe des *Spirochaetia*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)
<b>Acétylxylane estérase (EC 3.1.1.72)</b>		
<b>Féruloyl estérase EC 3.1.1.73</b>	<i>Prevotella byantii</i> <i>Prevotella ruminicola</i>	++
<b><math>\alpha</math>-D-galactosidase EC 3.2.1.22</b>	<i>Actinomyces ruminicola</i> <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> <i>Butyrivibrio hungatei</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Eubacterium ruminantium</i> <i>Fibrobacter succinogenes</i> <i>Prevotella byantii</i> <i>Streptococcus bovis</i> <i>Treponema byantii</i>	+ ++ + ++ +
<b><math>\alpha</math>-L-arabinofuranosidase EC 3.2.1.55</b>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Prevotella bryantii</i> <i>Prevotella ruminicola</i>	++
<b><math>\alpha</math>-D-glucuronidase (EC 3.2.1.139)</b>	<i>Prevotella bryantii</i>	++
<b>Xylanase EC 3.2.1.8</b>	<i>Actinomyces ruminicola</i> <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Butyrivibrio hungatei</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Cellulosilyticum ruminicola</i> <i>Eubacterium cellulosolvens</i> <i>Eubacterium ruminantium</i> <i>Fibrobacter succinogenes</i> <i>Prevotella bryantii</i> <i>Prevotella ruminicola</i> <i>Pseudobutyrovibrio xylanivorans</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Ruminococcus flavefaciens</i>	+ ++ + ++ +
<b><math>\beta</math>-xylosidase EC 3.2.1.37</b>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Prevotella bryantii</i> <i>Prevotella ruminicola</i>	++

Les bactéries hémicellulolytiques ruminales sont représentées par cinq classes différentes, les *Clostridia* qui sont les plus représentées avec *Butyrivibrio fibrosolvans*, *hungatei* et *proteoclasticus*, *Cellulosilyticum ruminicola*, *Eubacterium cellulosolvans* et *ruminantium*, *Ruminococcus albus* et *flavefaciens* ; les *Bacilli*, dont l'unique représentant est *Streptococcus bovis* ; la classe des *Fibrobacteria* avec *Fibrobacter succinogenes* ; les *Actinomycetia* dont fait partie *Actinomyces ruminicola* ; la classe des *Bacteroidia* représentées par *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Prevotella bryantii* et *ruminicola* et les *Spirochaetia* avec *Treponema bryantii*. Ces bactéries sont polyvalentes puisqu'elles sécrètent quasiment toutes les enzymes impliquées dans la dégradation de l'hémicellulose, à l'exception de l'acétylxylane estérase. L'ensemble de ces bactéries présente une activité exclusivement hydrolytique. *Prevotella bryantii* est la seule bactérie à être capable de produire toutes les enzymes intervenant dans l'hémicellulolyse. *Prevotella ruminicola* et *Butyrivibrio proteoclasticus* jouent également un rôle important dans la dégradation des hémicelluloses puisqu'elles sont capables de sécréter quatre des sept enzymes impliquées dans le processus, à savoir les enzymes de clivage des substituants de la chaîne de xylane ainsi que les hémicellulases et la  $\beta$ -xylosidase aboutissant à la formation d'unités de xylopyranose. Les enzymes les plus fréquemment synthétisées par les bactéries ruminales sont les hémicellulases, conduisant à la formation de xylobiose, produit majoritaire de l'hémicellulolyse.

La diversité des bactéries intervenant dans la dégradation de l'hémicellulose est importante puisqu'elles font partie de 6 classes différentes alors que les bactéries cellulolytiques ne regroupent que 2 classes distinctes. Les bactéries hémicellulolytiques comprennent à la fois des bactéries non cellulolytiques, telles que les bactéries appartenant à la classe des *Actinomycetia*, des *Bacilli*, des *Bacteroidia*, des *Prevotella* et des *Spirochaetia* ainsi que des bactéries retrouvées dans la dégradation de la cellulose telles que les bactéries appartenant à la classe des *Clostridia*, notamment *Butyrivibrio proteoclasticus* et dans une moindre mesure *Ruminococcus albus* et *flavefaciens* ; et des *Fibrobacteria* dont l'unique représentante est *Fibrobacter succinogenes*. En termes d'abondance dans le rumen, les principales bactéries hémicellulolytiques sont *Prevotella bryantii* et *ruminicola* ainsi que *Butyrivibrio fibrosolvans*, *hungatei* et *proteoclasticus*. *Actinomyces ruminicola*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Streptococcus bovis* et *Treponema bryantii* sont considérées comme anecdotiques puisqu'elles ne sont retrouvées que dans une seule réaction enzymatique de dégradation de l'hémicellulose et sont présentes en quantité plus faible dans le milieu ruminal. Au même titre que les bactéries cellulolytiques ruminales, le comportement physiologique des bactéries capables de dégrader les hémicelluloses au sein du rumen dépend de l'existence de structures plus complexes comme les cellulosomes, comprenant des hémicellulases en plus des cellulases.

D'autre part, l'activité des bactéries ruminales et des enzymes qu'elles secrètent dépend de la nature du squelette constitutif des hémicellulose en présence. En effet, nous avons ici choisi le xylane mais il a été démontré que *Streptococcus bovis* est prédominante dans le rumen lorsque le squelette est composé de glucomannane (Emerson, Weimer 2017).

### 3. Hydrolyse des pectines

#### a. Réactions biochimiques mises en jeu

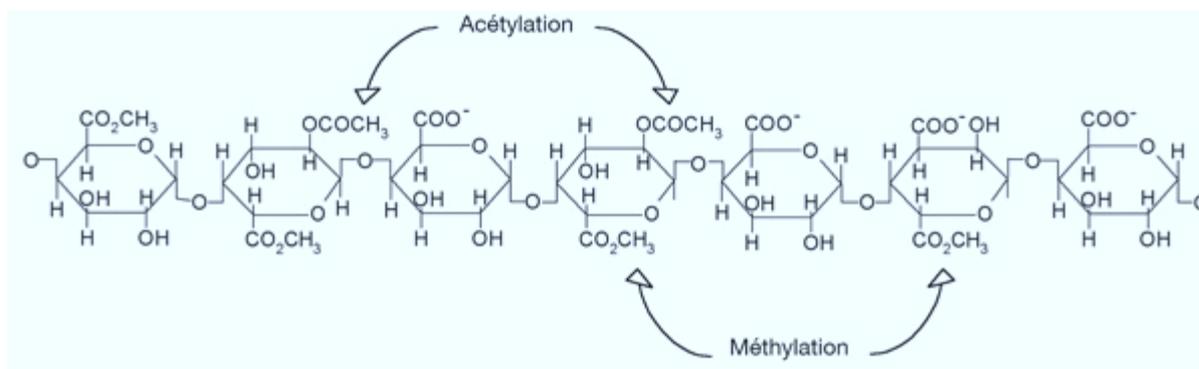
Les pectines sont des glucides structuraux complexes des végétaux, principalement situées dans la paroi primaire et la lamelle moyenne. Elles forment la matrice des parois végétales et assurent l'adhésion et le maintien des cellules des tissus végétaux sous la forme d'un ciment rattachant les cellules les unes aux autres (Iwasaki, Inoue, Matsubara 1998). Les pectines sont souvent associées à d'autres polysides de la paroi cellulaire comme la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. Elles sont responsables de l'intégrité structurelle et de la résistance mécanique des tissus végétaux.

Les pectines sont des hétéropolymères constituées d'une chaîne principale de résidus d'acide D-galacturonique (GalA) liés entre eux par des liaisons  $\alpha(1\rightarrow4)$ , partiellement acétylés ou estérifiés par des groupes méthyles. Des résidus de rhamnose sont intercalés régulièrement dans la chaîne principale, sur lesquels viennent se greffer des chaînes latérales uniquement composées de polyholosides neutres, de type arabinane, arabinogalactane et galactane (Murray, R. K. et al. 1995). L'ensemble forme des hélices régulières, gauches ou droites, à trois résidus par tour. Les pectines sont essentiellement constituées de trois domaines distincts, qui diffèrent par l'abondance et la chimie de leurs sous-unités monomères respectives, à savoir l'homogalacturonane et les rhamnogalacturonanes de type I et II (RG I et RG II) (Perrone et al. 2002).

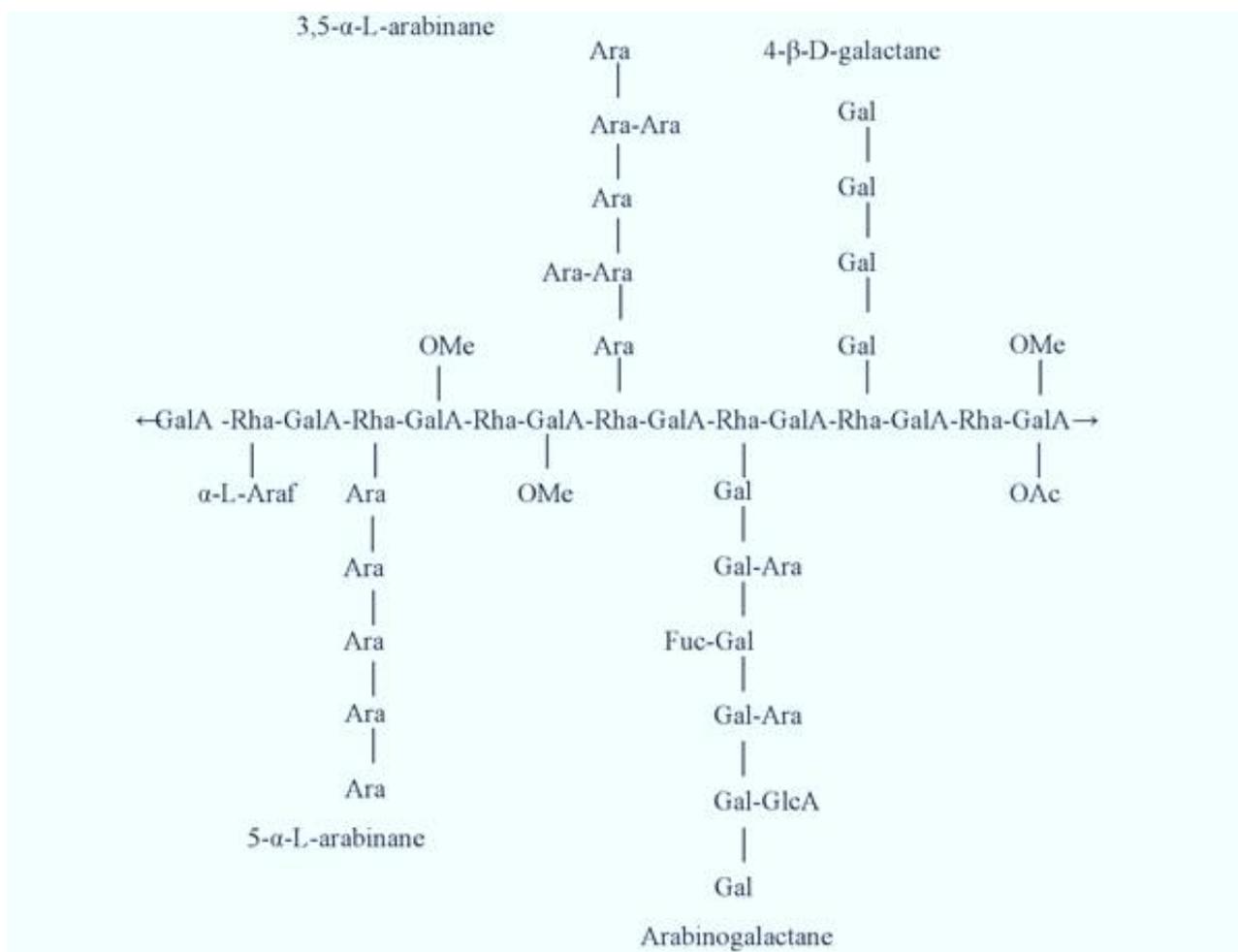
Les résidus homogalacturonane (HG) sont les plus abondants, ils représentent 57 à 69 % de la pectine (Jackson et al. 2007). Ce sont des polymères linéaires constitués uniquement de GalA, près d'une centaine de résidus, reliés entre eux par des liaisons  $\alpha(1\rightarrow4)$  et dont les fonctions carboxyliques et alcools peuvent être estérifiées respectivement par du méthanol en position C6 et de l'acide acétique en position C2 ou C3 (Figure 17). Elles forment la zone lisse des pectines, uniquement constituée d'une chaîne principale linéaire (Ridley, O'Neill, Mohnen 2001).

Les RG I et II forment ce qu'on appelle la région hérissée de la pectine car elles sont constituées de chaînes latérales. Le RG I représente 7 à 14 % de la pectine (Jackson et al. 2007) et il est constitué d'une alternance de diosides formés d'unités rhamnosiques liés à des GalA. Comme dans l'homogalacturonane, certains résidus GalA de RG I sont acétylés (Dumville, Fry 2000). Différents substituants polyosidiques neutres sont capables de se greffer à ce squelette osidique au niveau du carbone C4 du L-rhamnose, dont 20 à 80 % sont substitués par des oligosides (Figure 18). Parmi ces substituants, on peut citer le L-arabinose, le D-galactose, les arabinanes, les galactanes ou les arabinogalactanes, dont les types et les quantités varient selon la source de pectine (Bonnin et al. 2002) (Figure 18). Chez certains végétaux (betterave, épinard), les chaînes latérales peuvent être substituées par des acides phénoliques (acide férulique ou coumarique) estérifiant les fonctions alcools en position 6 des résidus de galactose ou en position 2 des résidus d'arabinose (Mohnen 2008).

Le RG II est un galacturonane hautement ramifié qui représente 10 à 11 % de la pectine et dont la structure complexe est très conservée au sein des espèces végétales (Jackson et al., 2007). Le RG II comprend au moins huit résidus GalA liés en 1-4 constituant la chaîne principale, sur laquelle sont greffés quatre complexes glycosidiques différents. Ces complexes glycosidiques sont composés d'arabinofuranose, d'arabinopyranose, de glucopyranose, de fucopyranose, d'apiofuranose et de galactopyranose et d'autres oses inhabituels tels que le Dha : acide 3-déoxy-D-lyxo-heptulosarique, le Kdo : acide 3-déoxy-D-manno-octulosonique et le xylofuranose. Il contient également des oses méthylés rarement observés comme le 2-O-méthylxylose et le 2-O-méthylfucose (Ridley, O'Neill, Mohnen 2001). Le RG II se présente principalement sous la forme d'un dimère dans la paroi cellulaire des plantes par l'établissement de liaison covalente de diester de bore. Cette liaison est formée entre le OH-2 et le OH-3 des résidus  $\beta$ -D-apiofuranose de chaque sous-unité monomérique de RG II et un atome de bore. En outre, il a été montré que seul le résidu apiofuranose de chaque chaîne latérale participe à cette dimérisation (Ridley, O'Neill, Mohnen 2001).



**Figure 17** – Structure primaire d’un homogalacturonane (d’après Michel Combo, Aguedo, Paquot 2011)



**Figure 18** – Structure d’un RG I (d’après Michel Combo, Aguedo, Paquot 2011)

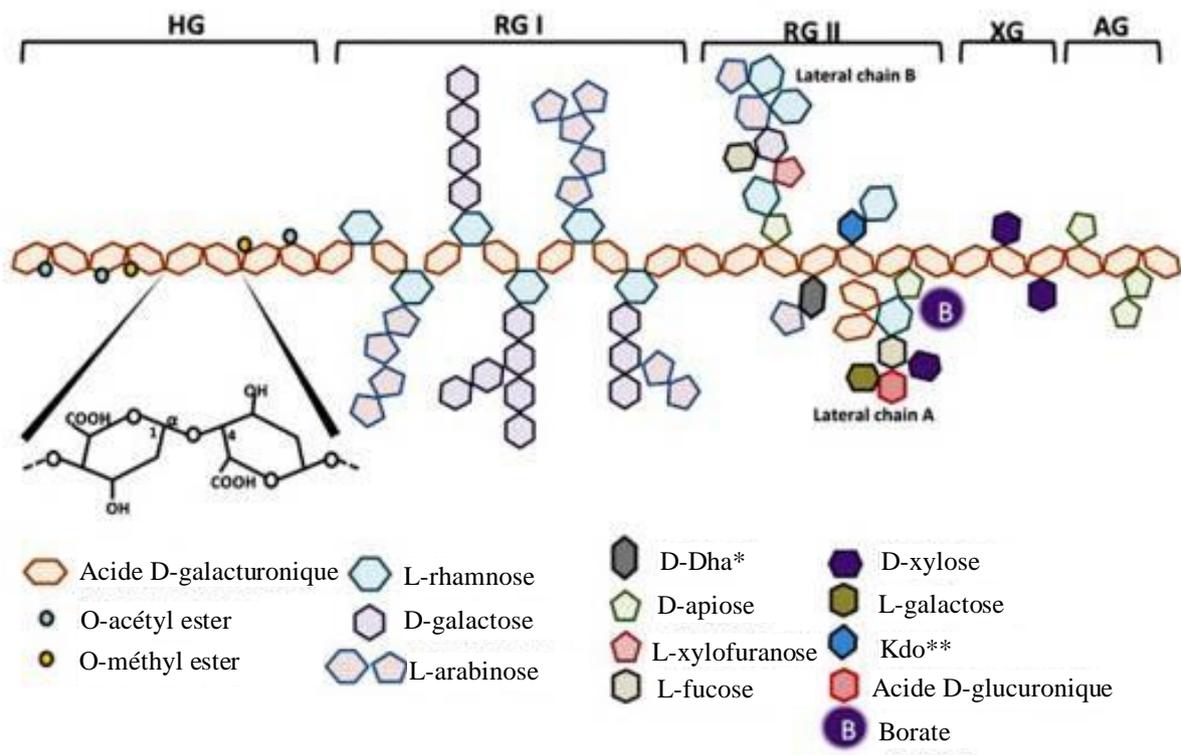
GalA : acide galacturonique ; Rha : rhamnose ; Ara : arabinose ; Araf : arabinofuranose ; Gal : galactose ; Fuc : fucose ; GlcA : acide glucuronique ; OMe : méthylation ; OAc : acétylation

D'autres domaines structuraux constituant la pectine tels que l'arabinogalactane (AG) et le xylogalacturonane (XG) ont été décrits dans des proportions plus faibles (Leclere, Cutsem, Michiels 2013). XG est un squelette HG, où 25 à 75 % des unités GalA sont substituées en C3 par un résidu xylose et occasionnellement par un deuxième résidu xylose en C4 (Mohnen 2008).

Les domaines structuraux des pectines interagissent entre eux et avec d'autres molécules telles que le calcium, le borate, les polyamines et les composés phénoliques, qui contribuent aux propriétés de la matrice de pectine. La structure complexe de la pectine est détaillée dans la figure 19.

La dépolymérisation enzymatique des pectines est réalisée par deux grands groupes d'enzymes, d'une part les pectinases, responsables de la dégradation de la région homogalacturonique dite à chaîne droite, par des processus de dépolymérisation (hydrolases et lyases) et de désésterification (estérases) ; et d'autre part les enzymes responsables de la dépolymérisation spécifique des régions ramifiées (RG I, II, AG, XG).

Le terme enzyme pectinolytique est spécifique aux enzymes qui agissent sur les GalA de la pectine, excluant ainsi les enzymes capables de dégrader les chaînes latérales. Les enzymes pectinolytiques sont classées selon la nature du substrat (pectine, acide pectique, oligogalacturonate), le mécanisme de dégradation (transélimination ou hydrolyse) et le type de clivage (endo ou exo). Ces enzymes peuvent être divisées en deux grands groupes : les estérases de pectine (les pectine-méthylestérases et les pectine-acétylestérases) et les dépolymérases (hydrolases et lyases) (Tableau 4) :



**Figure 19** - Représentation schématique de la structure de la pectine (d'après Leclere, Cutsem, Michiels 2013)

HG : homogalacturonane ; RG I : rhamnogalacturonane de type I ; RG II : rhamnogalacturonane de type II ; XG : xylogalacturonane ; AG : arabinogalactane

\*Dha : acide 3-déoxy-D-lyxo-heptulosarique ; \*\*Kdo : acide 3-déoxy-D-manno-octulosonique

**Tableau 4** - Classification des pectinases (d'après Alimardani-Theuil, Gainvors-Claïsse, Duchiron 2011)

Nom enzyme	EC	Mode d'action
<b>1) Estérases de pectine</b>		
a) Pectine-méthylestérasés (PME)	EC 3.1.1.11	Hydrolyse aléatoire du groupe ester méthylique de l'unité galacturonate
b) Pectine-acétylestérasés (PAE)	EC 3.1.1.6	Hydrolyse des esters d'acétate
<b>2) Dépolymérasés</b>		
<b>a) Hydrolases</b>		
<u>i) Polygalacturonases (PG)</u>		Hydrolyse de la liaison $\alpha(1\rightarrow4)$ glycosidique de l'acide pectique
Exo-PG	EC 3.2.1.67	Hydrolyse terminale de l'extrémité non réductrice de l'acide polygalacturonique
Endo-PG	EC 3.2.1.15	Hydrolyse aléatoire de l'acide pectique
<u>ii) Polyméthylgalacturonases (PMG)</u>		Hydrolyse de la liaison $\alpha(1\rightarrow4)$ glycosidique de la pectine
Exo-PMG		Clivage terminal de l'extrémité non réductrice de la pectine
Endo-PMG		Clivage aléatoire de l'acide pectique
<b>b) Lyases</b>		
<u>i) Pectates Lyases (PLY)</u>		Catalyse le clivage de la liaison $\alpha(1\rightarrow4)$ glycosidique de l'acide pectique par trans-élimination formant des GalA insaturés
Exo-PLY	EC 4.2.2.9	Clivage de l'avant-dernière liaison de l'extrémité non réductrice
Endo-PLY	EC 4.2.2.2	Clivage aléatoire de l'acide pectique
<u>ii) Pectines lyases (PL)</u>		Catalyse le clivage de la liaison $\alpha(1\rightarrow4)$ glycosidique de la pectine par trans-élimination formant des GalA de méthyle insaturés à l'extrémité non réductrice
Exo-PL		Clivage terminal
Endo-PL	EC 4.2.2.10	Clivage aléatoire de l'acide pectique

Il existe plusieurs types de pectinases, chacune remplissant une fonction spécifique :

- 1) Les estérases de pectine initient la dégradation de la pectine par hydrolyse des liaisons esters de la pectine, libérant du méthanol et produisant des GalA libres.
  - a) Les pectine-méthylestérases (PME), également appelée pectinestérases (EC 3.1.1.11), catalysent la désestérification du groupe méthoxyle de l'unité GalA générant du GalA et du méthanol (Khattab 2022). Ces enzymes hydrolysent seulement les groupes esters adjacents à un GalA libre et hydrolysent ainsi les groupes méthyles de la chaîne les uns après les autres dans une direction donnée (Sakai et al. 1993).
  - b) Les pectine-acétylestérases (PAE) (EC 3.1.1.6) convertissent l'ester acétylique de la pectine en acide pectique et en acétate.
  
- 2) Les dépolymérasés (polygalacturonases et lyases) sont des enzymes qui possèdent des activités endo ou exo-galacturonases. Les dépolymérasés peuvent être subdivisés en fonction du substrat et du mécanisme de clivage des liaisons glycosidiques, en quatre catégories différentes : les polygalacturonases (PG), les polyméthylgalacturonases (PMG), les pectates lyases (PLY) et les pectines lyases (PL). Les PG et PMG interviennent respectivement dans la dégradation des pectates et des pectines par un processus d'hydrolyse. Cependant, les PLY et PL agissent sans intervention de molécules d'eau par  $\beta$ -élimination respectivement sur les pectates et les pectines (Alkorta et al. 1998). La  $\beta$ -élimination est une réaction chimique dans laquelle un groupe fonctionnel est éliminé d'une molécule organique par la formation d'une liaison double dans une position  $\beta$  par rapport au groupe éliminé. Selon leur mode d'action, la réaction peut se faire soit de manière aléatoire, soit à l'extrémité de la chaîne, ce qui permet de distinguer les endo et les exo-dépolymérasés (Jayani, Saxena, Gupta 2005).
  - a) i) Les polygalacturonases (PG) hydrolysent les liaisons glycosidiques  $\alpha(1\rightarrow4)$  des chaînes linéaires de GalA de la pectine, provoquant sa dégradation en fragments plus petits. Ces enzymes sont spécifiques des substances pectiques non ou partiellement estérifiées par du méthanol. Les PG hydrolysent les liaisons  $\alpha(1-4)$  glycosidiques de la chaîne et génèrent du GalA. Les endo-PG (EC 3.2.1.15) catalysent le clivage aléatoire du substrat, tandis que les exo-PG, également appelées galacturonane 1,4- $\alpha$  galacturonidases (EC 3.2.1.67), catalysent le clivage hydrolytique du substrat à l'extrémité de l'extrémité non réductrice, produisant du

monogalacturonate ou du digalacturonate dans certaines situations (Jayani, Saxena, Gupta 2005).

- a) ii) Les polyméthylgalacturonases (PMG) catalysent la rupture hydrolytique des liaisons  $\alpha(1-4)$  glycosidiques dans le squelette de la pectine, de préférence la pectine hautement estérifiée, entraînant la formation de 6-méthyl-D-galacturonate.
  
- b) i) Les lyases clivent le squelette de la pectine en rompant les liaisons  $\alpha(1-4)$  entre les GalA. Cela peut également entraîner la décomposition de la pectine en fragments plus petits. Leur action dépolymérisante entraîne la libération d'uronides insaturés et d'oligomères de petite taille. Comme pour les PG, selon que la réaction enzymatique se fait au hasard ou à l'extrémité de la chaîne, on distingue les endo et les exo-lyases. Elles comprennent les PLY, qui clivent préférentiellement les liaisons glycosidiques de l'acide polygalacturonique, produisant un produit insaturé ( $\Delta$ -4,5-ène-D-galacturonate) via un processus de transélimination (réaction qui transforme un alcane substitué en dérivé éthylénique (Figure 21c)), nécessitant des ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Elles comprennent des endo-PLY (EC 4.2.2.2), qui agissent de manière aléatoire sur le substrat, et des exo-PLY (EC 4.2.2.9), qui catalysent le clivage du substrat à partir de l'extrémité non réductrice.
  
- b) ii) Les pectine lyases (PL) catalysent le clivage aléatoire de la pectine, préférentiellement la pectine hautement estérifiée, entraînant la transélimination des liaisons glycosidiques et la formation de méthyloligogalacturonates insaturés. Le  $\text{Ca}^{2+}$  n'est pas une nécessité pour les PL, mais ils sont activés par lui et d'autres cations. Jusqu'à présent, toutes les pectines lyases décrites sont des endo-PL (EC 4.2.2.10) (Jayani, Saxena, Gupta 2005).

L'activité de ces enzymes est importante pour la dégradation complète des pectines, car elles favorisent l'activité d'autres enzymes ; par exemple, l'efficacité de la dégradation des pectines par les PG et les PLY dépend largement de l'activité des PME (de Vries, Visser 2001).

En parallèle de l'activité des pectinases qui dégradent la chaîne lisse de la pectine, des enzymes de clivage des chaînes ramifiées de la pectine sont nécessaires pour la décomposition complète des pectines, ce sont principalement les rhamnogalacturonases qui agissent sur les RG I et II et les enzymes de clivage des substituants de la chaîne de GalA :

- Les rhamnogalacturonane rhamnohydrolases (RRH) (EC 3.2.1.40) catalysent l'hydrolyse de la chaîne rhamnogalacturonane à l'extrémité non réductrice, libérant des résidus rhamnose.
- Les rhamnogalacturonane galacturonohydrolases (RHG) (EC 3.2.1.-) catalysent l'hydrolyse de la chaîne rhamnogalacturonane à l'extrémité non réductrice, libérant des résidus GalA (de Vries, Visser 2001).
- Les rhamnogalacturonane hydrolases (RGH) (EC 3.2.1.171) hydrolysent de manière aléatoire la chaîne rhamnogalacturonane produisant des oligogalacturonates.
- Les rhamnogalacturonane lyases (RGL) (EC 4.2.2.-) catalysent la transélimination aléatoire de la liaison rhamnose-GalA de la chaîne rhamnogalacturonane, produisant un GalA insaturé à l'extrémité non réductrice d'un oligomère et un second oligomère avec un rhamnose comme résidu terminal réducteur.
- Les rhamnogalacturonane acétylestérases (RGAE) (EC 3.1.1.-) catalysent l'hydrolyse des groupes acétyles de la chaîne rhamnogalacturonane.
- Les  $\alpha$  et  $\beta$ -galactosidases (EC 3.2.1.22 et EC 3.2.1.23) hydrolysent les liaisons  $\alpha(1\rightarrow4)$  de la chaîne linéaire des GalA.
- Les féruloylestérases (FAE) (EC 3.1.1.73) catalysent l'hydrolyse des résidus d'acide férulique de la chaîne rhamnogalacturonane.
- Les arabinases sont des enzymes accessoires capables d'hydrolyser les chaînes latérales d'arabinose présentes dans les RG I et II. Elles incluent des endo-arabinases (EC 3.2.1.99) et des arabinofuranosidases (EC 3.2.1.55) (de Vries, Visser 2001).

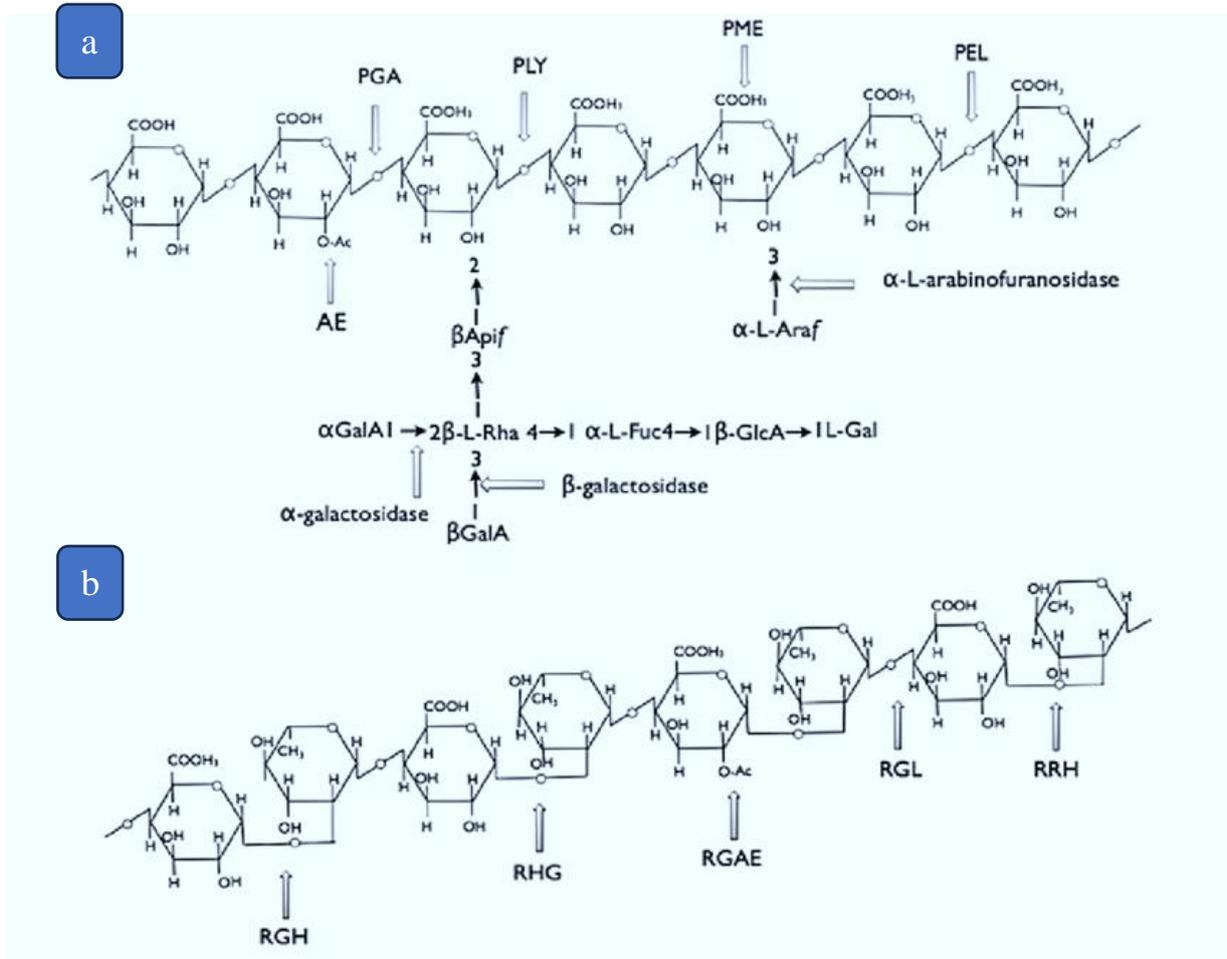
D'autres enzymes plus rarement décrites interviennent également dans le clivage des substituants du squelette ramifié de la pectine telles que les galactanases ou les xylogalacturonases, dont les rôles ne seront pas détaillés ici.

Les étapes de dégradation de la pectine sont au nombre de deux. La dégradation débute par une étape de désésterification, catalysée par les estérases, suivant l'un des trois mécanismes suivants :

- le mécanisme à chaîne unique dans lequel l'enzyme agit sur tous les côtés du substrat de la chaîne polymère, le substrat est progressivement déméthylé jusqu'à ce que l'enzyme atteigne l'extrémité de la chaîne ou un résidu qui bloque sa progression pour se dissocier du complexe enzyme-substrat (Cameron et al. 2008).
- le mécanisme à chaînes multiples où les enzymes catalysent une seule réaction de déméthylation avant la dissociation du complexe enzyme-substrat qui s'associe à nouveau avec une autre molécule de GalA pour éliminer les groupes méthyles.
- le mécanisme d'attaques multiples dans lequel l'enzyme catalyse plusieurs réactions de déméthylation avant que le complexe enzyme-substrat ne se dissocie. Le mécanisme d'attaques multiples est un mécanisme intermédiaire aux deux premiers (Cameron et al. 2008).

Le mécanisme d'attaque des estérases de pectine varie en fonction de leur origine (Jayani, Saxena, Gupta 2005). Les estérases bactériennes produisent des HG via un mécanisme à la fois à chaîne unique et à attaques multiples tandis que les estérases fongiques attaquent de manière aléatoire par un mécanisme à chaînes multiples.

La deuxième étape de la pectinolyse est le clivage hydrolytique des liaisons  $\alpha$ -1,4-glycosidiques du squelette des substrats de pectine. Cette étape est la partie la plus importante de la dégradation de la pectine et implique l'action de différentes enzymes produites par divers micro-organismes. Les hydrolases (PMG et PG) agissent sur les liaisons  $\alpha$ -1,4-glycosidiques de la pectine hautement estérifiée, conduisant à la formation de 6-méthyl-D-galacturonate et de D-galacturonate, respectivement. Les lyases (PLY et PL) agissent ensuite sur les liaisons glycosidiques de l'acide polygalacturonique, formant des produits insaturés par réaction de transélimination (Figure 20a). En parallèle de l'activité des pectinases qui dégradent le squelette de la pectine, les enzymes de clivage éliminent les substituants des chaînes ramifiées de la pectine (Figure 20b). Le détail des principales réactions enzymatiques, à savoir l'hydrolyse, la désésterification et la déshydrogénation des GalA lors de la dégradation de la chaîne linéaire de la pectine est présenté dans la figure 21.

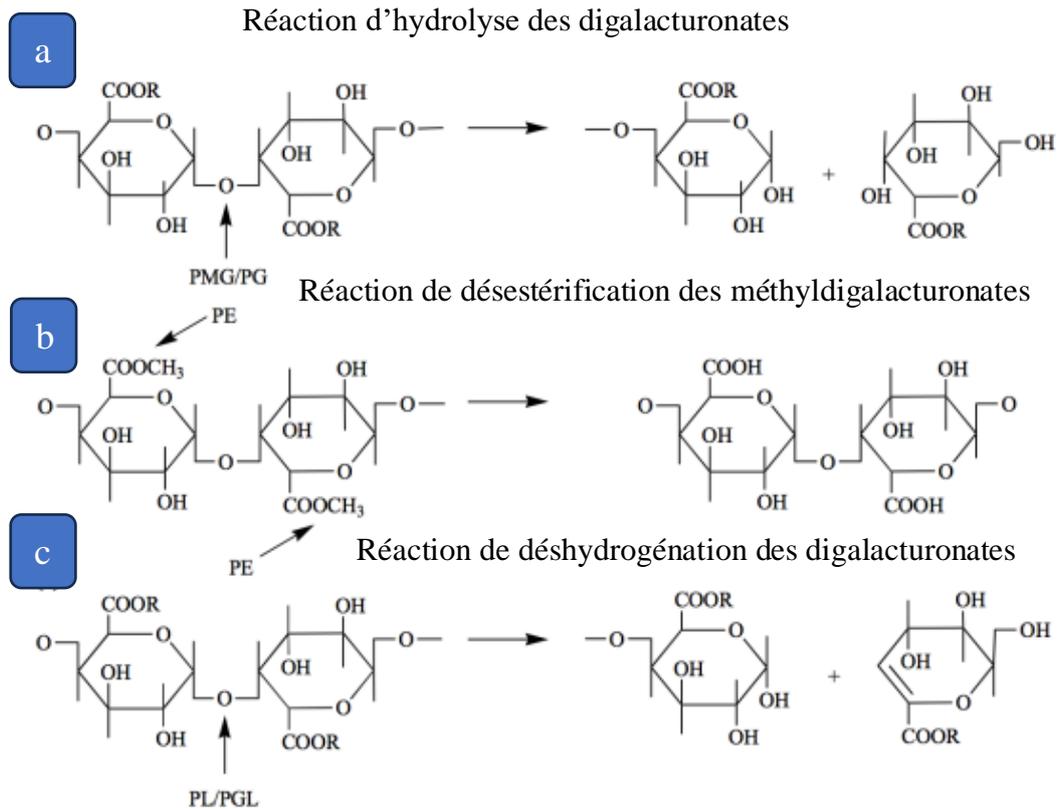


**Figure 20** – Mécanisme biochimique d'hydrolyse de la pectine (d'après Mohnen 2008)

a - Structure représentative des pectines et sites d'action des enzymes impliquées dans leur dégradation

b - Enzymes de clivage des substituants impliquées dans la dégradation du squelette HG et des chaînes latérales des RG I et II

AE = PAE : pectine acétyl-estérase, PGA : PG : polygalaturonase, PLY : pectate lyase, PME : polyméthylgalacturonase, PEL = PL : pectine lyase, Apif : apifuranose, Araf : arabinofuranose, GalA : acide galacturonique, Rha : rhamnose, Fuc : fucose, GlcA : acide glucuronique, Gal : galactose ; RGH : rhamnogalacturonane hydrolase, RHG : rhamnogalacturonane galacturonohydrolase, RGAE : rhamnogalacturonane acétylestérase, RGL : rhamnogalacturonane lyase, RRH : rhamnogalacturonane rhamnohydrolase



**Figure 21** - Réactions chimiques de dépolymérisations enzymatiques de la région HG (d'après Pedrolli et al. 2009)

a - Réaction d'hydrolyse des digalacturonates

PMG : polyméthylgalacturonase ; PG : polygalacturonase ; R = H pour PG et R = CH<sub>3</sub> pour PMG

b - Réaction de déstérification des méthyl digalacturonates

PE : PME : pectine méthyl-estérase ; PAE : pectine acétyl-estérase

c- Réaction de déshydrogénation des digalacturonates

PL : pectine lyase ; ; PGL : pectate lyase ; R = H pour PLY et R = CH<sub>3</sub> pour PL

## b. Population bactérienne pectinolytique

La pectine peut être dégradée par les bactéries pectinolytiques du rumen telles que *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Prevotella ruminicola*, *Lachnospira multipara*, *Streptococcus bovis* et *Succinivibrio dextrinosolvens* (Bryant, Small 1956). Certaines bactéries importantes digérant la cellulose du rumen, telles que *Ruminococcus albus* et *Fibrobacter succinogenes*, peuvent également dégrader la pectine par les pectate lyases sécrétées (Cai et al. 2010).

Les enzymes intervenant dans la dégradation des pectines et les bactéries capables de les synthétiser sont présentées dans le tableau 5.

Les bactéries pectinolytiques ruminales sont très diverses, elles sont représentées par 6 classes différentes, la majorité appartenant à l'ordre des *Bacillota*, qui comprend les *Clostridia*, classe la plus représentée avec *Butyrivibrio fibrosolvens*, *hungatei* et *proteoclasticus*, *Cellulosilyticum ruminicola*, *Eubacterium cellulosolvens*, *limosum* et *ruminantium*, *Lachnospira multipara*, *Ruminococcus albus* et *flavefaciens* ; les *Bacilli*, dont l'unique représentant est *Lactococcus lactis*. *Subs. lactis*, ainsi que la classe des *Negativicutes* avec *Selenomonas ruminantium* et *Selenomonas ruminantium subs. ruminantium*. Les autres bactéries décrites appartiennent à la classe des *Fibrobacteria* avec *Fibrobacter succinogenes* ; des *Bacteroidia* représentées par *Prevotella bryantii* et *ruminicola*. La majorité de ces bactéries sont polyvalentes puisqu'elles interviennent dans plusieurs réactions d'hydrolyse de la pectine via la synthèse de plusieurs enzymes effectrices. *Prevotella bryantii* et *Butyrivibrio proteoclasticus* jouent un rôle important dans la dégradation de la pectine puisqu'elles sont capables de sécréter la moitié des enzymes responsables de la dégradation de la pectine.

Les enzymes les plus fréquemment décrites dans le rumen sont les pectinases telles que les PME, endo-PG, endo-PLY et en particulier la  $\beta$ -galactosidase, permettant de libérer des unités GalA ainsi que les enzymes apectinolytiques RRH, féruloyl estérases et endo-arabinases. Les enzymes débranchantes n'ont pas été toutes recensées, ainsi, leur présence ou absence n'est pas évaluée. Contrairement à la cellulolyse ou l'hémicellulolyse, le produit majoritaire de la pectinolyse est le GalA, produit terminal de la dégradation fibrolytique de la pectine.

**Tableau 5** - Identification des bactéries pectinolytiques et leur prévalence (cf annexe 5)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à l'ordre des *Bacillota* ; Bactéries appartenant à la classe des *Bacteroidia* ; Bactéries appartenant à la classe des *Fibrobacteria*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)
PME EC 3.1.1.11	<i>Lachnospira multipara</i>	+
	<i>Prevotella bryantii</i> <i>Ruminococcus albus</i>	++
PAE (EC 3.1.1.6)		
Exo-PG (EC 3.2.1.67)		
Endo-PG EC 3.2.1.15	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	++
	<i>Selenomonas ruminantium</i> subs. <i>ruminantium</i>	+
Exo-PLY (EC 4.2.2.9)		
Endo-PLY EC 4.2.2.2	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Prevotella bryantii</i> <i>Ruminococcus albus</i>	++
Endo-PL (EC 4.2.2.10)		
$\alpha$ -galactosidase (EC 3.2.1.22)		
$\beta$ -galactosidase EC 3.2.1.23	<i>Butyrivibrio hungatei</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Cellulosilyticum ruminicola</i>	++
	<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	+
	<i>Eubacterium limosum</i>	+
	<i>Eubacterium ruminantium</i>	+
	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	++
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	+
	<i>Prevotella bryantii</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Ruminococcus flavefaciens</i> <i>Selenomonas ruminantium</i>	++
RRH (EC 3.2.1.40)	<i>Prevotella bryantii</i>	++
RGH (EC 3.2.1.171)		
Féruloyl estérase (FAE) EC 3.1.1.73	<i>Prevotella bryantii</i> <i>Prevotella ruminicola</i>	++
Endo-arabinanase EC 3.2.1.99	<i>Prevotella bryantii</i> <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	++
	<i>Prevotella bryantii</i> <i>Prevotella ruminicola</i>	

Remarque : les enzymes PMG et Exo-PL dont les EC ne sont pas connues, RGAE (EC 3.1.1.), RHG (EC 3.2.1.-) et RGL (EC 4.2.2.-) dont les EC font référence à une famille d'enzymes et non à une enzyme particulière ne sont pas renseignées dans le tableau.

Les bactéries pectinolytiques comprennent des bactéries décrites dans les processus de dégradation de la cellulose et de l'hémicellulose, ce sont les bactéries fibrolytiques capables de dégrader les glucides alimentaires des parois végétales, appartenant exclusivement à l'ordre des *Clostridia*, telles que *Butyrivibrio fibrisolvens*, *hungatei* et *proteoclasticus*, *Cellulosilyticum ruminicola*, *Eubacterium cellulosolvens*, *Prevotella bryantii* et *ruminicola* ainsi que *Ruminococcus albus* et *flavefaciens*. Ces bactéries sont donc capables de sécréter la majorité des enzymes nécessaires à la fragmentation hydrolytique des constituants des parois végétales. Leur action synergique permet probablement d'attaquer plusieurs constituants végétaux à la fois, via la sécrétion d'un ensemble d'enzymes fibrolytiques. Certaines bactéries sont exclusivement pectinolytiques telles que *Lachnospira multipara*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Selenomonas ruminantium* et *Selenomonas ruminantium subs. ruminantium*.

En termes d'abondance dans le rumen, les principales bactéries pectinolytiques sont *Prevotella bryantii* et *ruminicola* ainsi que *Butyrivibrio fibrosolvens*, *hungatei* et *proteoclasticus*.

Les espèces du genre *Ruminococcus* ainsi que *Fibrobacter succinogenes* hydrolysent la pectine mais ne l'utilisent pas pour la croissance car les gènes du métabolisme de l'acide galacturonique ne sont pas présents (Seshadri et al. 2018).

## 4. Hydrolyse de l'amidon

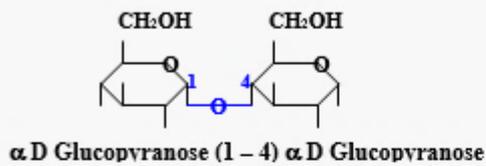
### a. Réactions biochimiques mises en jeu

L'amidon est la principale forme de réserve énergétique des végétaux. Dans les cellules végétales, l'amidon est stocké dans des particules insolubles partiellement cristallines appelées grains d'amidon. Ces granules sont retrouvés dans les chloroplastes, où l'amidon est synthétisé, et dans les amyloplastés qui en constituent le réservoir à long terme. L'amidon est un homopolysaccharide d'unités  $\alpha$ -D-glucopyranose dont l'hydrolyse conduit à l'obtention de glucose. Les deux constituants de l'amidon sont l'amylose (15-20 %), glucane de structure hélicoïdale et linéaire, constitué de 6000 à 10 000 résidus d' $\alpha$ -D-glucopyranose reliés en  $\alpha(1\rightarrow4)$ , et l'amylopectine (80-85 %), glucane ramifié constitué de dizaines de milliers de résidus d' $\alpha$ -D-glucopyranose reliés en  $\alpha(1\rightarrow4)$  et en  $\alpha(1\rightarrow6)$  tous les 24 à 30 résidus (Murray, R. K. et al. 1995). Les motifs de base de l'amidon sont le maltose, dioside d' $\alpha$ -D-glucopyranose reliés en  $\alpha(1\rightarrow4)$  et l'isomaltose, dont les résidus  $\alpha$ -D-glucopyranose sont liés en  $\alpha(1\rightarrow6)$  (Figure 22) (Bret, L., Delcamp, C. 2020).

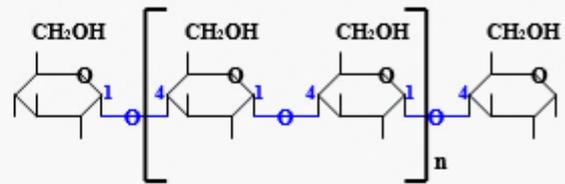
L'amylolyse est le processus enzymatique qui convertit l'amidon en oses plus simples, principalement le maltose, et finalement en glucose, elle est réalisée par l'hydrolyse enzymatique des liaisons  $\alpha$ -1. Contrairement aux herbivores non ruminants, chez les bovins, la dégradation de l'amidon se produit principalement dans le rumen, en partie dans l'intestin grêle, le reste étant fermenté dans l'intestin postérieur des ruminants. La dégradation de l'amidon dans chaque segment du tractus gastro-intestinal est influencée par les sources d'amidon (par exemple, le maïs, le blé, le sorgho, l'orge) et le traitement (humidification, chauffage ou pression mécanique) du grain. Les principaux micro-organismes dégradant l'amidon dans le rumen sont les bactéries amylolytiques, suivies par les protozoaires et les champignons (Huntington 1997). En raison de la structure ramifiée de l'amidon, les chaînes la constituant nécessitent d'être scindées en molécules plus courtes pour permettre sa dégradation. À cette fin, les bactéries ruminales génèrent des amylases, enzymes capables d'hydrolyser de manière spécifique les liaisons  $\alpha(1\rightarrow4)$  ou  $\alpha(1\rightarrow6)$  de l'amylose et de l'amylopectine. Ces amylases peuvent être généralement classées en trois catégories selon leur activité hydrolytique : 1) les endo-amylases dont l' $\alpha$ -amylase (EC 3.2.1.1) fait partie, 2) les exo-amylases incluant la  $\beta$ -amylase (EC 3.2.1.2), l' $\alpha$ -glucosidase (EC 3.2.1.20), la glucoamylase EC 3.2.1.3), et 3) les enzymes débranchantes : l'isoamylase (EC 3.2.1.68), la pullulanase (EC 3.2.1.41) et l'isopullulanase (EC 3.2.1.57) (Hua et al. 2022).

## 1. AMYLOSE

Motif de base : MALTOSE

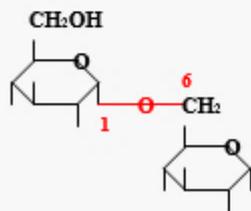
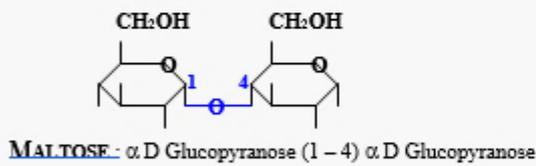


AMYLOSE : GLUCANE LINÉAIRE

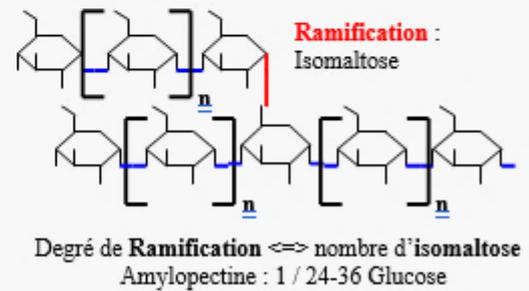


## 2. AMYLOPECTINE

Motifs de base : MALTOSE et ISOMALTOSE



AMYLOPECTINE : GLUCANE RAMIFIÉ



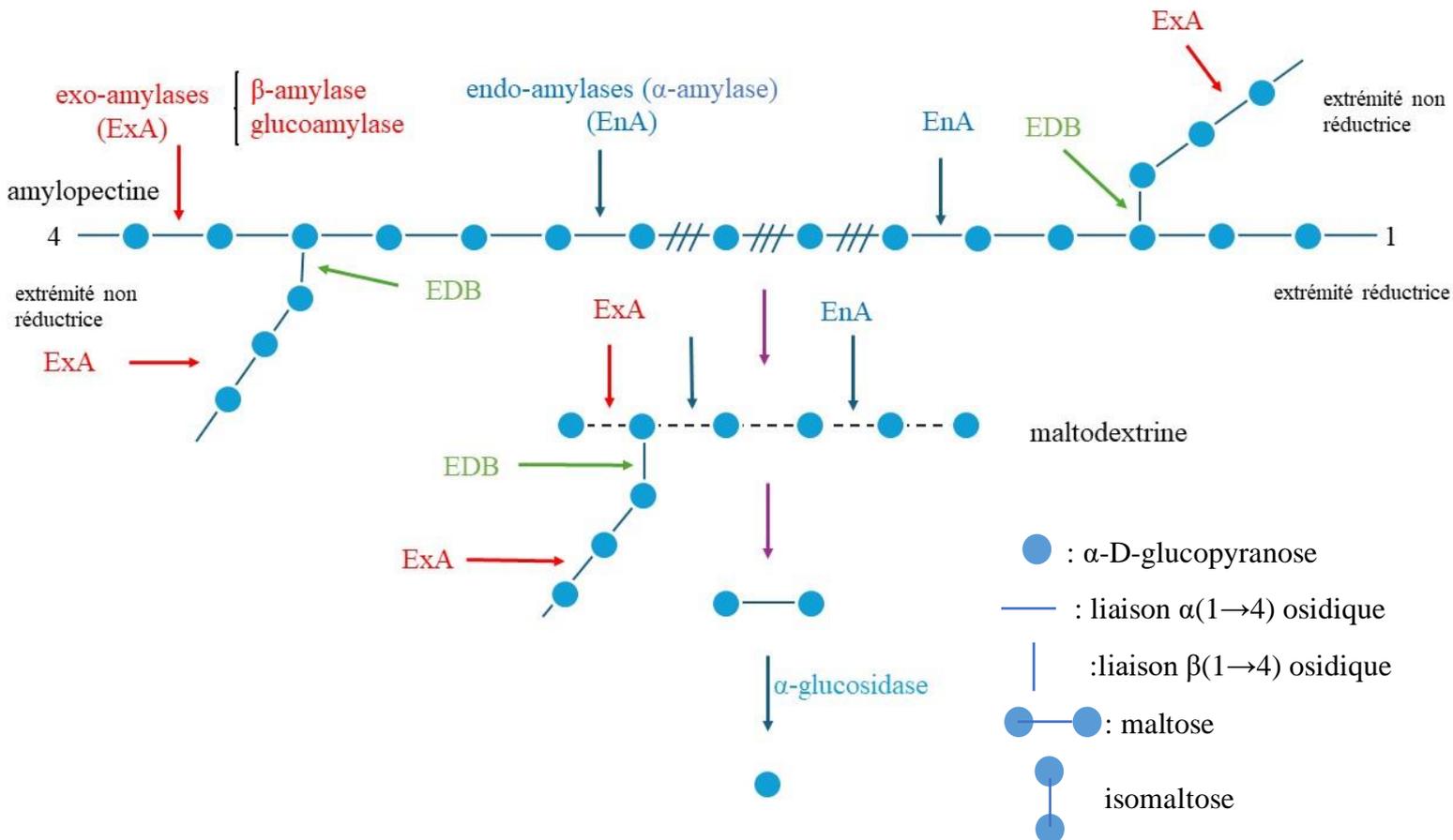
**Figure 22** - Mécanisme biochimique de dégradation de l'amidon (copyright Bret, L., Delcamp, C. 2020)

Les endo-amylases libérées par les bactéries dans le jus ruminal clivent les liaisons glycosidiques  $\alpha(1\rightarrow4)$  à l'intérieur du polymère d'amidon de manière aléatoire, conduisant à la production d'oligosides linéaires et ramifiés. L' $\alpha$ -amylase hydrolyse principalement les liaisons  $\alpha(1\rightarrow4)$  internes de l'amylose. Quelques types d' $\alpha$ -amylases sont également capables d'hydrolyser les liaisons  $\alpha(1\rightarrow6)$  de l'amylopectine (Anderson 2007). Leur action libère quelques résidus glucose mais surtout des résidus maltose, maltotriose (3 résidus  $\alpha$ -D-glucopyranose reliés par des liaisons  $\alpha(1\rightarrow4)$ ) et des maltodextrines (homoligoholosides d' $\alpha$ -D-glucopyranose reliés par des liaisons  $\alpha(1\rightarrow4)$  mais incluant aussi un motif isomaltose).

Les exo-amylases hydrolysent les liaisons  $\alpha(1\rightarrow4)$  à l'extrémité non réductrice de la molécule d'amidon, dont le produit final est une maltodextrine. La  $\beta$ -amylase est une exo-enzyme qui libère du maltose en hydrolysant les liaisons  $1\rightarrow4$ . Parce qu'elle ne peut pas hydrolyser les liaisons  $1\rightarrow6$ , il reste toujours des maltodextrines après la  $\beta$ -amylolyse. En revanche, les  $\alpha$ -glucosidases sont capables d'hydrolyser les liaisons  $\alpha(1\rightarrow4)$  ou  $\alpha(1\rightarrow6)$  à l'extrémité non réductrice en osides courts produits par d'autres enzymes. Les glucoamylases ont la capacité de dégrader les liaisons  $1\rightarrow4$  et  $1\rightarrow6$ , formant uniquement du glucose comme produit final.

Certaines enzymes débranchantes sont également capables de cliver la liaison  $\alpha(1\rightarrow6)$  glycosidique. Par exemple, les isoamylases, également appelées dextrinases intrabactériennes, rompent les liaisons de ramification  $1\rightarrow6$ . La pullulanase clive la liaison  $\alpha(1\rightarrow6)$  du maltotriose producteur de pullulane (polyholoside constitué d'unités de maltotrioses connectées entre elles par une liaison  $1\rightarrow6$ ) qui peut ensuite être hydrolysé par les isopullulanases produisant de l'isopanose, isomère du panose, triholoside de glucoses liés par une liaison  $\alpha(1\rightarrow6)$ -et  $\alpha(1\rightarrow4)$ . Le mécanisme de dégradation de l'amidon est présenté dans la figure 23.

Une partie de l'amidon échappe à la digestion ruminale pour être digéré dans l'intestin grêle grâce aux amylases pancréatiques. La fraction non digérée dépend de l'origine de l'amidon : elle est de 5 à 10 % pour le blé, 10 à 20 % pour le maïs et 50 % pour le sorgho, riche en tanins. Le pourcentage de digestion dépend de la composition des aliments (présence de composés phénoliques) et notamment du degré de ramification de l'amidon le constituant, donc de la proportion d'amylose et d'amylopectine : plus l'aliment considéré est ramifié, c'est-à-dire riche en amylopectine, plus il est difficile à digérer. En effet, le blé est composé de 72 à 80 % d'amylopectine tandis que le sorgho en est composé à 94 % (Sang et al. 2008). D'autre part, la fraction non digérée augmente lorsque la quantité d'amidon ingérée augmente.



**Figure 23 - Mécanisme de la dégradation de l'amidon**

- |                                     |                               |              |
|-------------------------------------|-------------------------------|--------------|
| pullulanase (EC 3.2.1.41)           | } Enzymes débranchantes (EDB) | } Hydrolases |
| isopullulanase (EC 3.2.1.57)        |                               |              |
| isoamylase (EC 3.2.1.68)            |                               |              |
| $\beta$ -amylase (EC 3.2.1.2)       | } ExA                         |              |
| glucoamylase (EC 3.2.1.3)           |                               |              |
| $\alpha$ -amylase (EC 3.2.1.1) EnA  |                               |              |
| $\alpha$ -glucosidase (EC 3.2.1.20) |                               |              |

## b. Population bactérienne amylolytique

Les bactéries amylolytiques représentent 39 % des bactéries ruminales. Les principales espèces amylolytiques sont *Streptococcus bovis*, *Ruminobacter amylophilus*, *Succinomonas amylolytica*, *Selenomonas ruminantium* et *Prevotella ruminicola* (Hua et al. 2022). Comme pour la cellulose et l'hémicellulose, la dégradation enzymatique bactérienne nécessite au préalable l'adhésion des bactéries aux particules alimentaires. Les bactéries amylolytiques tolèrent des pH plus acides (pH=5-6) que les bactéries cellulolytiques. *Streptococcus bovis* ne représente qu'un petit nombre de bactéries totales présentes dans le rumen. Lorsque les conditions sont favorables avec une grande disponibilité d'amidon ou d'oses simples, elle peut croître de manière explosive, ce qui entraîne une production élevée de lactate et une diminution du pH du rumen, pouvant entraîner une acidose.

L'ensemble des enzymes intervenant dans la dégradation de l'amidon et les bactéries capables de les synthétiser sont présentées dans le tableau 6.

**Tableau 6** - Identification des bactéries amylolytiques et leur prévalence (cf annexe 6)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à la classe des *Actinomycetia* ;

Bactéries appartenant à l'embranchement des *Bacillota* ; Bactéries appartenant à la classe des *Bacteroidia* ;

Bactéries appartenant à la classe des *Gammaproteobacteria*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)
<b><math>\alpha</math>-amylase</b> EC 3.2.1.1	<i>Actinomyces ruminicola</i>	+
	<i>Bifidobacterium ruminantium</i>	
	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	++
	<i>Clostridium beijerinckii</i>	+
	<i>Mitsuokella jalaludinii</i>	
	<i>Prevotella bryantii</i>	++
	<i>Prevotella ruminicola</i>	
	<i>Pseudobutyrvibrio xylanivorans</i>	+
	<i>Ruminobacter amylophilus</i>	
	<i>Ruminococcus bromii</i>	++
<i>Streptococcus bovis</i>	+	
<i>Succinomonas amylolytica</i>		
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>		
<b><math>\beta</math>-amylase</b> EC 3.2.1.2 <b>glucoamylase</b> EC 3.2.1.3		
<b>pullulanase</b> EC 3.2.1.41	<i>Bifidobacterium ruminantium</i>	+
	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	
	<i>Prevotella bryantii</i>	++
	<i>Prevotella ruminicola</i>	
	<i>Ruminococcus bromii</i>	
<i>Streptococcus bovis</i>	+	
<b>isopullulanase</b> EC 3.2.1.57 <b>isoamylase</b> EC 3.2.1.68		
<b><math>\alpha</math>-glucosidase</b> EC 3.2.1.20	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	++
	<i>Prevotella bryantii</i>	
	<i>Prevotella ruminicola</i>	

Les bactéries amylolytiques ruminales sont très diverses, elles sont représentées par 6 classes différentes, dont la plupart appartiennent à l'embranchement des *Bacillota*, comprenant la classe des *Clostridia* dont font partie *Butyrivibrio proteoclasticus*, *Clostridium beijerinckii*, *PseudoButyrivibrio xylanivorans*, *Ruminococcus bromii* et *Succinivibrio dextrinosolvans* ainsi que la classe des *Bacilli* représentée par *Streptococcus bovis* et celle des *Negativicutes* dont fait partie *Mitsuokella jaladudinii*. Les autres bactéries amylolytiques, moins nombreuses, appartiennent aux classes des *Actinomycetia*, représentée par *Actinomyces rumenicola* et *Bifidobacterium ruminantium*, à la classe des *Bacteroidia* comprenant *Prevotella bryantii* et *rumenicola* et pour finir à celle des *Gammaproteobacteria* dont font partie *Ruminobacter amylophilus* et *Succinomonas amylolytica*. La moitié d'entre elles sont polyvalentes dans la dégradation de l'amidon puisqu'elles produisent au moins deux enzymes aux fonctions différentes, à savoir *Bifidobacterium ruminantium*, *Butyrivibrio proteoclasticus*, *Prevotella bryantii* et *rumenicola*, *Ruminococcus bromii* et *Streptococcus bovis*. Cependant, aucune bactérie citée ici ne sécrète la totalité des enzymes mises en jeu dans l'amyolyse. Toutes ces bactéries présentent une activité exclusivement hydrolytique.

Les enzymes les plus fréquemment décrites sont au nombre de trois, à savoir des membres des endo-amylases, des  $\alpha$ -glucosidases et une enzyme débranchante, la pullulanase. Trois bactéries sont capables de sécréter à la fois ces trois enzymes : *Butyrivibrio proteoclasticus*, *Prevotella bryantii* et *rumenicola*. Ces bactéries sont présentes au début et à la fin du processus de l'amyolyse, ce qui suggère qu'elles sont également capables de participer à l'ensemble de la dégradation de l'amidon. L'abondance des bactéries capable de sécréter des endo-amylases suggère que les produits majeurs de l'hydrolyse bactérienne de l'amidon sont des maltodextrines, à l'image de la dégradation de la cellulose et de l'hémicellulose.

En termes d'abondance dans le rumen, les principales bactéries amylolytiques sont *Butyrivibrio proteoclasticus*, *Prevotella bryantii* et *rumenicola* ainsi que *Ruminococcus bromii*.

Seule *Butyrivibrio proteoclasticus* est à la fois fibrolytique et amylolytique. En effet, elle est capable de synthétiser des enzymes d'initiation et de terminaison des 4 processus de dégradation des glucides alimentaires vus précédemment. Cependant, la majorité des bactéries ruminales présentent une redondance fonctionnelle et interviennent dans plusieurs voies métaboliques. Ainsi, on peut supposer que les bactéries peuvent dégrader plusieurs composants végétaux à la fois et agissent en synergie pour favoriser la fragmentation hydrolytique des glucides alimentaires.

### III. FERMENTATIONS INTRABACTERIENNES

Après le processus initial de décomposition fibrolytique et amylolytique au cours duquel les glucides constitutifs et de réserve présents dans les végétaux sont dégradés en pentoses, en hexoses ou en acides uroniques, la deuxième phase du métabolisme glucidique débute dans le rumen. Cette étape est caractérisée par le processus de fermentation, un mécanisme complexe qui permet la dégradation des oses simples en source d'énergie métabolisable par les bovins. Les oses simples issus de l'hydrolyse bactérienne des glucides alimentaires complexes ainsi que les oses hydrosolubles des vacuoles des cellules végétales sont fermentés en pyruvate lui-même ensuite converti en AGV, source d'énergie métabolique de l'hôte, en acide lactique et en gaz (principalement du dioxyde de carbone et du méthane). Les intermédiaires issus du processus de fermentation tels que le dihydrogène, le formiate, le succinate et le lactate ne s'accumulent pas car ils sont rapidement métabolisés en produits finaux de fermentation par les bactéries ruminales.

La fermentation est réalisée selon plusieurs voies distinctes par les bactéries ruminales : la glycolyse, la voie d'Entner-Doudoroff, la voie des pentoses phosphates, la voie phosphocétolase ou hétérolactique et la voie Bifidobacterium (Hackmann et al. 2017). Nous étudierons uniquement les voies les plus représentées par le métabolisme des bactéries ruminales, à savoir la glycolyse, la voie d'Entner-Doudoroff et la voie des pentoses phosphates (Hackmann et al. 2017). Les voies phosphocétolase et Bifidobacterium sont des voies métaboliques alternatives de la glycolyse produisant de l'acétyl-phosphate et du glycéraldéhyde-3-phosphate (GAP) à partir de glucose-6-phosphate (G6P). La voie phosphocétolase est réalisée principalement par des bactéries du genre *Lactobacillus* en présence de faibles concentrations de glucose. La voie Bifidobacterium est réalisée uniquement par des bactéries appartenant au genre *Bifidobacterium* et conduit à la formation finale de lactate.

La digestion ruminale est essentiellement d'origine microbienne. Les espèces bactériennes fermentatives comprennent toutes les bactéries décrites dans le rumen. Elles sont classées selon les substrats utilisés et les produits terminaux obtenus. Ainsi, les bactéries fibrolytiques et amylolytiques sont également capables de fermenter les produits de leur hydrolyse.

Cependant, notre compréhension des voies de fermentation bactérienne dans le rumen repose principalement sur des mesures des flux de produits finaux, ou est déduite de cultures bactériennes pures ou mixtes *in vitro*. Cette base de connaissances repose également sur des

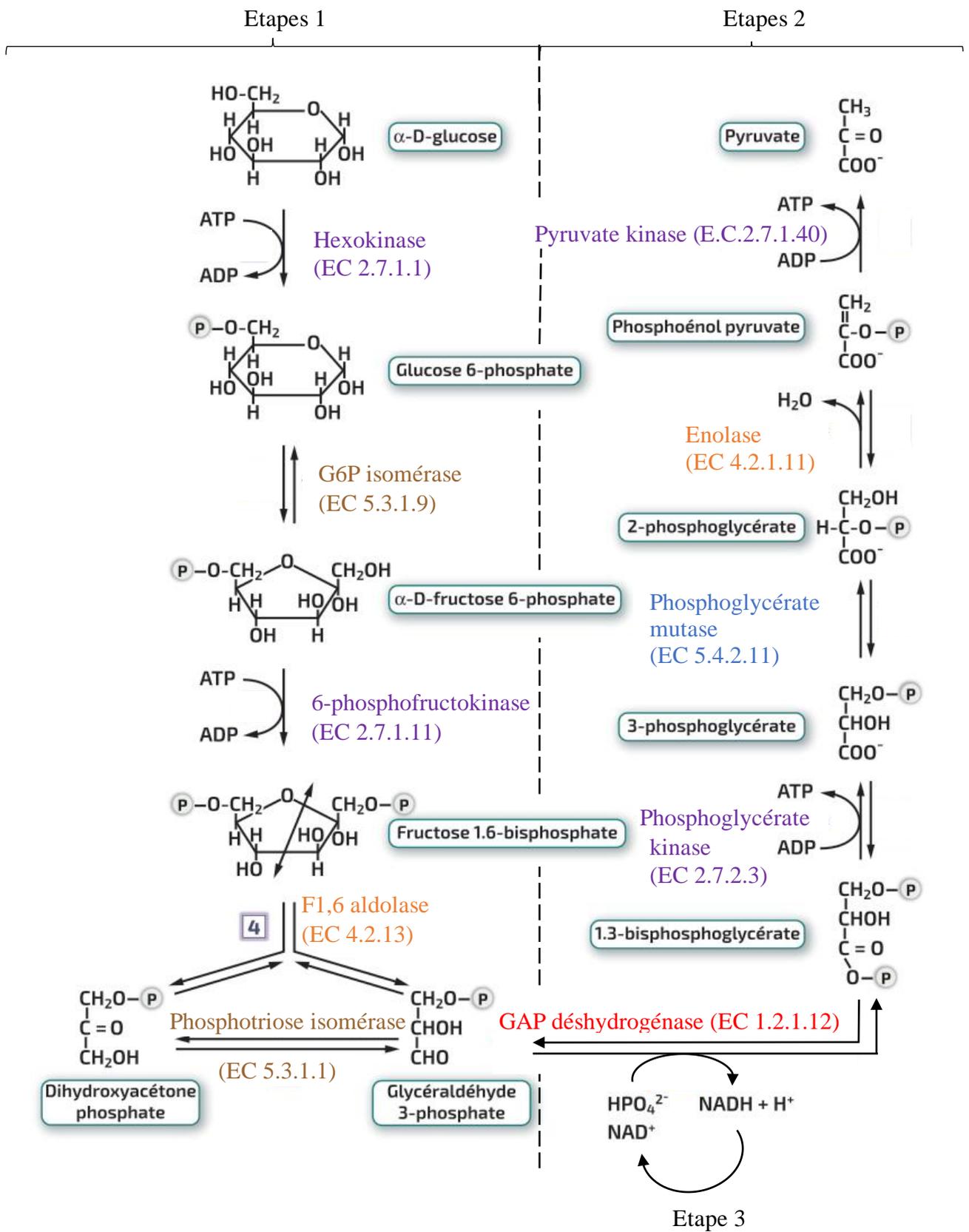
voies métaboliques de référence observées chez des bactéries « modèles » non ruminales. Il convient de noter que toutes les bactéries présentes dans le rumen ne possèdent pas l'intégralité des voies biochimiques usuellement reconnues. En effet, certaines voies biochimiques classiques ne suffisent pas à expliquer la synthèse de certains produits d'origine bactérienne (Hackmann et al. 2017). Ainsi, la reconstruction des voies métaboliques ruminales bactériennes peut être altérée si elle repose uniquement sur les voies biochimiques de référence. Par conséquent, la contribution relative de chaque espèce bactérienne à chaque voie métabolique, ainsi que leur rôle dans la production des produits finaux observés *in vivo*, demeurent encore largement méconnus (Seshadri et al. 2018).

## 1. Glycolyse

### a. Réactions biochimiques mises en jeu

Les hexoses issus de l'hydrolyse fibrolytique et amylolytique sont absorbés par les bactéries et fermentés lors de la glycolyse, également appelée voie d'Embden-Meyerhof-Parnas. Elle constitue la voie majeure de fermentation anaérobie du glucose dans le rumen. Historiquement, la glycolyse était considérée comme l'unique voie du métabolisme du glucose dans la fermentation du rumen (Russell, Wallace 1997). Récemment, un examen des génomes de 48 bactéries du rumen complets à 99,5 % a montré que 27 % d'entre elles ne possèdent pas la totalité des gènes nécessaires à la voie glycolytique, ou que cette voie est incomplète (Hackmann et al., 2017). De plus, 11 % de ces bactéries codent pour plusieurs voies de catabolisme du glucose en dehors de la glycolyse. L'importance relative de chaque voie métabolique dépend non seulement de la présence de gènes codant pour les enzymes nécessaires dans les génomes microbiens, mais également de la composition de la communauté microbienne, de l'expression génique ainsi que de sa régulation.

La glycolyse a lieu dans le cytoplasme des bactéries où le glucose est acheminé au travers de la membrane plasmique grâce à des protéines de transport par diffusion facilitée. Il est ensuite oxydé en pyruvate via deux étapes enzymatiques principales (Figure 24). Le pyruvate participe ensuite à la formation des AGV : acétate, propionate et butyrate, selon le faciès bactérien.

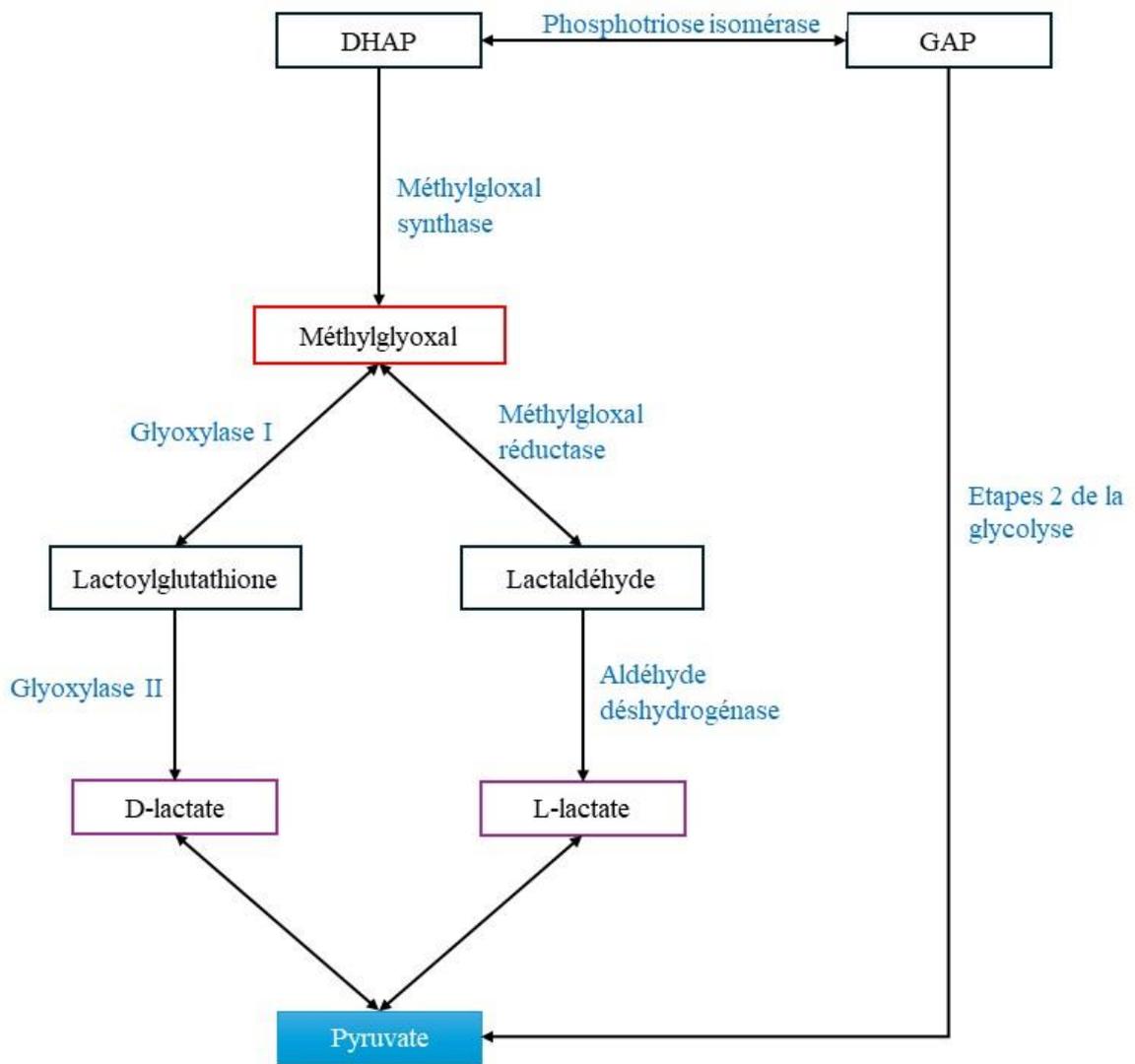


**Figure 24** – Mécanisme de la glycolyse :  tapes conduisant   la formation de pyruvate

La première étape de la glycolyse implique une série de réactions préliminaires nécessitant la dépense de deux molécules d'ATP par molécule de glucose. La première réaction est catalysée par l'hexokinase (EC 2.7.1.1) permettant la phosphorylation du glucose en G6P par consommation d'une molécule d'ATP. Le G6P est alors piégé à l'intérieur du cytoplasme de la bactérie où une isomérase, dont le nom systématique est la G6P isomérase (EC 5.3.1.9), le convertit en fructose-6-phosphate (F6P). Celui-ci est ensuite phosphorylé par la 6-phosphofructo kinase (EC 2.7.1.11) permettant la production de fructose-1,6-biphosphate (FBP) via la consommation d'une autre molécule d'ATP. Le FBP est ensuite scindé en deux molécules à 3 carbones par la fructose-1,6 aldolase (EC 4.2.13), à savoir le glycéraldéhyde-3-phosphate (GAP) et le dihydroxyacétone phosphate (DHAP). Celui-ci forme un réservoir du GAP par inter-conversion par la phosphotriose isomérase (EC 5.3.1.1).

Le GAP et le DHAP peuvent ensuite entrer dans la voie du méthylglyoxal, ramification de la glycolyse, permettant leur conversion en méthylglyoxal (également appelé pyruvaldéhyde), puis en pyruvate (Figure 25). Cependant, contrairement à la glycolyse, la voie du méthylglyoxal ne produit pas d'ATP. Cette voie reste minoritaire chez les bactéries ruminales (Hackmann et al., 2017).

La deuxième étape de la glycolyse marque la première d'une série de réactions d'oxydo-réduction avec l'oxydation du GAP en acide 1,3-bisphosphoglycérique (1,3-BPG) via la GAP déshydrogénase (phosphorylation) (EC 1.2.1.12). Cette enzyme permet la formation du NADH (utilisé à la troisième étape de la glycolyse) via la coenzyme NAD<sup>+</sup>, en acceptant 2e<sup>-</sup> et 2H<sup>+</sup> issus de l'oxydation couplée à la phosphorylation du GAP. Cette réaction et toutes les réactions ultérieures interviennent deux fois simultanément en raison de la présence de deux molécules de GAP issues de la première étape. La phosphoglycérate kinase (EC 2.7.2.3) catalyse la conversion du 1,3-BPG en 3-phosphoglycérate, formant une molécule d'ATP. Le 3-phosphoglycérate est converti en 2-phosphoglycérate par l'action de la phosphoglycérate mutase (2,3-diphosphoglycérate-dépendante) (EC 5.4.2.11), puis en phosphoénolpyruvate (PEP) via l'énolase phosphopyruvate hydratase (EC 4.2.1.11). La dernière étape de la glycolyse est la conversion du PEP en pyruvate, catalysée par le pyruvate kinase (E.C.2.7.1.40), aboutissant à la formation d'une deuxième molécule d'ATP. Au total, quatre molécules d'ATP sont synthétisées au cours de la deuxième étape. Ainsi, pour chaque molécule de glucose fermentée, le gain net est de deux molécules d'ATP. Une troisième étape permet de recycler les deux molécules de NADH, produites antérieurement, sous leurs formes oxydées (NAD<sup>+</sup>), de sorte qu'elles soient de nouveau disponibles pour accepter les électrons de la phosphorylation du GAP.



**Figure 25** – Voie du méthylglyoxal (d’après Weber, Kayser, Rinas 2005)

Différents organismes complètent cette fermentation de différentes manières. Par exemple, les bactéries lactiques réduisent le pyruvate en lactate via la lactate déshydrogénase. En plus de rétablir l'équilibre redox par le cycle  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ , cette étape permet également d'atteindre l'équilibre atomique, où les produits finaux de la fermentation sont égaux à ceux du substrat de départ, c'est-à-dire le glucose. Les produits finaux de la fermentation sont éliminés de la cellule en tant que déchets. Les organismes qui produisent un seul produit final à partir de la glycolyse, par exemple l'acide lactique, sont appelés homofermenteurs. Les hétérofermenteurs, quant à eux, produisent de multiples produits finaux tels que l'acétate, l'éthanol, le formiate et le  $\text{CO}_2$ .

#### b. Population bactérienne glycolytique

Les enzymes intervenant dans la glycolyse et les bactéries capables de les synthétiser sont présentées dans les tableaux 7a et b.

**Tableau 7a** - Identification des bactéries intervenant dans la première étape de la glycolyse et leur prévalence (cf annexe 7)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à la classe des *Actinomycetia* ; Bactéries appartenant à l'embranchement des *Bacillota* ; Bactéries appartenant à la classe des *Bacteroidia* ; Bactéries appartenant à la classe des *Campylobacteria* ; Bactéries appartenant à la classe des *Gammaproteobacteria* ; Bactéries appartenant à la classe des *Fibrobacteria* ; Bactéries appartenant à la classe des *Spirochaetia*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)		
<b>Hexokinase</b> EC 2.7.1.1	<i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. <i>lactilytica</i> <i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. <i>ruminantium</i>	+		
<b>G6P isomérase</b> EC 5.3.1.9	<i>Actinomyces ruminicola</i> <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> <i>Basfia succiniciproducens</i> <i>Butyrivibrio</i> <i>Clostridium beijerinckii</i> <i>Corynebacterium vitaeruminis</i> <i>Eubacterium cellulosolvens</i>	+		
	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	++		
	<i>Lachnospira multipara</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Megasphaera elsdenii</i> <i>Mitsuokella jalaludinii</i> <i>Porphyromonas levii</i> <i>Pseudobutyrvibrio xylanivorans</i> <i>Ruminobacter amylophilus</i>	+		
	<i>Ruminococcus bromii</i>	++		
	<i>Schwartzia succinivorans</i> <i>Selenomonas</i> <i>Succinivibrio dextrinosolvens</i> <i>Terrisporobacter glycolicus</i> <i>Treponema</i> <i>Wolinella succinogenes</i>	+		
	<b>F6P kinase</b> EC 2.7.1.11	<i>Actinobacillus succinogenes</i> <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> <i>Basfia succiniciproducens</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Porphyromonas levii</i> <i>Prauserella rugosa</i> <i>Ruminococcus bromii</i> <i>Selenomonas</i> <i>Treponema</i> <i>Wolinella succinogenes</i>	+	
	<b>F1,6 aldolase</b> EC 4.2.13	<i>Actinomyces ruminicola</i> <i>Bifidobacterium thermophilum</i> <i>Clostridium beijerinckii</i> <i>Corynebacterium vitaeruminis</i> <i>Eubacterium limosum</i> <i>Selenomonas</i>	+	
		<b>Phosphotriose isomérase (EC 5.3.1.1)</b>	Toutes les bactéries de l'annexe 7	

Remarque : les bactéries dont le nom d'espèce n'est pas précisé comprend la totalité des espèces du genre en question (cf annexe 2).

**Tableau 7b** - Identification des bactéries intervenant dans la deuxième étape de la glycolyse et leur prévalence (cf annexe 7)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à la classe des *Actinomycetia* ; Bactéries appartenant à l'embranchement des *Bacillota* ; Bactéries appartenant à la classe des *Bacteroidia* ; Bactéries appartenant à la classe des *Gammaproteobacteria*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)
<b>GAP déshydrogénase</b> <b>EC 1.2.1.12</b>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	+
<b>Phosphoglycérate kinase</b> <b>EC 2.7.2.3</b>	<i>Butyrivibrio</i>	++
	<i>Prevotella bryantii</i>	
	<i>Prevotella ruminicola</i>	
<b>Phosphoglycérate mutase</b> <b>EC 5.4.2.11</b>	<i>Actinobacillus succinogenes</i>	+
	<i>Actinomyces ruminicola</i>	
	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	
	<i>Basfia succiniciproducens</i>	
	<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	
	<i>Clostridium beijerinckii</i>	
	<i>Corynebacterium vitaeruminis</i>	
	<i>Enterococcus mundtii</i>	
	<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	
	<i>Eubacterium limosum</i>	
	<i>Lactococcus lactis</i>	
	<i>Prauserella rugosa</i>	
	<i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. <i>ruminantium</i>	
<i>Streptococcus bovis</i>		
<b>Phosphopyruvate hydratase</b> <b>EC 4.2.1.11</b>	Toutes les bactéries de l'annexe 7	
<b>Pyruvate kinase</b> <b>EC 2.7.1.40</b>	<i>Actinomyces ruminicola</i>	+
	<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	
	<i>Butyrivibrio</i>	
	<i>Corynebacterium vitaeruminis</i>	
	<i>Enterococcus mundtii</i>	
	<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	
	<i>Eubacterium limosum</i>	
	<i>Eubacterium ruminantium</i>	
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	
	<i>Selenomonas</i>	
	<i>Streptococcus bovis</i>	

Remarque : les bactéries dont le nom d'espèce n'est pas précisé comprend la totalité des espèces du genre en question (cf annexe 2).

Les bactéries ruminales sont presque toutes capables de fermenter le glucose lors de la glycolyse. Elles sont retrouvées dans l'intégralité des embranchements étudiés : les *Actinomycetota*, *Bacillota*, *Bacteroidota*, *Fibrobacterota*, *Campylobacterota*, *Proteobacteria* et *Spirochaetotia*. Aucune bactérie citée ici ne code l'ensemble des enzymes intervenant dans la voie de la glycolyse. Néanmoins, la majorité des espèces sont polyvalentes puisqu'elles sont capables de sécréter plusieurs enzymes de la fermentation glycolytique, à l'image des espèces des genres *Actinomyces*, *Basfia*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Corynebacterium*, *Eubacterium*, *Lactococcus*, *Ruminococcus*, *Selenomonas* et *Treponema* qui sécrètent au moins quatre enzymes intervenant dans la glycolyse.

Les bactéries glycolytiques les plus représentées sont celles appartenant à l'embranchement des *Bacillota*, qui sont également les plus abondantes dans le rumen., en particulier *Selenomonas ruminantium subsp. ruminantium*, capable de synthétiser 8 des 10 enzymes glycolytiques. Des bactéries fibrolytiques et amylolytiques telles que les bactéries appartenant aux genres *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Fibrobacter*, *Lactococcus*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Selenomonas*, *Streptococcus* et *Treponema* sont également capables de sécréter des enzymes glycolytiques. Ainsi, ces bactéries sont capables à la fois d'hydrolyser les polyholosides complexes et de les fermenter.

Les enzymes les plus fréquemment exprimées sont la G6P isomérase, la F6P kinase, la fructose-1,6 aldolase, la phosphotriose isomérase, la phosphoglycérate kinase, la phosphoglycérate mutase, la phosphopyruvate hydratase et la pyruvate kinase. Toutes les bactéries étudiées codant pour au moins une enzyme de la glycolyse présentent la pénultième enzyme de la voie glycolytique, l'énolase, également appelée phosphopyruvate hydratase, à l'exception de *Butyrivibrio hungatei* et *proteoclasticus* ainsi que *Prevotella ruminicola*. Or, plusieurs bactéries ruminales sont dépourvues de certaines enzymes de la glycolyse (Kelly et al. 2010). Cela peut s'expliquer par le fait que certaines d'entre elles codent pour d'autres voies de conversion du glucose en pyruvate, telles que la voie des pentoses phosphates ou encore la voie phosphocétolase, plus rare (Hackmann et al., 2017). Plus particulièrement, un certain nombre de bactéries ne présentent pas d'énolase identifiable, correspondant à l'avant-dernière étape enzymatique de la glycolyse, conservée dans tous les domaines de la vie. Les souches bactériennes ne possédant pas d'énolase sont rares (<0,5 % du total) et une forte proportion de ces souches sont des isolats du rumen appartenant au genre *Butyrivibrio*, *Prevotella* ainsi que des membres non caractérisés de la famille des *Lachnospiraceae* (Seshadri et al. 2018). Dans le genre *Butyrivibrio*, environ la moitié des souches séquencées sont dépourvues d'énolase, tandis que certaines présentent une forme tronquée. Bien que l'avantage adaptatif conféré par

la perte d'énolase ne soit pas clair, il existe un lien possible avec le métabolisme du pyruvate et la production de lactate. En effet, plusieurs souches de *Butyrivibrio* énolase négatives ne produisent pas de lactate et sont également dépourvues du gène de la L-lactate déshydrogénase (Seshadri et al. 2018).

## 2. Voie des pentoses phosphates

### a. Réactions biochimiques mises en jeu

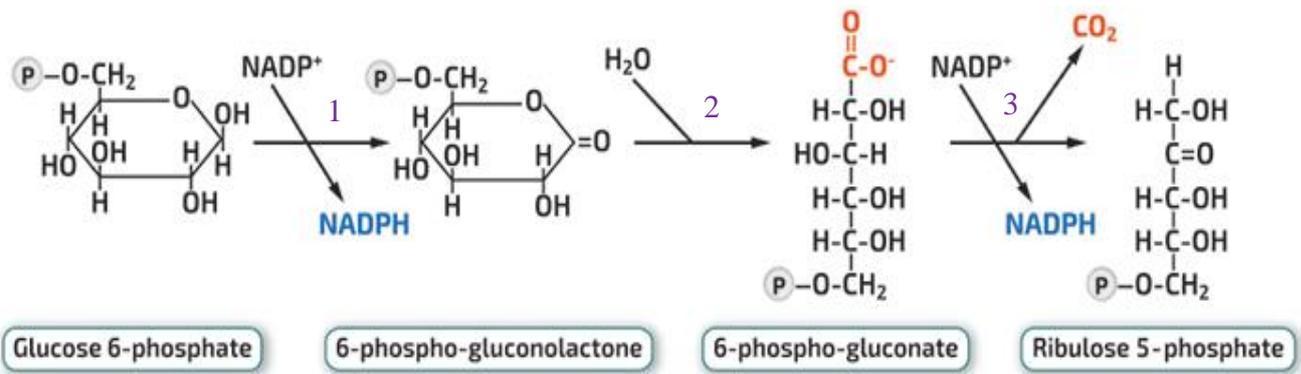
La voie des pentoses phosphates (PPP) est une voie métabolique alternative à la glycolyse, permettant d'une part l'utilisation des pentoses issus de l'hydrolyse des hémicelluloses tels que le D-xylose, le D-ribose et le L-arabinose ainsi que l'utilisation des hexoses issus de l'hydrolyse fibrolytique et amylolytique d'autre part.

L'utilisation des pentoses est favorisée en absence de glucose. Cependant, en sa présence, l'expression des perméases permettant le passage des pentoses est inhibée. La PPP représente une voie anaérobie d'oxydation directe du glucose, réalisée au sein du cytoplasme des bactéries. Elle est divisée en deux branches : oxydative et non oxydative (Figure 26). La PPP permet la conversion du G6P en 6-phosphogluconate, produisant du NADPH, indispensable aux réactions réductrices de biosynthèse (en particulier, lors de la synthèse des acides gras) et du ribulose-5-phosphate, précurseur de la synthèse des nucléotides, des acides nucléiques et de coenzymes.

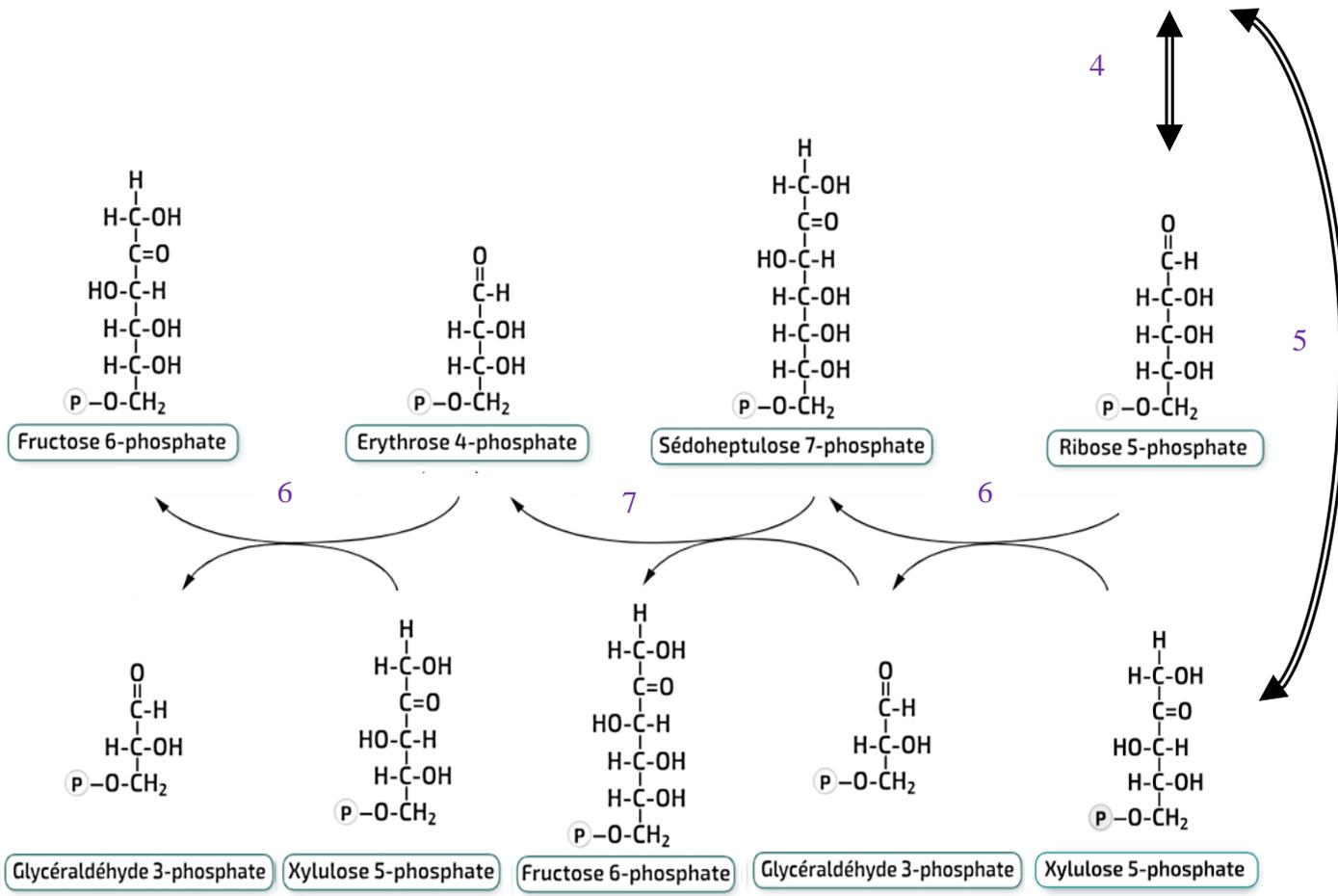
Le G6P étant à la fois le substrat de la voie des PPP et de la glycolyse, le choix relatif entre ces deux voies dépend des exigences cellulaires ponctuelles en énergie métabolique (ATP) et en précurseurs biosynthétiques (NADPH et ribose 5-phosphate). Alors que la glycolyse est ralentie lorsque la charge énergétique est élevée, la voie des pentoses phosphates est inhibée par une concentration élevée de NADPH et par les intermédiaires de la biosynthèse des acides gras.

La voie des PPP est composée de deux phases : la première est une phase oxydative irréversible qui permet la formation de NADPH par réduction du  $\text{NADP}^+$  et la seconde est une phase non oxydative réversible qui permet la synthèse du ribose.

Phase oxydative



Phase non oxydative



**Figure 26 - Mécanisme de la voie des pentoses phosphates**

Les enzymes catalysant chaque étape sont les suivantes :

- (1) **G6P déshydrogénase (EC 1.1.1.49)**
- (2) **6-phosphogluconolactonase (EC 3.1.1.31)**
- (3) **6-phosphogluconate déshydrogénase (NADP<sup>+</sup>-dépendante) (EC 1.1.1.44)**
- (4) **ribose-5-phosphate isomérase (EC 5.3.1.6)**
- (5) **ribulose-phosphate 3-épimérase (E.C.5.1.3.1)**
- (6) **transaldolase (E.C.2.2.1.2)**
- (7) **transcétolase (E.C.2.2.1.1)**

Lors de la phase oxydative, le G6P est converti en ribulose-5-phosphate tandis que deux molécules de NADP<sup>+</sup> sont réduites en NADPH. La première étape est une réaction d'oxydo-réduction catalysée par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (EC 1.1.1.49), permettant la production du premier NADPH et de la 6-phospho-gluconolactone. Cette lactone est ensuite hydrolysée par la 6-phosphogluconolactonase (EC 3.1.1.31), permettant la synthèse de 6-phosphogluconate. Celui-ci subit d'abord une oxydation catalysée par la 6-phosphogluconate déshydrogénase (NADP<sup>+</sup>-dépendante) (EC 1.1.1.44) produisant un pentose phosphate, le ribulose-5-phosphate, et générant une seconde molécule de NADPH, avant de subir une décarboxylation spontanée. Le ribulose-5-phosphate subit ensuite une isomérisation catalysée par la ribose-5-phosphate isomérase (EC 5.3.1.6), produisant le ribose-5-phosphate, précurseur de la biosynthèse des nucléotides, ou une épimérisation catalysée par la ribulose-phosphate 3-épimérase (E.C.5.1.3.1) qui mène au xylulose-5-phosphate. A ce stade, le G6P a été converti en un pentose phosphate avec libération de deux NADPH et un CO<sub>2</sub>. Cependant, si la cellule nécessite plus de NADPH que de ribose 5-phosphate, le segment non oxydatif se poursuit par une série de trois réactions conduisant au GAP et au F6P, intermédiaires de la glycolyse.

La phase non oxydative forme deux molécules de F6P et une molécule de GAP à partir de trois molécules de ribulose 5-phosphate générées lors de la première phase. Le F6P peut être utilisé pour reformer du G6P afin de recommencer la première phase oxydative. Cette phase est catalysée par deux enzymes, la transaldolase (E.C.2.2.1.2) et la transcétolase (E.C.2.2.1.1), qui agissent sur des oses-phosphates (aldoses et cétooses) à 3, 4, 5, 6 ou 7 atomes de carbone et catalysent des réactions de transfert de deux atomes de carbone (transcétolisation) ou de trois atomes de carbone (transaldolisation).

Elles ont comme substrats et produits :

- le GAP (triose) ;
- l'érythrose-4-phosphate (tétrose) ;
- le ribose-5-phosphate et le xylulose-5-phosphate (pentoses) ;
- le fructose-6-phosphate (hexose) ;
- le sédoheptulose-7-phosphate (heptose).

Ces différents oses-phosphates sont utilisés dans diverses voies métaboliques : le fructose et le GAP dans la glycolyse, l'érythrose dans la synthèse des acides aminés aromatiques, le ribose dans celle des nucléotides et le sédoheptulose dans celle du lipopolysaccharide de la paroi bactérienne (Stincone et al. 2015).

## b. Population bactérienne

La population bactérienne responsable de la synthèse des enzymes de la voie des PPP est présentée dans les tableaux 8a et b.

Les bactéries ruminales capables d'utiliser la voie des PPP sont nombreuses et diverses. Elles appartiennent à 8 classes différentes, dont la plupart appartiennent à l'embranchement des *Bacillota*, comprenant la classe des *Clostridia* dont font partie *Butyrivibrio hungatei* et *proteoclasticus*, *Eubacterium cellulosolvens*, *limosum* et *ruminatum*, *Lachnospira multipara*, *Pseudobutyrvibrio ruminis* et *xylanivorans*, *Ruminococcus albus*, *bromii* et *flavefaciens* ainsi que la classe des *Bacilli* représentée par *Enterococcus mundtii* et *Streptococcus bovis* et celle des *Negativicutes* dont fait partie *Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas ruminantium*, *Selenomonas ruminantium subsp. ruminantium* et *lactilytica*, *Succiniclasticum ruminis*. ainsi que *Schwartzia succinivorans*. Les autres bactéries de la voie des PPP, moins nombreuses, appartiennent aux classes des *Actinomycetia*, représentée par *Bifidobacterium adolescentis*, *Prauserella rugosa*, *Ruminobacter amylophilus*, à la classe des *Bacteroidia* comprenant *Bacteroides thetaiotamicron*, *Prevotella bryantii* et *ruminicola*, des *Gammaproteobacteria* dont font partie *Actinobacillus succinogenes* et *Basfia succiniciproducens* et pour finir à la classe des *Fibrobacteria* dont *Fibrobacter succinogenes* fait partie.

La plupart d'entre elles sont polyvalentes dans la voie des PPP puisqu'elles produisent au moins deux enzymes des sept enzymes intervenant dans la voie, à l'exception de *Bacteroides thetaiotamicron*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella bryantii* et *Schwartzia succinivorans*. Cependant, aucune bactérie citée ici ne sécrète la totalité des enzymes mises en jeu dans la voie des PPP. On remarque que seules quatre bactéries, *Actinobacillus succinogenes*, *Eubacterium cellulosolvens*, *Schwartzia succinivorans* et *Succiniclasticum ruminis* ne produisent aucune enzyme glycolytique. Ainsi, ces bactéries semblent exclusives à la voie des PPP. Les bactéries ne codant pas d'énolases, *Butyrivibrio hungatei* et *proteoclasticus*, *Prevotella bryantii* et *ruminicola* produisent au moins une enzyme de la voie des PPP, ce qui suggère qu'elles puissent être capables d'utiliser cette voie alternative à la glycolyse.

Des bactéries fibrolytiques et amylolytiques telles que les bactéries appartenant aux genres *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Fibrobacter*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Selenomonas*, et *Streptococcus* sont également capables de sécréter des enzymes de la voie des PPP. Ainsi, ces bactéries sont capables à la fois d'hydrolyser les polyholosides complexes et de les fermenter.

**Tableau 8a** - Identification des bactéries de la phase oxydative de la voie des PPP et leur prévalence (cf annexe 8)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; *Bactéries appartenant à la classe des Actinomycetia* ; *Bactéries appartenant à l'embranchement des Bacillota* ; *Bactéries appartenant à la classe des Bacteroidia* ; *Bactéries appartenant à la classe des Gammaproteobacteria* ; *Bactéries appartenant à la classe des Fibrobacteria*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)
<b>G6P déshydrogénase (NADP<sup>+</sup>) (EC 1.1.1.49)</b>	<i>Prauserella rugosa</i>	+
<b>6-phosphogluconolactonase EC 3.1.1.31</b>	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	++
<b>Phosphogluconate déshydrogénase EC 1.1.1.44</b>	<i>Enterococcus mundtii</i> <i>Megasphaera elsdenii</i> <i>Prauserella rugosa</i> <i>Selenomonas</i> <i>Succiniclasticum ruminis</i>	+
<b>Ribose-5-P isomérase EC 5.3.1.6</b>	<i>Actinobacillus succinogenes</i>	+
	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	++
	<i>Basfia succiniciproducens</i> <i>Bifidobacterium adolescentis</i> <i>Enterococcus mundtii</i> <i>Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica</i> <i>Selenomonas ruminantium subsp. ruminantium</i> <i>Streptococcus bovis</i>	+
	<i>Butyrivibrio hungatei</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	++
	<i>Enterococcus mundtii</i> <i>Eubacterium cellulosolvens</i> <i>Eubacterium limosum</i> <i>Eubacterium ruminantium</i>	+
<b>Ribulose-P 3-épimérase EC 5.1.3.1</b>	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	++
	<i>Lachnospira multipara</i> <i>Megasphaera elsdenii</i> <i>Prauserella rugosa</i>	+
	<i>Prevotella bryantii</i> <i>Prevotella ruminicola</i> <i>Pseudobutyrvibrio ruminis</i> <i>Pseudobutyrvibrio xylanivorans</i>	++
	<i>Ruminobacter amylophilus</i>	+
	<i>Ruminococcus</i>	++
	<i>Schwartzia succinivorans</i> <i>Selenomonas</i> <i>Streptococcus bovis</i> <i>Succiniclasticum ruminis</i>	+

**Tableau 8b** - Identification des bactéries de la phase non oxydative de la voie des PPP et leur prévalence (cf annexe 8)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à l'embranchement des *Bacillota* ; Bactéries appartenant à la classe des *Bacteroidia* ; Bactéries appartenant à la classe des *Gammaproteobacteria*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)
Transcétolase EC 2.2.1.1	Enterococcus mundtii	+
	Eubacterium ruminantium	
	Prevotella ruminicola	++
	Schwartzia succinivorans	+
	Selenomonas	
	Streptococcus bovis	
Succiniclasticum ruminis		
Transaldolase EC 2.2.1.2	Actinobacillus succinogenes	+
	Bacteroides thetaiotaomicron	
	Basfia succiniciproducens	
	Butyrivibrio hungatei	++
	Butyrivibrio proteoclasticus	
	Enterococcus mundtii	+
	Eubacterium cellulosolvens	
	Eubacterium limosum	
	Eubacterium ruminantium	
	Streptococcus bovis	
Succiniclasticum ruminis		

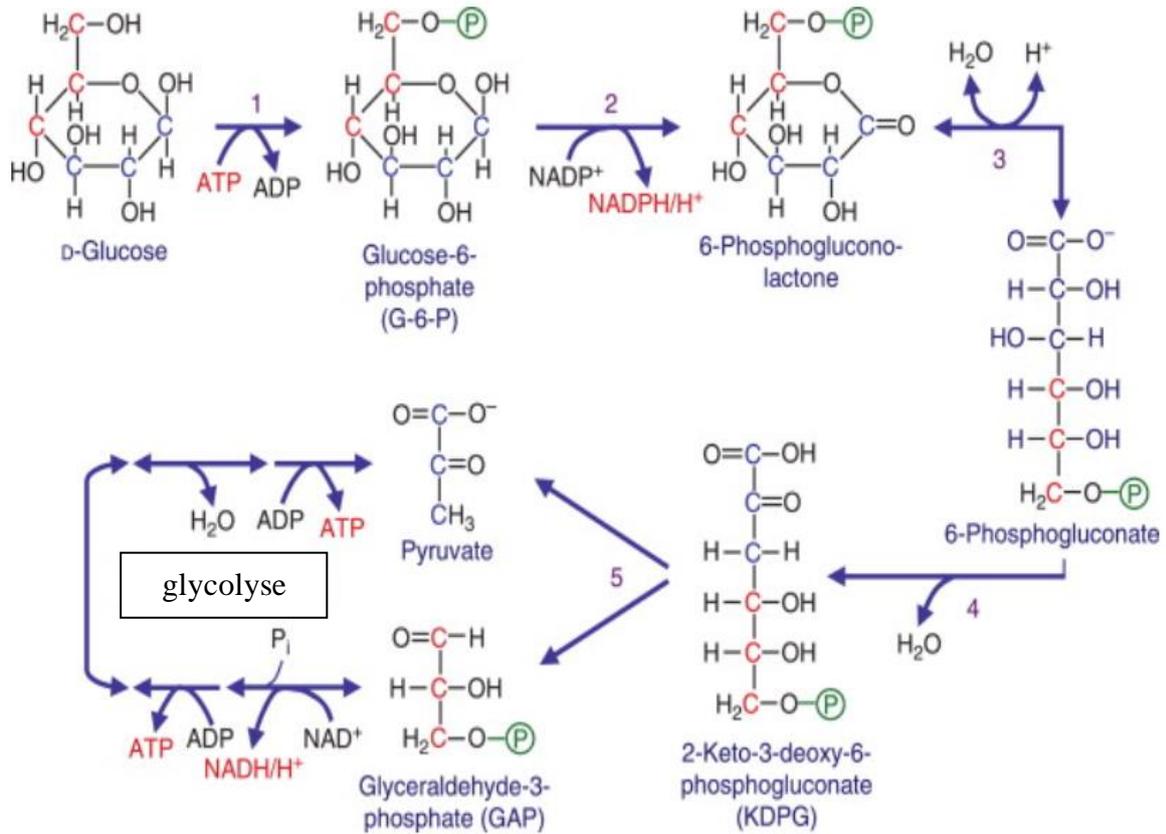
Les enzymes les plus fréquemment décrites sont les enzymes de la phase non oxydative de la voie des PPP. Seule *Enterococcus mundtii* est capable de sécréter l'ensemble de ces cinq enzymes, ce qui suggère qu'elle joue un rôle clé dans la voie des PPP. L'enzyme la plus largement exprimée est la ribulose-P 3-épimérase permettant la conversion du ribulose 5P en xylulose 5P ensuite fermenté pour former des AGV.

### 3. Voie d'Entner-Doudoroff

#### a. Réactions biochimiques mises en jeu

La voie d'Entner-Doudoroff (ED) est une voie métabolique alternative à la glycolyse classique pour la dégradation du glucose en pyruvate. Cette voie est uniquement présente chez les procaryotes. Elle permet l'absorption et la fermentation des hexoses issus de l'hydrolyse fibrolytique et amylolytique. La voie ED est moins courante que la glycolyse ou la voie des PPP. Elle a un rendement net de 1 ATP pour chaque molécule de glucose entrant dans la voie, ainsi que 1 NADH et 1 NADPH. En comparaison, la glycolyse a un rendement net de 2 ATP et 2 NADH par molécule de glucose.

Il existe quelques bactéries ruminales qui remplacent la glycolyse classique par la voie ED telles que *Butyrivibrio fibrisolvens* et *Prevotella ruminicola* (Marounek, Fliegrova, Bartos 1989). Cela pourrait être dû au manque d'enzymes essentielles à la glycolyse, notamment la phosphofructokinase. La plupart des organismes qui utilisent cette voie sont aérobies en raison du faible rendement en ATP par glucose mais elle est tout de même réalisée par certaines bactéries ruminales. Elle permet l'absorption et la fermentation des hexoses issus de l'hydrolyse cellulolytique, amylolytique et pectinolytique. Elle relie la branche oxydative de la voie des PPP à la glycolyse en réalisant le catabolisme du 6-phosphogluconate en pyruvate et en GAP. Le détail du mécanisme de cette voie est présenté dans la figure 27.



**Figure 27** – Mécanisme de la voie d'Entner – Doudoroff

Les enzymes catalysant chaque étape sont les suivantes :

- (1) hexokinase (EC 2.7.1.1)
- (2) G6P déshydrogénase (EC 1.1.1.49)
- (3) 6-phosphogluconolactonase (EC 3.1.1.31)
- (4) 6-phosphogluconate déshydratase (EC 4.2.1.12)
- (5) 2-céto-3-désoxy-6-phosphogluconate (KDPG) aldolase (EC 4.1.2.14)

La première étape de la voie d'ED est commune à la glycolyse avec la phosphorylation du glucose par une hexokinase (EC 2.7.1.1) pour former le G6P. Cette réaction consomme de l'ATP mais maintient la concentration de glucose à un niveau faible, favorisant ainsi le transport continu de celui-ci dans la cellule via les transporteurs membranaires plasmiques. La deuxième réaction est analogue à la première étape de la voie des PPP. Le G6P est converti en 6-phosphogluconolactone (6PGL) en présence de la G6P déshydrogénase (EC 1.1.1.49) avec la présence de co-enzyme NADP<sup>+</sup> qui sera réduit en NADPH. La 6PGL est ensuite convertie en acide 6-phosphogluconique par la 6-phosphogluconolactonase (EC 3.1.1.31). L'acide 6-phosphogluconique est converti en 2-céto-3-désoxy-6-phosphogluconate (KDPG) via la 6-phosphogluconate déshydratase (EC 4.2.1.12), libérant une molécule d'eau dans l'environnement. Le KDPG est ensuite converti en pyruvate et GAP par une scission moléculaire catalysée par la KDPG aldolase (EC 4.1.2.14). Pour le pyruvate, la voie ED se termine ici, il entre ensuite dans d'autres voies métaboliques telles que le cycle de Krebs.

Le GAP est converti en pyruvate et deux molécules d'ATP sont obtenues selon les mêmes mécanismes que la deuxième étape de la glycolyse. Finalement, cette voie métabolique permet la production nette d'une mole de GAP et d'une mole de pyruvate à partir d'une mole de 6-phosphogluconate.

#### b. Population bactérienne de la voie d'Entner-Doudoroff

La population bactérienne responsable de la synthèse des enzymes de la voie d'ED est présentée dans le tableau 9.

**Tableau 9** - Identification des bactéries de la voie d'Entner-Doudoroff et leur prévalence (cf annexe 9)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à la classe des *Actinomycetia* ; Bactéries appartenant à l'embranchement des *Bacillota*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)
Hexokinase EC 2.7.1.1	<i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. lactilytica	+
	<i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. ruminantium	
G6P déshydrogénase EC 1.1.1.49	<i>Prauserella rugosa</i>	+
6-phosphogluconolactonase EC 3.1.1.31	<i>Actinomyces ruminicola</i>	+
	<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	+
	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	++
	<i>Corynebacterium vitaeruminis</i>	+
<b>6-phosphogluconate déshydratase EC 4.2.1.12</b>		
KDPG aldolase EC 4.1.2.14	<i>Actinomyces ruminicola</i>	+
	<i>Butyrivibrio hungatei</i>	
	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	++
	<i>Eubacterium ruminantium</i>	
	<i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. lactilytica	+
	<i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. ruminantium	
	<i>Succinielasticum ruminis</i>	

Les bactéries de la voie d'ED sont moins nombreuses et moins diverses que celles intervenant dans la glycolyse et la voie des PPP. Les bactéries de la voie d'ED sont représentées par 3 classes différentes, dont la plupart appartiennent à l'embranchement des *Bacillota*, comprenant la classe des *Clostridia* dont font partie *Butyrivibrio hungatei* et *proteoclasticus* et *Eubacterium ruminantium* ainsi que la classe des *Negativicutes* dont font partie *Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica*, *Selenomonas ruminantium subsp. ruminantium* et *Succiniclasticum ruminis*. Les autres bactéries de la voie d'ED, moins nombreuses, appartiennent aux classes des *Actinomycetia*, représentée par *Actinomyces ruminicola*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Corynebacterium vitaeruminis* et *Prauserella rugosa*. Quatre bactéries sont capables de sécréter deux des quatre enzymes intervenant dans la voie d'ED : ce sont *Actinomyces ruminicola*, *Butyrivibrio proteoclasticus*, *Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica*, *Selenomonas ruminantium subsp. ruminantium*. Cependant, aucune bactérie citée ici ne sécrète la totalité des enzymes mises en jeu dans la voie d'ED. Seules les bactéries appartenant à l'espèce *Selenomonas ruminantium* sont capables de sécréter les enzymes présentes au début et à la fin du processus de la voie d'ED, ce qui suggère qu'elles sont également capables de participer à l'ensemble de la dégradation du glucose par cette voie. Les bactéries ruminales capables d'utiliser la voie d'ED sont peu nombreuses, ce sont des bactéries essentiellement fermentatives telles que les bactéries du genre *Selenomonas*, *Corynebacterium* et *Prauserella* qui ne permettent pas l'hydrolyse des oses complexes des végétaux.

Les enzymes les plus fréquemment décrites sont au nombre de trois, l'hexokinase commune à la glycolyse, la G6P déshydrogénase et la 6-phosphogluconolactonase communes à la voie des PPP ainsi que la KDPG aldolase, spécifique à la voie d'ED.

Les bactéries ne codant pas d'énolases, à savoir *Butyrivibrio hungatei* et *proteoclasticus*, sécrètent au moins une enzyme de la voie d'ED et de la voie des PPP, ainsi, il est possible qu'elles puissent être capables d'utiliser l'une de ces deux voies alternatives à la glycolyse.

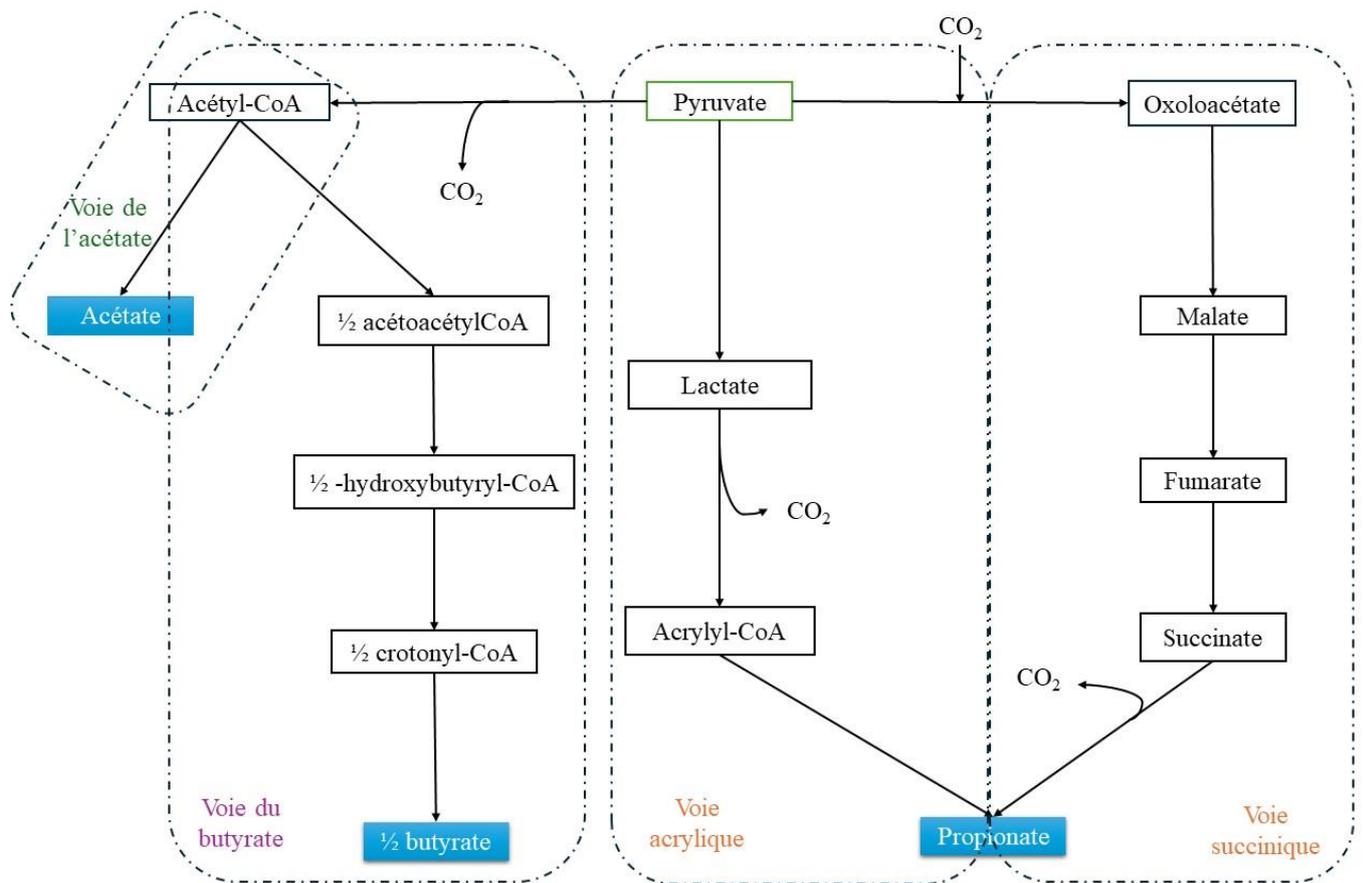
Des bactéries fibrolytiques et amylolytiques telles que les bactéries appartenant aux genres *Actinomyces ruminicola*, *Butyrivibrio hungatei* et *proteoclasticus* et *Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica*, *Selenomonas ruminantium subsp. ruminantium* sont également capables de sécréter des enzymes de la voie d'ED. Ainsi, ces bactéries sont capables à la fois d'hydrolyser les polyholosides complexes et de les fermenter.

## 4. Production des acides gras volatils

### a. Réactions mises en jeu

#### *a1. Devenir du pyruvate*

Le pyruvate formé par l'une des 3 voies vues précédemment est un métabolite central situé au carrefour de plusieurs voies métaboliques majeures. Il peut subir différentes transformations selon les besoins métaboliques de la cellule bactérienne. Il est *in fine* converti en différents AGV selon le profil bactérien intra-ruminal ainsi qu'en formiate et en dioxyde de carbone eux-mêmes convertis en méthane. Le rendement de production et la proportion relative de chaque AGV varie selon le régime alimentaire : ils dépendent de la quantité, de la nature et de la disponibilité des substrats à fermenter (Fonty, Chaucheyras-Durand 2007). Avec des rations équilibrées, il est estimé que l'acétate représente entre 60 et 65 % des AGV ruminiaux, le propionate entre 18 à 20 %, le butyrate entre 10 à 15 % et les AGV mineurs tels que le valérate, l'isobutyrate et l'isovalérate, entre 2 à 5 % (Bannink et al. 2006). Les principales voies métaboliques d'obtention des AGV dans le rumen sont présentées dans la figure 28.



**Figure 28** – Principales voies métaboliques ruminales de production des AGV

### a1.1. Conversion du pyruvate en acétylCoA

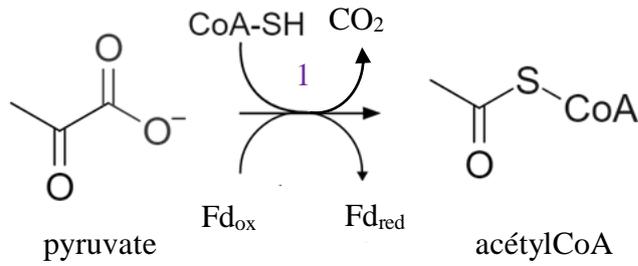
Le pyruvate peut être d'une part décarboxylé par oxydation en acétyl-CoA, CO<sub>2</sub> et en ferrédoxine réduite dans une réaction catalysée par la pyruvate oxydoréductase (EC 1.2.7.1) (Figure 29a), ou encore être décarboxylé en acétyl-CoA, CO<sub>2</sub> et NADH par le complexe pyruvate déshydrogénase (Figure 29b). Ce complexe réunit 3 enzymes agissant séquentiellement : une décarboxylase, la pyruvate déshydrogénase (EC 1.2.4.1), une acyltransférase, la dihydrolipoamide S-acétyltransférase (EC 2.3.1.12) et une oxydo-réductase, la dihydrolipoyl déshydrogénase (EC 1.8.1.4) (Hackmann et al. 2017). D'autre part, le pyruvate peut être décarboxylé en formiate et en acétyl-CoA par la lyase pyruvate-formate (EC 2.3.1.54) (Figure 29c) (Asanuma, Iwamoto, Hino 1999).

L'acétylCoA issu de la fermentation du pyruvate conduit à la formation d'acétate ou de butyrate en fonction de la nature des polyholosides dont le pyruvate est issu ainsi que des enzymes sécrétées.

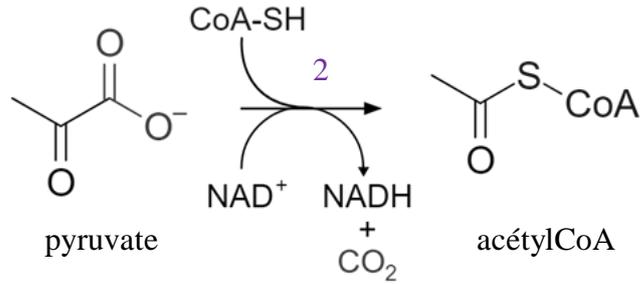
### a1.2. Autres modalités de conversion du pyruvate

Le pyruvate peut également être métabolisé en propionate selon deux voies distinctes : l'une passe par le succinate (voie des acides dicarboxyliques ou voie succinique), l'autre passe par le lactyl-CoA (voie réductrice indirecte ou voie acrylique), prédominante en milieu acide (Durand 1982). Dans la voie succinique, le pyruvate est carboxylé en oxaloacétate. L'oxaloacétate est ensuite réduit en malate, et le malate déshydraté en fumarate. Le fumarate est ensuite réduit en succinate, grâce à l'utilisation du NADH ou de la ferrédoxine réduite comme donneurs d'électrons intracellulaires (Asanuma, Iwamoto, Hino 1999). Ces réactions réversibles et communes au cycle de Krebs ne sont pas détaillées ici. Le succinate obtenu subit ensuite une activation en succinyl-CoA.

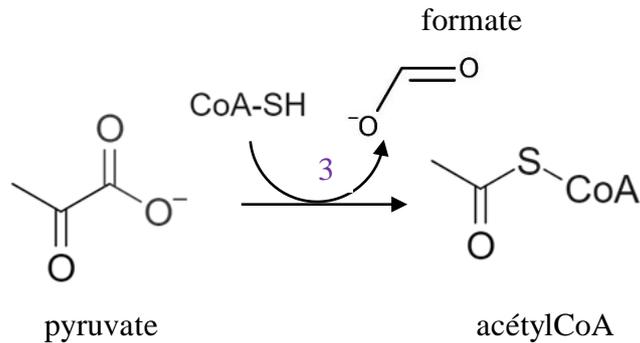
a



b



c



**Figure 29** – Conversion du pyruvate en acétylCoA par décarboxylation oxydative du pyruvate en acétyl-CoA (d’après Hackmann et al. 2017)

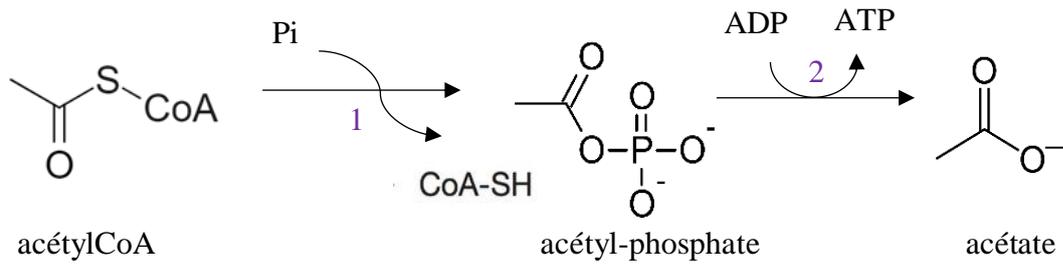
- a - par la pyruvate oxydoréductase
- b - par le complexe pyruvate déshydrogénase
- c - par la lyase pyruvate - formate

- 1) Pyruvate: ferrédoxine oxydoréductase (EC 1.2.7.1)
- 2) Complexe pyruvate déshydrogénase : décarboxylase : pyruvate déshydrogénase (EC 1.2.4.1) ; acyltransférase : dihydrolipoamide S-acétyltransférase (EC 2.3.1.12) ; oxydo-réductase : dihydrolipoyl déshydrogénase (EC 1.8.1.4)
- 3) Formate C-acétyltransférase (EC 2.3.1.54)

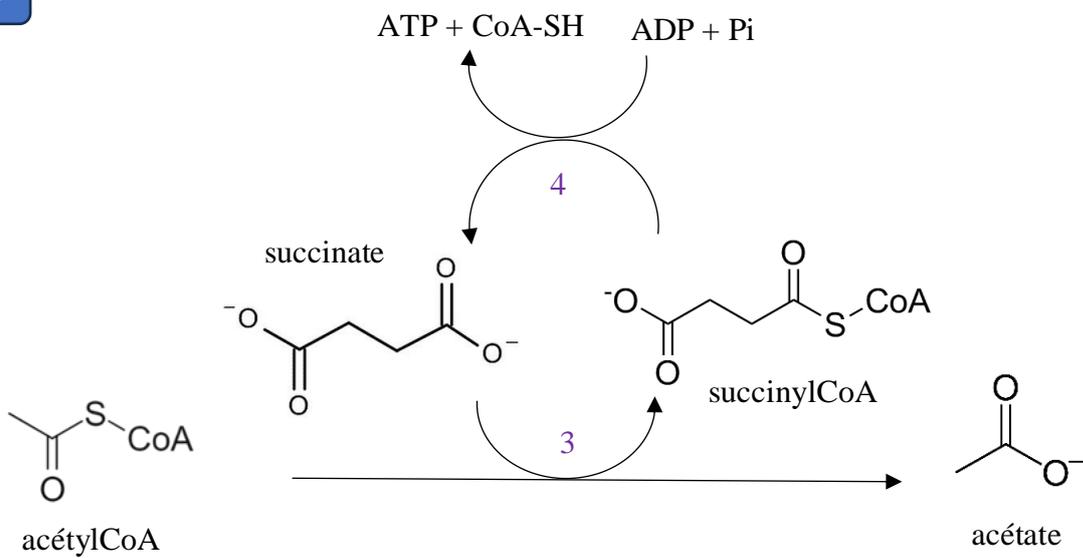
## *a2. Voie de l'acétate*

L'acétylCoA issu du pyruvate peut conduire d'une part à la formation d'acétate (principalement par la fermentation des bactéries fibrolytiques). Deux voies métaboliques distinctes aboutissant à la synthèse d'acétate ont été décrites dans le rumen : la première se déroule en deux étapes via la formation d'un intermédiaire, l'acétyl phosphate, avant d'obtenir l'acétate grâce à l'action séquentielle de deux enzymes, la phosphotransacétylase (EC 2.3.1.8) et l'acétate kinase (EC 2.7.2.1) (Figure 30a). Cette modalité a longtemps été considérée comme unique dans la production d'acétate à partir d'acétylCoA, et elle a été décrite pour la première fois en 1986 par Gottschalk. L'existence d'une deuxième voie d'obtention de l'acétate a été mise en évidence par des études métagénomiques. Il a été démontré que 8 % des bactéries capables de produire de l'acétate ne codent pas pour la voie habituelle citée précédemment. Au lieu de cela, elles semblent coder pour une voie jusqu'alors inconnue chez les bactéries (Hackmann et al. 2017). Cette deuxième modalité permet la synthèse directe d'acétate à partir de l'acétylCoA via l'action de deux enzymes, la succinyl-CoA:acétate CoA-transférase (EC 2.8.3.18) et la succinyl-CoA synthétase (formation d'ADP) (EC 6.2.1.5) (Figure 30b), par couplage avec une des réactions du cycle de Krebs. L'acétate est un précurseur des acides gras, et sa présence dans le rumen augmente le rendement en matière grasse du lait (Urrutia, Harvatine 2017).

a



b



**Figure 30** – Mécanismes de formation de l'acétate

a – voie classique décrite par Gottschalk

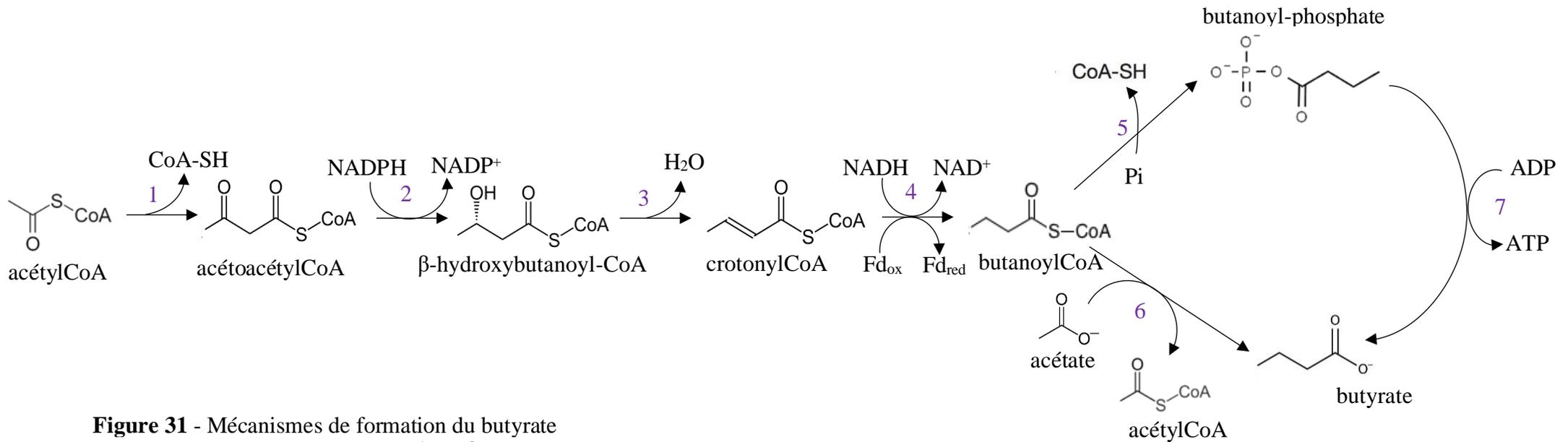
b – voie atypique décrite par Hackmann

- 1) phosphotransacétylase (EC 2.3.1.8)
- 2) acétate kinase (EC 2.7.2.1)
- 3) succinyl-CoA:acétate CoA-transférase (EC 2.8.3.18)
- 4) succinyl-CoA synthétase (formation d'ADP) (EC 6.2.1.5)

### *a3. Voie du butyrate*

L'acétylCoA peut également être converti en butyrate par un processus de  $\beta$ -réduction, qui implique plusieurs étapes métaboliques dans lesquelles des molécules d'acétyl-CoA sont successivement condensées pour former des chaînes plus longues d'acides gras (Russell, Wallace 1997). La première étape de fermentation de l'acétyl-CoA en butanoyl-CoA est commune à toutes les bactéries ruminales. Elle débute par une condensation de deux molécules d'acétyl-CoA pour donner de l'acétoacétyl-CoA catalysée par l'acétyl-CoA C-acétyltransférase (EC 2.3.1.9). L'acétoacétyl-CoA est ensuite réduit en 3-hydroxybutanoyl-CoA par la 3-hydroxybutyryl-CoA déshydrogénase (EC 1.1.1.157). Le 3-hydroxybutanoyl-CoA est ensuite déshydraté en crotonyl-CoA par l'énoyl-CoA hydratase (EC 4.2.1.17), lui-même réduit en butanoyl-CoA par la butyryl-CoA déshydrogénase (EC 1.3.8.1) (Figure 31).

Ultérieurement, deux voies distinctes conduisant à la formation du butyrate coexistent. Selon les bactéries et les enzymes qu'elles sécrètent, le butanoyl-CoA peut être converti en butanoyl-phosphate via la phosphate butyryltransférase (EC 2.3.1.19) et enfin en butyrate par la butyrate kinase (EC 2.7.2.7), voie usuelle de formation du butyrate ; ou bien le butanoyl-CoA est directement converti en butyrate par transfert de son groupement CoA vers l'acétate par la butyryl-CoA:acétate-CoA transférase (EC 2.8.3.8), voie atypique de synthèse du butyrate (Hackmann et al. 2017) (Figure 31).



**Figure 31** - Mécanismes de formation du butyrate

Les enzymes catalysant chaque étape d'une  $\beta$ -réduction sont les suivantes :

- 1) Acétyl-CoA C-acétyltransférase (EC 2.3.1.9)
- 2) 3-hydroxybutyryl-CoA déshydrogénase (EC 1.1.1.157)
- 3) Enoyl-CoA hydratase (EC 4.2.1.17)
- 4) Butyryl-CoA déshydrogénase (EC 1.3.8.1)
- 5) Phosphate butyryltransférase (EC 2.3.1.19)
- 6) Butyryl-CoA:acétate-CoA transférase (EC 2.8.3.8)
- 7) Butyrate kinase (EC 2.7.2.7)

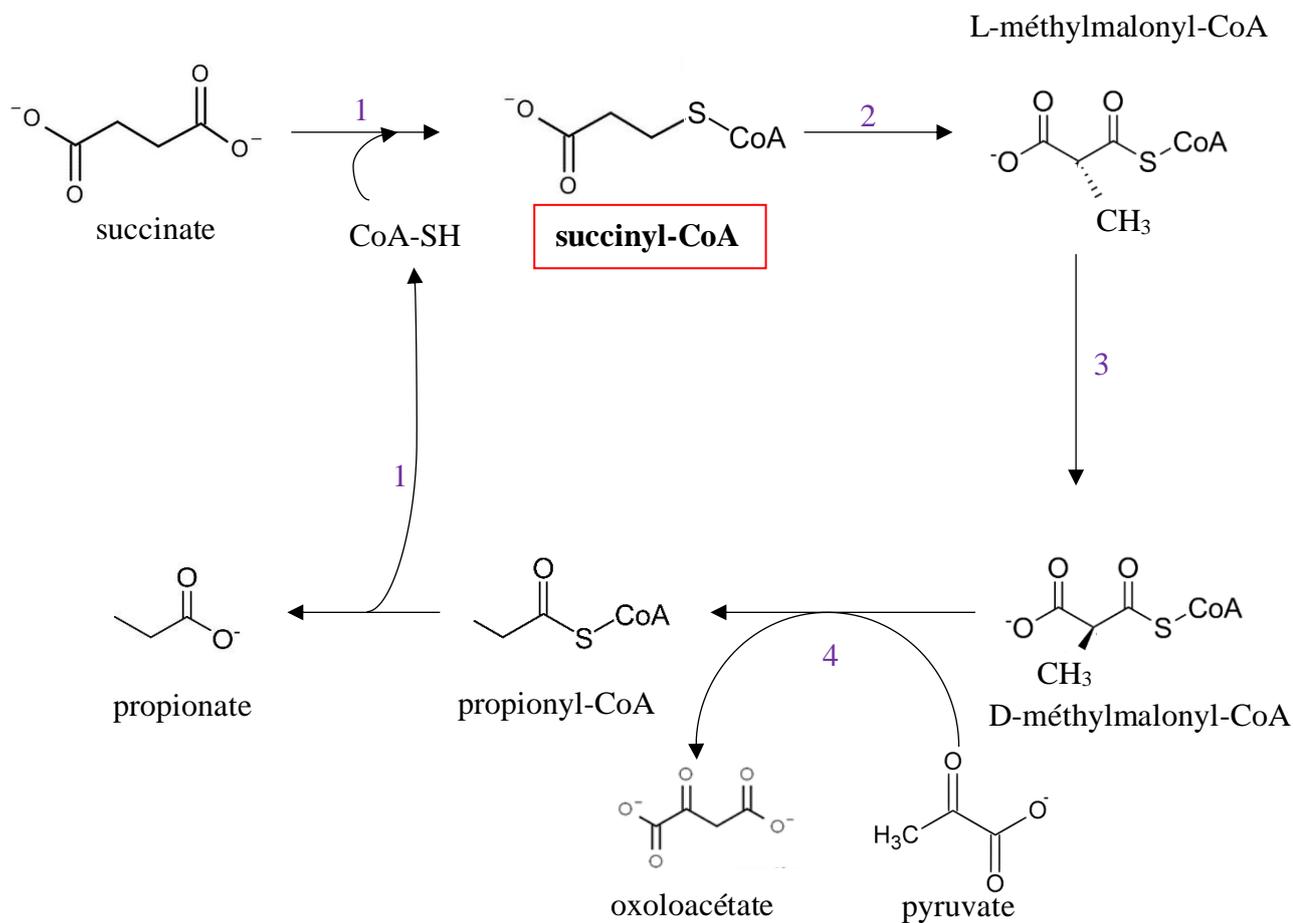
Fd = ferrédoxine, ox = oxydée, red = réduite

#### *a4. Voies du propionate*

Le propionate peut être obtenu via deux voies distinctes selon l'intermédiaire obtenu : la voie succinique et la voie acrylique.

Dans la voie succinique, le propionate est obtenu à partir de succinate converti en succinyl-CoA par la propionyl-CoA:succinate-CoA transférase (EC 2.8.3.27). Le succinylCoA subit ensuite un réarrangement de la chaîne carbonée, grâce à l'action d'une mutase, la méthylmalonyl-CoA mutase (EC 5.4.99.2), qui catalyse l'échange entre le carboxylate terminal et un hydrogène porté par le carbone en  $\beta$  grâce à l'intervention des tétrahydrofolates et de la vitamine B12 comme cofacteurs. Le L-méthylmalonylCoA ainsi obtenu est ensuite épimérisé en D-méthylmalonylCoA par la méthylmalonyl-CoA épimerase (EC 5.1.99.1). Puis, étant donné l'instabilité des  $\beta$ -cétocides tels que le méthylmalonylCoA, le carboxylate en  $\beta$  est transféré sur une molécule de pyruvate d'autant plus facilement que la réaction est catalysée par une carboxytransférase, la méthylmalonyl-CoA carboxytransférase (EC 2.1.3.1). Cette réaction génère donc d'une part de l'oxaloacétate qui peut rejoindre le cycle de Krebs, et d'autre part du propionylCoA. Le propionate est obtenu par transfert du CoA sur une molécule de succinate (Figure 32) (Russell, Wallace 1997). La voie succinique est la voie majoritaire de production du propionate (Fonty, Chaucheyras-Durand 2007).

La conversion du propionyl-CoA en propionate dans l'étape finale de la voie succinique est énergétiquement silencieuse car elle peut être couplée à l'activation du succinate en succinyl-CoA.



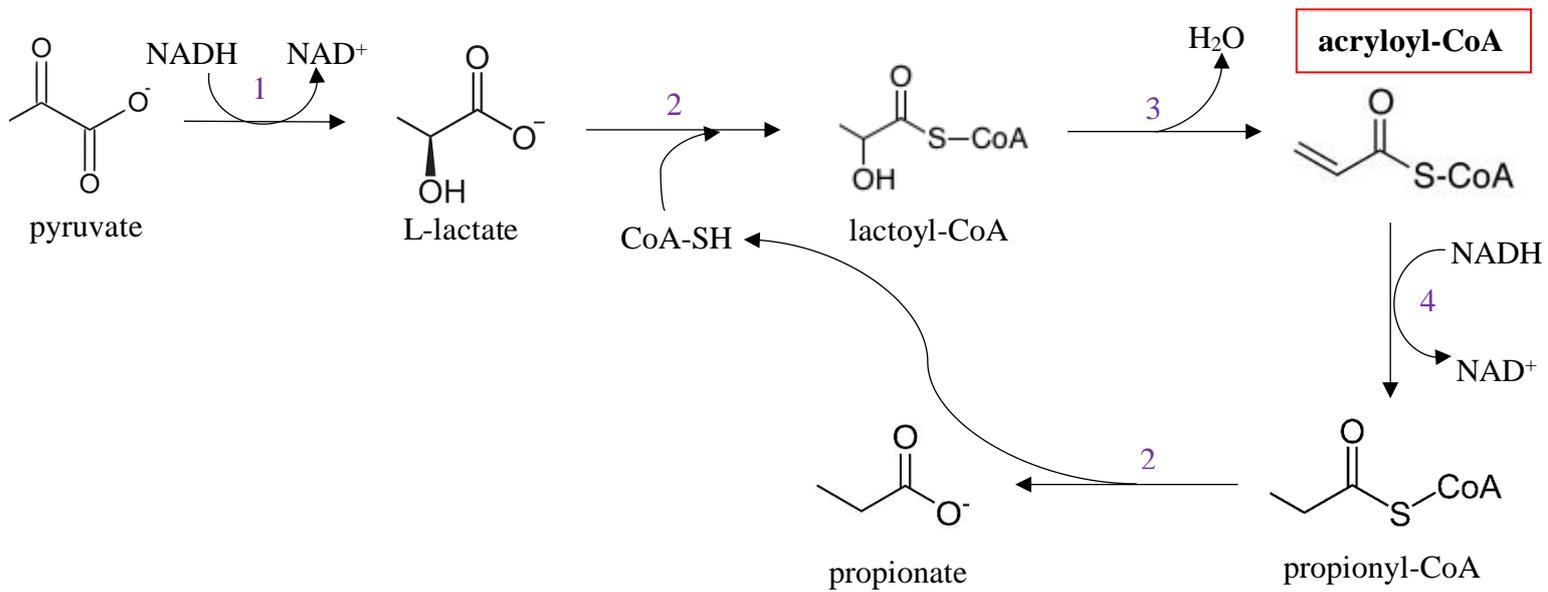
**Figure 32** - Mécanisme de formation du propionate par la voie succinique

Les enzymes catalysant chaque étape sont les suivantes :

- 1) Propionyl-CoA:succinate-CoA transférase (EC 2.8.3.27)
- 2) Méthylmalonyl-CoA mutase (EC 5.4.99.2)
- 3) Méthylmalonyl-CoA épimérase (EC 5.1.99.1)
- 4) Méthylmalonyl-CoA carboxytransférase (EC 2.1.3.1)

Dans la voie acrylique, le propionate est obtenu à partir de lactate. Le pyruvate est réduit en lactate par la L-lactate déshydrogénase (EC 1.1.1.27). Le lactate est ensuite activé en lactoyl-CoA par la propionate CoA transférase (EC 2.8.3.1), lui-même déshydraté en acryloyl-CoA par la lactoyl-CoA déshydratase (EC 4.2.1.54). L'acryloyl-CoA est ensuite réduit en propionyl-CoA par l'acryloyl-CoA réductase (NADH) (EC 1.3.1.95) et enfin le propionate est produit par hydrolyse du propionyl-CoA catabolisée de nouveau par la propionate CoA transférase (EC 2.8.3.1) (Figure 33) (Russell, Wallace 1997). Le lactate peut être libéré comme produit final de la fermentation par certains micro-organismes et il peut être absorbé par les bactéries utilisatrices de lactate qui le convertissent en propionate et en acétate et en plus petites quantités de butyrate (Satter, Esdale 1968). Le lactate peut aussi s'accumuler comme produit final de la fermentation et diminuer le pH du rumen chez les animaux nourris avec des régimes à fermentation rapide, provoquant ainsi une acidose lactique (Nagaraja, Titgemeyer 2007).

Ainsi, augmenter le propionate augmenterait la néoglucogénèse, diminuerait la stéatose hépatique et les risques d'acido-cétose (Aschenbach et al. 2010).



**Figure 33** - Mécanisme de formation du propionate à partir du lactate par la voie acrylique  
 Les enzymes catalysant chaque étape sont les suivantes :

- 1) L-lactate déshydrogénase (EC 1.1.1.27)
- 2) Propionate CoA transférase (EC 2.8.3.1)
- 3) Lactoyl-CoA déshydratase (EC 4.2.1.54)
- 4) Acrylyl-CoA réductase (NADH) (EC 1.3.1.95)

## b. Populations bactériennes

### *b1. Voie de l'acétate*

La plupart des bactéries ruminales forment de l'acétate par la voie typique présentée à la figure 30a. Elles synthétisent l'acétyl-CoA en partie via la glycolyse puis le convertissent en acétate. Cependant, certaines bactéries ruminales ne codent pas les enzymes typiques de la voie de fermentation de l'acétate, à savoir la phosphotransacétylase et l'acétate kinase. Par exemple, les bactéries appartenant aux genres *Selenomonas* et *Mitsuokella* ne sont pas capables de synthétiser ces deux enzymes. Au lieu de cela, elles peuvent utiliser la succinyl-CoA:acétate CoA-transférase et la succinate-CoA ligase pour produire de l'acétate (Hackmann 2017) (Tableau 10).

**Tableau 10** - Identification des bactéries intervenant dans la production d'acétate et leur prévalence (cf annexe 10)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à l'embranchement des *Bacillota* ; Bactéries appartenant à la classe des *Gammaproteobacteria* ; Bactéries appartenant à la classe des *Spirochaetia* ; Bactérie appartenant à la classe des *Fibrobacteria* ; Bactéries appartenant à l'embranchement des *Actinomycetota* ; Bactéries appartenant à la classe des *Bacteroidia*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)		
Phosphotransacétylase EC 2.3.1.8	Acetitomaculum ruminis	+		
	Actinomyces ruminicola			
	Butyrivibrio hungatei	++		
	Butyrivibrio proteoclasticus			
	Denitrobacterium detoxificans	+		
	Enterococcus mundtii			
	Eubacterium			
Acétate kinase EC 2.7.2.1	Acetitomaculum ruminis	+		
	Actinomyces ruminicola			
	Bacteroides thetaiotaomicron			
	Basfia succiniciproducens			
	Bifidobacterium			
			Butyrivibrio hungatei	++
	Butyrivibrio proteoclasticus			
	Clostridium beijerinckii			
			Denitrobacterium detoxificans	
			Enterococcus mundtii	
			Eubacterium	
			Fibrobacter succinogenes	+
			Lachnoclostridium aminophilum	
			Lachnospira multipara	
Megasphaera elsdenii				
Porphyromonas levii				
Prevotella bryantii	++			
Prevotella ruminicola				
Ruminobacter amylophilus	+			
Ruminococcus	++			
Succinivibrio dextrinosolvens				
Treponema saccharophilum	+			
<b>Succinyl-CoA:acétate CoA-transférase (EC 2.8.3.18)</b>				
Succinyl-CoA synthétase (formation d'ADP) EC 6.2.1.5	Bifidobacterium thermophilum	+		
	Mitsuokella jalaludinii			
	Ruminobacter amylophilus			
	Selenomonas			

Les bactéries ruminales acétiques sont nombreuses et diverses. Elles appartiennent à 8 classes différentes, dont la plupart appartiennent à l'embranchement des *Bacillota*, comprenant la classe des *Clostridia* dont font partie *Acetitomaculum ruminis*, *Butyrivibrio hungatei* et *proteoclasticus*, *Clostridium beijerinckii*, *Eubacterium cellulosolvens*, *oxoreducens*, *limosum* et *ruminatum*, *Lachnoclostridium aminophilum*, *Lachnospira multipara*, *Ruminococcus albus*, *bromii* et *flavefaciens* *Succinivibrio dextrinosolvens* ainsi que la classe des *Bacilli* représentée par *Enterococcus mundtii*, et celle des *Negativicutes* dont fait partie *Megasphaera elsdenii* *Mitsuokella jaladudinii*, *Selenomonas ruminantium*, *Selenomonas ruminantium subsp. ruminantium* et *lactilytica*. Les autres bactéries acétiques, moins nombreuses, appartiennent aux classes des *Actinomycetia*, représentée par *Actinomyces ruminicola*, *Bifidobacterium adolescentis*, *boum*, *merycicum*, *ruminantium* et *thermophilum*, à la classe des *Coriobacteriia* comprenant *Denitrobacterium detoxificans*, des *Bacteroidia* comprenant *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Porphyromonas levii*, *Prevotella bryantii* et *ruminicola*, des *Gammaproteobacteria* dont font partie *Basfia succiniciproducens* et *Ruminobacter amylophilus*, la classe des *Fibrobacteria* dont *Fibrobacter succinogenes* fait partie, et pour finir, la classe des *Spirochaetia* dont l'unique représentant est *Treponema saccharophilum*.

Certaines d'entre elles sont totalement autonomes dans la production d'acétate par la voie usuelle (Figure 29a) puisqu'elles produisent la totalité des enzymes engagées dans la réaction de fermentation de l'acétylCoA en acétate, à savoir *Acetitomaculum ruminis*, *Actinomyces ruminicola* *Butyrivibrio hungatei* et *proteoclasticus*, *Denitrobacterium detoxificans*, *Enterococcus mundtii* et les espèces du genre *Eubacterium*. Cependant, aucune bactérie citée ici n'est capable de sécréter l'enzyme succinyl-CoA:acétate CoA-transférase et donc de réaliser la totalité de la réaction de la figure 29b.

En termes d'abondance dans le rumen, les principales bactéries capables de produire de l'acétate sont *Butyrivibrio hungatei* et *proteoclasticus*, *Prevotella bryantii* et *ruminicola* ainsi que *Ruminococcus albus*, *bromii* et *flavefaciens*.

L'enzyme la plus fréquemment synthétisée par les bactéries acétiques est l'acétate kinase, permettant la production finale d'acétate. Les bactéries étant classées selon la spécificité du produit obtenu après mise en présence d'un substrat tel que le pyruvate, toutes celles possédant l'enzyme de production du produit terminal, ici l'acétate, sont considérées parfois à tort comme des enzymes productrices d'acétate. En effet, les bactéries disposant seulement d'une acétate kinase dépendent de l'activité enzymatique d'autres bactéries pour le synthétiser.

## b2. Voie du butyrate

La population bactérienne responsable de la fermentation du butyrate est présentée dans le tableau 11.

Les bactéries ruminales intervenant dans la production de butyrate sont diverses, elles sont représentées par 3 classes différentes, dont la plupart appartiennent à l'embranchement des *Bacillota*, comprenant la classe des *Clostridia* dont font partie *Butyrivibrio fibrisolvens*, *hungatei* et *proteoclasticus*, *Clostridium beijerinckii*, *Eubacterium cellulosolvens*, *limosum* et *ruminantium*, *PseudoButyrivibrio ruminis* et *xylanivorans* ainsi que la classe des *Negativicutes* dont fait partie *Megasphaera elsdenii*. Les autres bactéries butyriques, moins nombreuses, appartiennent aux classes des *Actinomycetia*, représentée par *Prauserella rugosa* et à la classe des *Bacteroidia* comprenant *Bacteroides thetaiotaomicron*. Les bactéries *Butyrivibrio fibrisolvens* et *proteoclasticus* ainsi qu'*Eubacterium cellulosolvens* et *limosum* sont polyvalentes dans la fermentation butyrique puisqu'elles produisent toutes plusieurs enzymes intervenant dans la synthèse du butyrate. En particulier, *Butyrivibrio fibrisolvens* et *proteoclasticus* produisent toutes les enzymes impliquées dans la réaction de conversion de l'acétylCoA en butanoyl-CoA. D'autres bactéries sont capables de sécréter la moitié des enzymes intervenant dans cette conversion telles que *Eubacterium cellulosolvens* et *limosum* mais leur contribution à la formation du butanoyl-CoA est limitée car elles sont présentes en plus faible quantité dans le rumen. La seule bactérie capable de produire l'ensemble des enzymes nécessaires à la fermentation de l'acétylCoA en butyrate est *Butyrivibrio fibrisolvens* via la voie usuelle de formation du butyrate tandis qu'*Eubacterium limosum* est la seule bactérie capable de convertir directement le butanoyl-CoA en butyrate par transfert de CoA du butanoyl-CoA vers l'acétate (voie atypique de formation du butyrate).

L'enzyme la plus fréquente parmi les bactéries butyriques ruminales est la butyrate kinase sécrétée par es bactéries appartenant à 3 classes différentes. La plupart des bactéries butyriques joue également un rôle hydrolytique, telles que les bactéries appartenant aux genres *Butyrivibrio*, *Eubacterium* et *Pseudobutyrovibrio*. Seule *Prauserella rugosa* est exclusivement impliquée dans les processus de fermentation.

**Tableau 11** - Identification des bactéries intervenant dans la production de butyrate et leur prévalence (cf annexe 11)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à la classe des *Actinomycetia* ; Bactéries appartenant à la classe des *Bacteroidia* ; Bactéries appartenant à l'embranchement des *Bacillota*

Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)
Acétyl-CoA C- acétyltransférase EC 2.3.1.9	Butyrivibrio fibrisolvens	++
	Butyrivibrio proteoclasticus	
	Eubacterium cellulosolvens	+
	Eubacterium limosum	
3-hydroxybutyryl-CoA déshydrogénase EC 1.1.1.157	Butyrivibrio fibrisolvens Butyrivibrio proteoclasticus	++
Enoyl-CoA hydratase EC 4.2.1.17	Butyrivibrio fibrisolvens	++
	Butyrivibrio proteoclasticus	
	Eubacterium cellulosolvens	+
	Eubacterium limosum	
Butyryl-CoA déshydrogénase EC 1.3.8.1	Butyrivibrio fibrisolvens	++
	Butyrivibrio proteoclasticus	
	Megasphaera elsdenii	+
Phosphate butyryltransférase EC 2.3.1.19	Butyrivibrio fibrisolvens	++
	Butyrivibrio proteoclasticus	
	Clostridium beijerinckii	+
Butyrate kinase EC 2.7.2.7	Bacteroides thetaiotaomicron	+
	Butyrivibrio fibrisolvens	++
	Butyrivibrio hungatei	
	Butyrivibrio proteoclasticus	
	Clostridium beijerinckii	+
	Eubacterium ruminantium	
	Prauserella rugosa	
	Pseudobutyrvibrio ruminis	
Pseudobutyrvibrio xylanivorans		
Butyryl-CoA:acétate-CoA transférase EC 2.8.3.8	Eubacterium limosum	+

### *b3. Voies du propionate*

La population bactérienne responsable de la fermentation du propionate selon les voies succinique et acrylique est présentée dans le tableau 12.

La voie succinique se déroule uniquement en milieu acide, c'est-à-dire pour un pH < 5,8. Elle est favorisée par un régime riche en cellulose et est réalisée essentiellement par des propionobactéries et des bactéries du genre *Selenomonas* (Hackmann et al. 2017).

La voie acrylique se déroule dans le rumen pour un pH moins acide que celui de la voie succinique, c'est-à-dire pour un pH > 5,5. Elle est favorisée par un régime riche en céréales et est réalisée essentiellement par *Streptococcus bovis*. Lorsque le pH descend, il y a développement de lactobacilles.

Les enzymes les plus fréquemment décrites sont au nombre de trois, ce sont deux enzymes intermédiaires dans le processus de formation du propionate à partir du succinate et l'enzyme de déshydrogénation du pyruvate en lactate.

Les bactéries capables de produire du propionate selon les voies succinique et acrylique sont représentées par 3 classes différentes : les *Negativicutes* dont font partie *Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica* et *Selenomonas ruminantium subsp. Ruminantium*, les *Bacilli* uniquement représentées par *Enterococcus mundtii* et les *Actinomyceta* dont fait partie *Corynebacterium vitaeruminis*. Les bactéries propioniques sont peu nombreuses. En effet celles intervenant dans la voie succinique ne sont que deux et celles intervenant dans la voie acrylique sont au nombre de quatre. Les bactéries du genre *Selenomonas* sont polyvalentes puisqu'elles sont capables d'intervenir dans les deux voies de production du propionate. Cependant, elles ne produisent pas la totalité des enzymes mises en jeu dans le processus de fermentation propionique. Une seule sous-espèce de *Selenomonas ruminantium* est capable de fermenter le lactate, *S. ruminantium subsp. lactilytica* tandis que *S. ruminantium subsp. ruminantium* n'en est pas capable.

**Tableau 12** - Identification des bactéries intervenant dans la production de propionate et leur prévalence (cf annexe 12)

Légende : ++ : abondante, + : présente ; Bactéries appartenant à la classe des *Actinomycetia* ; Bactéries appartenant à l'embranchement des *Bacillota*

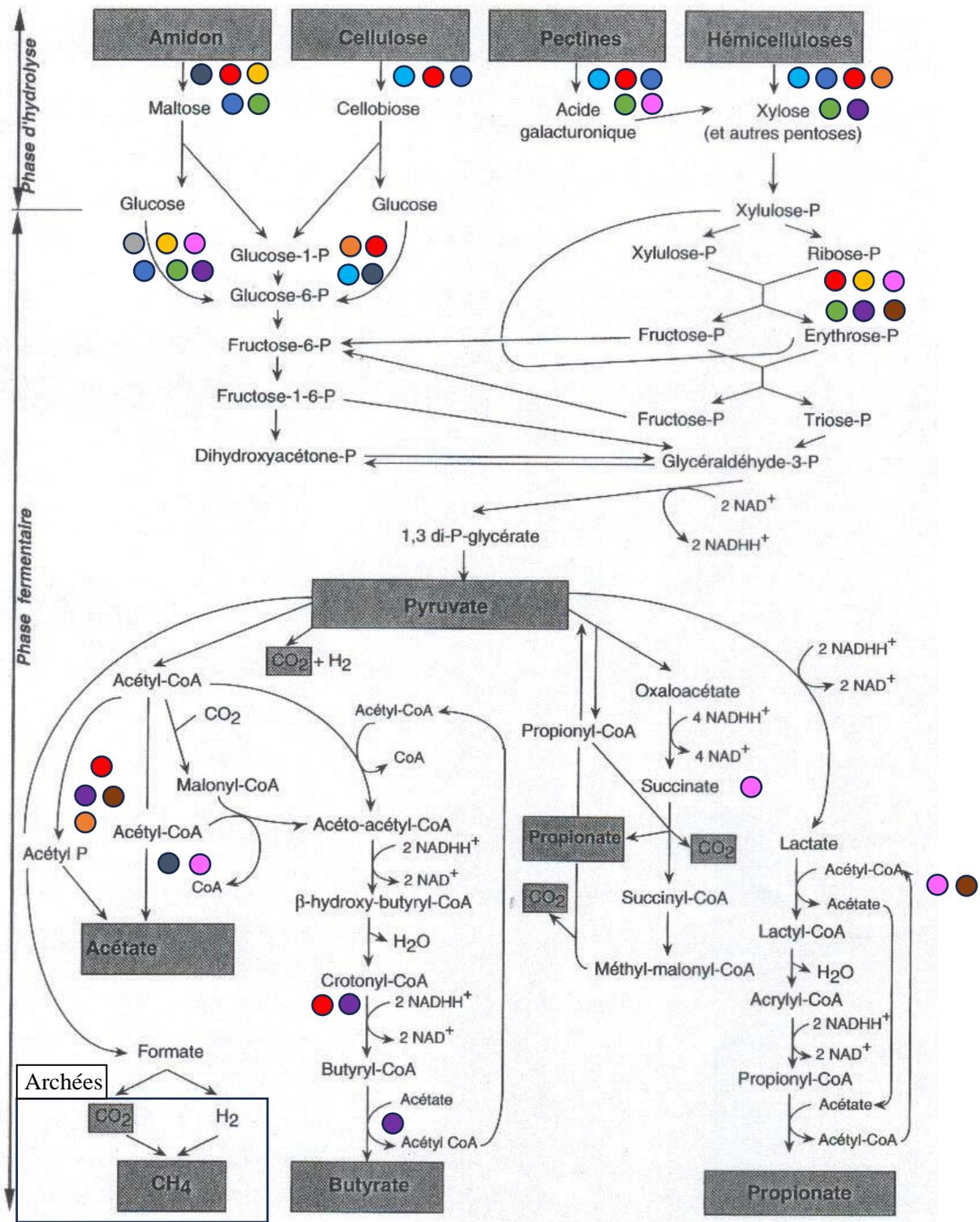
Enzymes	Population bactérienne	Prévalence (Briesacher et al. 1992 ; Henderson et al. 2015)
<b>Propionyl-CoA:succinate-CoA transférase</b> EC 2.8.3.27		
<b>Méthylmalonyl-CoA mutase</b> EC 5.4.99.2	<i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. lactilytica <i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. ruminantium	+
<b>Méthylmalonyl-CoA épimerase</b> EC 5.1.99.1	<i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. lactilytica <i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. ruminantium	+
<b>Méthylmalonyl-CoA carboxytransférase</b> EC 2.1.3.1		
<b>L-lactate déshydrogénase</b> EC 1.1.1.27	<i>Corynebacterium vitaeruminis</i> Enterococcus mundtii <i>Selenomonas ruminantium</i> subsp. lactilytica	+
<b>Propionate CoA transférase</b> EC 2.8.3.1		
<b>Lactoyl-CoA déshydratase</b> EC 4.2.1.54		
<b>Acrylyl-CoA réductase (NADH)</b> EC 1.3.1.95		

### c. Orientations des fermentations et production des AGV

Les bactéries ruminales agissent en synergie pour permettre la dégradation des glucides alimentaires, via la sécrétion d'enzymes agissant dans des voies biochimiques très diverses dont certaines n'ont pas encore été précisément caractérisées. La majorité des bactéries ruminales présente une redondance fonctionnelle, leur permettant de participer à plusieurs voies biochimiques distinctes, depuis l'hydrolyse des polyholosides complexes jusqu'à la fermentation des oses simples qui en sont issus. La synthèse des principales voies biochimiques étudiées ainsi que les principales espèces bactériennes y contribuant sont présentées dans le tableau 13 et la figure 34. Les différentes voies métaboliques de fermentation offrent une grande flexibilité à la cellule bactérienne pour métaboliser le pyruvate en fonction de ses besoins énergétiques et métaboliques, et contribuent ainsi à la régulation de l'homéostasie énergétique et du métabolisme des ruminants. Cependant, toutes les voies biochimiques de la fermentation sont loin d'être connues et de nombreuses bactéries n'utilisent pas les voies usuellement décrites. Dans le détail, 8 % des bactéries avaient une voie atypique de formation d'acétate ; 21 % pour la formation de propionate ou de succinate ; 6% pour la formation de butyrate (Hackmann et al. 2017). Les proportions respectives en AGV dépendent de la nature de la ration. Une augmentation des teneurs en fibres et en particulier de la cellulose provoque une augmentation de la proportion d'acétate ruminal car les bactéries fibrolytiques telles que *Butyrivibrio hungatei*, les bactéries du genre *Prevotella*, *Ruminococcus albus* et *flavefaciens* utilisent plutôt la voie de l'acétate. Une forte teneur en amidon (par exemple avec une forte proportion de céréales dans la ration) va favoriser la production de propionate, au détriment de celle de l'acétate par la présence de bactéries appartenant au genre *Selenomonas*. La présence d'oses (saccharose, lactose, inuline), contenus dans des aliments tels que les betteraves ou le lactosérum, va augmenter la proportion de butyrate. L'identification ainsi que l'évaluation de l'activité fonctionnelle des bactéries ruminales sont en constante évolution, ouvrant la voie à la caractérisation de nouvelles souches bactériennes et de leur implication dans des voies biochimiques atypiques. Cependant, l'activité des enzymes bactériennes est largement dépendante des conditions physico-chimiques du milieu, notamment le pH du rumen, de la régulation génomique ainsi que des transferts horizontaux de gènes entre bactéries, rendant complexe la détermination de leur rôle spécifique. De plus, le phénomène de répression catabolique, caractérisé par une utilisation sélective des sources de carbone, contribue à une croissance en deux phases des bactéries car elles assimilent d'abord les sources de carbone rapidement métabolisables (issues des oses hydrosolubles par exemple) puis les sources de carbone non préférentielles.

**Tableau 13** – Synthèse des profils bactériens en fonction des voies métaboliques

Voies fermentaires/hydrolytiques		Cellulose	Hémicelluloses	Pectines	Amidon
<b>Acétate</b>		<i>Butyrivibrio hungatei</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Eubacterium cellulosolvens</i> <i>Fibrobacter succinogenes</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Ruminococcus flavefaciens</i>	<i>Actinomyces ruminicola</i> <i>Butyrivibrio hungatei</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Eubacterium ruminantium</i> <i>Fibrobacter succinogenes</i> <i>Prevotella bryantii</i> <i>Prevotella ruminicola</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Ruminococcus flavefaciens</i>	<i>Butyrivibrio hungatei</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Fibrobacter succinogenes</i> <i>Prevotella bryantii</i> <i>Prevotella ruminicola</i> <i>Ruminococcus albus</i>	<i>Bifidobacterium ruminantium</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Prevotella bryantii</i> <i>Prevotella ruminicola</i> <i>Ruminococcus bromii</i>
<b>Butyrate</b>		<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Eubacterium cellulosolvens</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> <i>Eubacterium cellulosolvens</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Eubacterium cellulosolvens</i>	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> <i>Clostridium beijerinckii</i>
<b>Propionate</b>	Voie acrylique			<i>Selenomonas ruminantium</i> <i>Selenomonas ruminantium subs. ruminantium</i>	<i>Selenomonas ruminantium</i> <i>Selenomonas ruminantium subs. ruminantium</i>
	Voie succinique				



Genes bactériens :

- |  |   |   |
|--|---|---|
| <span style="color: red;">●</span> Butyrivibrio  | <span style="color: orange;">●</span> Actinomyces       | <span style="color: yellow;">●</span> Streptococcus |
| <span style="color: green;">●</span> Prevotella  | <span style="color: purple;">●</span> Eubacterium       | <span style="color: grey;">●</span> Lactococcus     |
| <span style="color: blue;">●</span> Ruminococcus | <span style="color: pink;">●</span> Selenomonas         | <span style="color: brown;">●</span> Enterococcus   |
| <span style="color: cyan;">●</span> Fibrobacter  | <span style="color: darkblue;">●</span> Bifidobacterium |   |

Figure 34 – Métabolisme glucidique ruminal (d'après Jouany 1994)

## CONCLUSION

La large et diverse communauté microbienne ruminale joue un rôle crucial dans toutes les étapes de la dégradation des glucides alimentaires dans le rumen. Ce vaste fermenteur, siège de nombreuses réactions enzymatiques, est responsable de la capacité des bovins à utiliser des aliments riches en fibres végétales comme source principale de nutriments. Son fonctionnement efficace dépend d'une interaction complexe entre l'hôte et la population diversifiée de micro-organismes qui le colonise, en particulier les bactéries. Le développement des techniques de séquençage de l'ADN à haut débit telle que la métagénomique, a permis d'explorer la complexité de l'écosystème ruminal. Les progrès dans ce domaine ont conduit à une meilleure compréhension de la diversité microbienne du rumen, des interactions qui existent entre les différentes espèces bactériennes et leur hôte ainsi que l'identification des fonctions métaboliques clés associées à la digestion des aliments et à la production de métabolites d'intérêt. À travers une analyse bibliographique des génomes de référence de plusieurs bactéries ruminales présentant un rôle dans le métabolisme glucidique, nous avons identifié diverses voies métaboliques impliquées dans leur dégradation, depuis l'hydrolyse des oses complexes formant les structures végétales jusqu'à la fermentation des oses simples. Nous avons constaté que certaines bactéries ne possèdent pas la totalité des voies métaboliques conventionnelles, ce qui souligne la diversité et la complexité de la fonction métabolique dans cet environnement. De plus, la présence de plusieurs voies de dégradation du glucose explique l'adaptabilité des bactéries ruminales à divers substrats carbonés et aux conditions environnementales changeantes.

Ce travail met en évidence l'importance de comprendre non seulement la présence des gènes codant pour les enzymes, mais également leur expression et leur régulation dans la communauté microbienne du rumen. Cette approche holistique est essentielle pour une compréhension complète du métabolisme bactérien dans le rumen et de son impact sur la digestion des glucides alimentaires. La connaissance du microbiote ruminal, de ses caractéristiques, de ses variations et de ses impacts sur le métabolisme et les performances des bovins ouvrent la voie au développement de stratégies de modulation de la fermentation ruminale. Ces approches représentent des leviers importants pour l'amélioration de la santé et de la performance des bovins, tout en contribuant à la durabilité environnementale de l'élevage.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

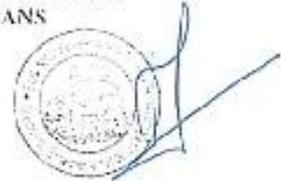
Pour autorisation d'impression de la thèse d'exercice en vue de l'obtention du  
diplôme d'Etat de docteur vétérinaire

Je soussignée, Lydie BRET, Enseignant-chercheur, de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, directrice de thèse, certifie avoir examiné la thèse de CREUSEL Maurine, Alice, Cécile, intitulée « Rôles du microbiome bactérien ruminant dans la digestion des glucides chez les bovins : étude bibliographique métagénomique » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 27/02/2024  
Enseignant-chercheur de l'École Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Docteur Lydie BRET



Vu :  
Le Directeur de l'École Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
M. Pierre SANS



Vu :  
La Présidente du jury  
Professeure Annabelle MEYNADIER



Vu et autorisation de l'impression :  
La Présidente de l'Université Paul  
Sabatier  
Madame Odile RAUZY  
Par déléguation, le Doyen de la Faculté de  
Santé de Toulouse  
Monsieur Philippe POMAR



CREUSEL Maurine, Alice, Cécile  
a été admise(e) en concours en : 2018  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 13/07/2022  
a validé l'ensemble des crédits ECTS relatifs à la préparation de la thèse d'exercice le : 16/11/2023



## ANNEXES

### Annexe 1 – Nomenclature des enzymes intervenant dans le métabolisme glucidique ruminal

#### EC 1- Oxydoréductases (réactions d'oxydoréduction)

- EC 1.1.1.44 Phosphogluconate déshydrogénase (NADP+)
- EC 1.1.1.49 Glucose-6-phosphate déshydrogénase
- EC 1.1.1.157 3-hydroxybutyryl-CoA déshydrogénase
- EC 1.1.1.27 L-lactate déshydrogénase
- EC 1.1.1.360 Glucose/galactose 1-déshydrogénase
- EC 1.1.1.363 Glucose-6-phosphate déshydrogénase [NAD(P)+]
- EC 1.14.99.18 Cellobiose déshydrogénase (accepteur)
- EC 1.14.99.56 Monooxygénase cellulose lytique (déshydrogénation en C4)
- EC 1.2.1.3 Aldéhyde déshydrogénase (NAD+)
- EC 1.2.1.9 Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (NADP+)
- EC 1.2.1.12 Glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase
- EC 1.2.1.89 D-glyceraldéhyde déshydrogénase (NADP+)
- EC 1.2.4.1 Pyruvate déshydrogénase
- EC 1.3.8.1 Butyryl-CoA déshydrogénase
- EC 1.3.1.95 Acrylyl-CoA réductase
- EC 1.8.1.4 Dihydrolipoyl déshydrogénase

#### EC 2- Transférases (Transfert de groupes fonctionnels d'un substrat à un autre)

- EC 2.1.3.1 Methylmalonyl-CoA carboxytransférase
- EC 2.2.1.1 Transkétolase
- EC 2.2.1.2 Transaldolase
- EC 2.3.1.12 Dihydrolipoamide S-acétyltransférase
- EC 2.3.1.19 Phosphate butyryltransférase
- EC 2.3.1.8 Phosphate acétyltransférase
- EC 2.3.1.9 acétyl-CoA C-acétyltransférase
- EC 2.4.1.20 Cellobiose phosphorylase
- EC 2.4.1.321 Acide cellobionique phosphorylase
- EC 2.4.1.49 Cellodextrine phosphorylase
- EC 2.7.1.1 Hexokinase
- EC 2.7.1.11 6-phosphofructokinase
- EC 2.7.1.165 Glycérate 2-kinase
- EC 2.7.1.40 Pyruvate kinase
- EC 2.7.1.45 2-déshydro-3-désoxygluconokinase
- EC 2.7.2.1 Acétate kinase
- EC 2.7.2.3 Phosphoglycérate kinase
- EC 2.7.2.7 Butyrate kinase
- EC 2.8.3.1 Propionate CoA transférase
- EC 2.8.3.18 Succinyl-CoA:acétate CoA-transférase
- EC 2.8.3.27 Propionyl-CoA:succinate-CoA transférase
- EC 2.8.3.8 Acétate CoA-transférase

#### EC 3- Hydrolases (hydrolyses)

- EC 3.1.1.- Rhamnogalacturonane acétylestérase
- EC 3.1.1.6 Pectine-acétylestérase
- EC 3.1.1.31 6-phosphogluconolactonase
- EC 3.1.1.73 Féruloylestérase
- EC 3.1.3.11 Fructose-bisphosphatase

EC 3.2.1.- Rhamnogalacturonane galacturonohydrolase  
EC 3.2.1.1  $\alpha$ -amylase  
EC 3.2.1.15 Endo-polygalacturonase  
EC 3.2.1.139  $\alpha$ -D-glucuronidase  
EC 3.2.1.171 Rhamnogalacturonane hydrolase  
EC 3.2.1.176 Cellulose 1,4-  $\beta$ -cellobiosidase (extrémité réductrice)  
EC.3.2.1.2  $\beta$ -amylase  
EC.3.2.1.20  $\alpha$ -glucosidase  
EC.3.2.1.21  $\beta$ -glucosidase  
EC 3.2.1.22  $\alpha$ -D-galactosidase  
EC 3.2.1.23  $\beta$ -galactosidase  
EC 3.2.1.3 glucoamylase  
EC 3.2.1.31  $\beta$ -glucuronidase  
EC 3.2.1.37 Xylane 1,4-  $\beta$ -xylosidase  
EC 3.2.1.4 Cellobiase ou cellulase  
EC 3.2.1.40 Rhamnogalacturonane rhamnohydrolase  
EC 3.2.1.41 Pullulanase  
EC 3.2.1.55  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase (extrémité non réductrice)  
EC 3.2.1.57 Isopullulanase  
EC 3.2.1.67 Galacturonane 1,4-  $\alpha$ -galacturonidase  
EC 3.2.1.68 Isoamylase  
EC 3.2.1.72 Xylan 1,3-  $\beta$ -xylosidase  
EC 3.2.1.74 Glucane 1,4- $\beta$ -glucosidase  
EC 3.2.1.8 Endo-1,4-  $\beta$ -xylanase  
EC 3.2.1.91 Cellulose 1,4- $\beta$ -cellobiosidase (extrémité non réductrice)  
EC 3.2.1.99 Endo-arabinanase

EC 4- Lyases (Rupture de différentes liaisons chimiques par des moyens autres que l'hydrolyse ou l'oxydation)

EC 4.1.2.13 Fructose-bisphosphate aldolase  
EC 4.1.2.14 2-déshydro-3-désoxy-phosphogluconate aldolase  
EC 4.1.2.21 2-déshydro-3-désoxy-6-phosphogalactonate aldolase  
EC 4.1.2.43 3-hexulose-6-phosphate synthase  
EC 4.1.2.51 2-déshydro-3-désoxy-D-gluconate aldolase  
EC 4.1.2.55 2-déshydro-3-désoxy-phosphogluconate/2-déshydro-3-désoxy-6-phosphogalactonate aldolase  
EC 4.2.1.11 Phosphopyruvate hydratase  
EC 4.2.1.12 Phosphogluconate déshydratase  
EC 4.2.1.17 Enoyl-CoA hydratase  
EC 4.2.1.140 Gluconate/galactonate déshydratase  
EC 4.2.1.54 Lactoyl-CoA déshydratase  
EC 4.2.2.- Rhamnogalacturonane lyase  
EC 4.2.2.10 Pectine lyase  
EC 4.2.2.2 Pectate lyase  
EC 4.2.2.9 Pectate disaccharide-lyase

EC 5 – Isomérase (isomérisations)

EC 5.1.3.1 Ribulose-phosphate 3-épimérase  
EC 5.1.99.1 Méthylmalonyl-CoA épimérase  
EC 5.3.1.1 Triose-phosphate isomérase  
EC 5.3.1.27 6-phospho-3-hexuloisomérase  
EC 5.3.1.6 Ribose-5-phosphate isomérase  
EC 5.3.1.9 Glucose-6-phosphate isomérase

EC 5.4.2.11 Phosphoglycérate mutase (2,3-diphosphoglycérate-dépendante)

EC 5.4.99.2 Méthylmalonyl-CoA mutase

EC 6 – Ligases ou synthases (formations de liaisons covalentes couplées à l'hydrolyse d'un nucléoside triphosphate)

EC 6.2.1.5 Succinyl-CoA synthétase (formation d'ADP)

**Annexe 2** – Tableau d'identification des bactéries ruminales glucidiques adapté de la collection Hungate 1000

Embranchement	Famille	Genre/Espèce	Référence
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Acetitomaculum ruminis</i>	(Greening, Leedle 1989)
<b>Bacillota</b>	<i>Acidaminococcaceae</i>	<i>Acidaminococcus fermentans</i>	(Chang et al. 2010)
<b>Proteobacteria</b>	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Actinobacillus succinogenes</i>	(McKinlay et al. 2010)
<b>Actinobacteria</b>	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Actinomyces ruminicola</i>	(An, Cai, Dong 2006)
<b>Bacillota</b>	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Allisonella histaminiformans</i>	(Garner, Flint, Russell 2002)
<b>Bacillota</b>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus cereus</i>	(Mikami et al. 1999)
<b>Bacteroidetes</b>	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	(Reeves, Wang, Salyers 1997)
<b>Proteobacteria</b>	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Basfia succiniciproducens</i>	(Kuhnert et al. 2010)
<b>Actinobacteria</b>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	(Scardovi et al. 1969)
<b>Actinobacteria</b>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium boum</i>	(Scardovi et al. 1979)
<b>Actinobacteria</b>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium merycicum</i>	(Biavati, Mattarelli 1991)
<b>Actinobacteria</b>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium pseudolongum subsp. globosum</i>	(Scardovi et al. 1969)
<b>Actinobacteria</b>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium ruminantium</i>	(Biavati, Mattarelli 1991)
<b>Actinobacteria</b>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	(Scardovi et al. 1969)
<b>Proteobacteria</b>	<i>Alcaligenaceae</i>	<i>Bordetella trematum</i>	(Chang et al. 2015)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	(Berger et al. 1990) (Noel, 2013)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Butyrivibrio hungatei</i>	(Kopečný et al. 2003)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	(Kelly et al. 2010)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Cellulosilyticum ruminicola</i>	(Cai, Dong 2010) (Cai et al. 2010)
<b>Bacillota</b>	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium beijerinckii</i>	(Seshadri et al. 2018)
<b>Bacillota</b>	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium longisporum</i>	(Varel 1989)
<b>Actinobacteria</b>	<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium vitaeruminis</i>	(Seshadri et al. 2018)
<b>Actinobacteria</b>	<i>Eggerthellaceae</i>	<i>Denitrobacterium detoxificans</i>	(Noel 2013)
<b>Proteobacteria</b>	<i>Desulfovibrionaceae</i>	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	(Stokkermans et al. 1992)
<b>Bacillota</b>	<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus mundtii</i>	(Bennik et al. 1998)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	(Prins et al. 1972) (Collins et al. 1994)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Eubacterium oxidoreducens</i>	(Krumholz, Bryant 1986)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Eubacterium ruminantium</i>	(Seshadri et al. 2018)
<b>Fibrobacteres</b>	<i>Fibrobacteraceae</i>	<i>Fibrobacter succinogenes subsp. Succinogenes</i>	(Schellhorn, Forsberg 1984)
<b>Bacillota</b>	<i>Erysipelotrichaceae</i>	<i>Kandleria vitulina</i>	(Noel 2013)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Lachnoclostridium aminophilum</i>	(Paster et al. 1993)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Lachnospira multipara</i>	(Bryant, Small 1956)
<b>Bacillota</b>	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus mucosae</i>	(Morvan, Joblin 1999)
<b>Bacillota</b>	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus ruminis</i>	(Sharpe et al. 1973)
<b>Bacillota</b>	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>	(Cavanagh et al. 2015)

<b>Bacillota</b>	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	(Kelly et al. 2010)
<b>Bacillota</b>	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Megasphaera elsdenii</i>	(Ouwerkerk, Klieve, Forster 2002)
<b>Bacillota</b>	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Mitsuokella jalaludinii</i>	(Lan, Ho, Abdullah 2002)
<b>Bacillota</b>	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Oxobacter pfennigii</i>	(Bengelsdorf et al. 2015)
<b>Bacteroidetes</b>	<i>Porphyromonadaceae</i>	<i>Porphyromonas levii</i>	(Shah,H.N. et al. 1995)
<b>Actinobacteria</b>	<i>Pseudonocardiaceae</i>	<i>Prauserella rugosa</i>	(Pukall et al. 2009)
<b>Bacteroidetes</b>	<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella brevis</i>	(Avgustin, Wallace, Flint 1997)
<b>Bacteroidetes</b>	<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella bryantii</i>	(Avgustin, Wallace, Flint 1997) (Purushe et al. 2010)
<b>Bacteroidetes</b>	<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella ruminicola</i>	(Avgustin, Wallace, Flint 1997) (Purushe et al. 2010)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Pseudobutyrvibrio ruminis</i>	(Van Gylswyk, Hippe, Rainey 1996)
<b>Bacillota</b>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Pseudobutyrvibrio xylanivorans</i>	(Kopečný et al. 2003)
<b>Bacillota</b>	<i>Ruminococcaceae</i>	<i>Ruminiclostridium cellobioparum</i>	(Hungate 1944)
<b>Proteobacteria</b>	<i>Succinivibrionaceae</i>	<i>Ruminobacter amylophilus</i>	(Nyonyo et al. 2013)
<b>Bacillota</b>	<i>Ruminococcaceae</i>	<i>Ruminococcus albus</i>	(Leatherwood 1965)
<b>Bacillota</b>	<i>Ruminococcaceae</i>	<i>Ruminococcus bromii</i>	(Klieve et al. 2007)
<b>Bacillota</b>	<i>Ruminococcaceae</i>	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	(Hopgood, Walker 1967)
<b>Bacillota</b>	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Schwartzia succinivorans</i>	(Van Gylswyk, N.O., Hippe, H., Rainey, F.A. 1997)
<b>Bacillota</b>	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Selenomonas ruminantium</i>	(Noel 2013)
<b>Bacillota</b>	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica</i>	(Bryant 1956)
<b>Bacillota</b>	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Selenomonas ruminantium subsp. ruminantium</i>	(Bryant 1956)
<b>Bacillota</b>	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	(Klieve et al. 1999)
<b>Bacillota</b>	<i>Acidaminococcaceae</i>	<i>Succiniclasticum ruminis</i>	(Van Gylswyk 1995)
<b>Proteobacteria</b>	<i>Succinivibrionaceae</i>	<i>Succinimonas amylolytica</i>	(Bryant et al. 1958)
<b>Proteobacteria</b>	<i>Succinivibrionaceae</i>	<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	(Seshadri et al. 2018)
<b>Bacillota</b>	<i>Peptostreptococcaceae</i>	<i>Terrisporobacter glycolicus</i>	(Seshadri et al. 2018)
<b>Spirochaetes</b>	<i>Spirochaetaceae</i>	<i>Treponema bryantii</i>	(Noel 2013)
<b>Spirochaetes</b>	<i>Spirochaetaceae</i>	<i>Treponema saccharophilum</i>	(Paster, Canale-Parola 1985)
<b>Proteobacteria</b>	<i>Helicobacteriaceae</i>	<i>Wolinella succinogenes</i>	(Baar et al. 2003)

**Annexe 3** – Tableau d'identification des bactéries sécrétant des enzymes cellulolytiques, réalisé par analyse des banques de données Hungate 1000 et UniprotKB

Nom de l'enzyme	cellobiose déshydrogénase	LMPO	cellobiose phosphorylase	cellobionate phosphorylase	cellodextrine phosphorylase	$\beta$ -glucosidase	cellulose 1,4- $\beta$ -cellobiosidase	cellulase	glucane 1,4- $\beta$ -glucosidase	cellulose 1,4- $\beta$ -cellobiosidase (extrémité non réductrice)
Bactéries\EC	1.14.99.18	1.14.99.56	2.4.1.20	2.4.1.321	2.4.1.49	3.2.1.21	3.2.1.176	3.2.1.4	3.2.1.74	3.2.1.91
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	0	0	0	0	0	X	0	X	0	0
<i>Butyrivibrio hungatei</i>	0	0	0	0	0	X	0	X	0	0
<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	0	0	0	0	0	X	0	X	0	0
<i>Cellulosilyticum ruminicola</i>	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0
<i>Clostridium longisporum</i>	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0
<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0
<i>Fibrobacter succinogenes subsp. Succinogenes</i>	0	0	0	0	0	0	0	X	X	X
<i>Ruminococcus albus</i>	0	0	0	0	0	X	0	X	0	0
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0

**Annexe 4** - Tableau d'identification des bactéries sécrétant des enzymes hémicellulolytiques, réalisé par analyse des banques de données Hungate 1000 et UniprotKB

Nom de l'enzyme	féruloyl estérase	$\alpha$ -D-glucuronidase	$\beta$ -xylosidase	$\alpha$ -L-arabinofuranosidase	$\alpha$ -D-galactosidase	acétylxylane estérase	endo-1,4- $\beta$ -xylanase
Bactéries\EC	3.1.1.73	3.2.1.139	3.2.1.37	3.2.1.55	3.2.1.22	3.2.1.72	3.2.1.8
<i>Actinomyces ruminicola</i>	0	0	0	0	X	0	X
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	0	0	0	0	X	0	0
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	0	0	X	X	0	0	X
<i>Butyrivibrio hungatei</i>	0	0	0	0	X	0	X
<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	0	0	X	X	X	0	X
<i>Cellulosilyticum ruminicola</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Eubacterium ruminantium</i>	0	0	0	0	X	0	X
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	0	0	0	0	X	0	X
<i>Prevotella bryantii</i>	X	X	X	X	X	0	X
<i>Prevotella ruminicola</i>	X	0	X	X	0	0	X
<i>Pseudobutyrvibrio xylanivorans</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Ruminococcus albus</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Streptococcus bovis</i>	0	0	0	0	X	0	0
<i>Treponema bryantii</i>	0	0	0	0	X	0	X

**Annexe 5** - Tableau d'identification des bactéries sécrétant des enzymes pectinolytiques, réalisé par analyse des banques de données Hungate 1000 et UniprotKB

Nom de l'enzyme	PME	PAE	Exo-PG	Endo-PG	Exo-PLY	Endo-PLY	Endo-PL	α--galactosidase	β-galactosidase	RRH	RGH	féruloyl estérase	endo-arabinanase	arabinofuranosidase
<b>Bactéries\EC</b>	<b>3.1.1.11</b>	3.1.1.6	3.2.1.67	<b>3.2.1.15</b>	4.2.2.9	<b>4.2.2.2</b>	4.2.2.10	3.2.1.22	<b>3.2.1.23</b>	<b>3.2.1.40</b>	3.2.1.171	<b>3.1.1.73</b>	<b>3.2.1.99</b>	<b>3.2.1.55</b>
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	X
<i>Butyrivibrio hungatei</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	0	0	0	X	0	X	0	0	X	0	0	0	0	X
<i>Cellulosilyticum ruminicola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Eubacterium limosum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Eubacterium ruminantium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Lachnospira multipara</i>	X	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Prevotella bryantii</i>	X	0	0	0	0	X	0	0	X	X	0	X	X	X
<i>Prevotella ruminicola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0	X
<i>Ruminococcus albus</i>	X	0	0	0	0	X	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Selenomonas ruminantium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0

**Annexe 6** - Tableau d'identification des bactéries sécrétant des enzymes amylolytiques, réalisé par analyse des banques de données Hungate 1000 et UniprotKB

Nom de l'enzyme	$\alpha$ -amylase	$\beta$ -amylase	$\alpha$ -glucosidase	glucoamylase	pullulanase	isopullulanase	isoamylase
<b>Bactéries\EC</b>	<b>3.2.1.1</b>	<b>3.2.1.2</b>	<b>3.2.1.20</b>	<b>3.2.1.3</b>	<b>3.2.1.41</b>	<b>3.2.1.57</b>	<b>3.2.1.68</b>
<i>Actinomyces ruminicola</i>	X	0	0	0	0	0	0
<i>Bifidobacterium ruminantium</i>	X	0	0	0	X	0	0
<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	X	0	X	0	X	0	0
<i>Clostridium beijerinckii</i>	X	0	0	0	0	0	0
<i>Mitsuokella jalaludinii</i>	X	0	0	0	0	0	0
<i>Prevotella bryantii</i>	X	0	X	0	X	0	0
<i>Prevotella ruminicola</i>	X	0	X	0	X	0	0
<i>Pseudobutyrvibrio xylanivorans</i>	X	0	0	0	0	0	0
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	X	0	0	0	0	0	0
<i>Ruminococcus bromii</i>	X	0	0	0	X	0	0
<i>Streptococcus bovis</i>	X	0	0	0	X	0	0
<i>Succinomonas amylolytica</i>	X	0	0	0	0	0	0
<i>Succinivibrio dextrinosolvans</i>	X	0	0	0	0	0	0

**Annexe 7** - Tableau d'identification des bactéries sécrétant des enzymes glycolytiques, réalisé par analyse des banques de données Hungate 1000 et UniprotKB

Nom de l'enzyme	GAP déshydrogénase	hexokinase	6-P-fructokinase	Pyruvate kinase	P-glycérate kinase	Fructose-PP aldolase	phosphopyruvate hydratase	Triose-P isomérase	G6P isomérase	phosphoglucose mutase
Bactéries\EC	1.2.1.12	2.7.1.1	2.7.1.11	2.7.1.40	2.7.2.3	4.1.2.13	4.2.1.11	5.3.1.1	5.3.1.9	5.4.2.11
<i>Actinobacillus succinogenes</i>	0	0	X	0	X	0	X	X	0	X
<i>Actinomyces rumenicola</i>	0	0	0	X	X	X	X	X	X	X
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	0	0	X	0	X	0	X	X	X	X
<i>Basfia succiniciproducens</i>	0	0	X	0	X	0	X	X	X	X
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0	0	0	0	X	0	X	X	0	0
<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	0	0	0	X	X	X	X	X	X	X
<i>Butyrivibrio hungatei</i>	0	0	0	X	0	0	0	X	X	0
<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	0	0	0	X	0	0	0	X	X	0
<i>Clostridium beijerinckii</i>	0	0	0	0	X	X	X	X	X	X
<i>Corynebacterium vitaeruminis</i>	0	0	0	X	0	X	X	X	X	X
<i>Denitrobacterium detoxificans</i>	0	0	0	0	X	0	X	X	0	0
<i>Enterococcus mundtii</i>	0	0	0	X	0	0	X	X	0	X
<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	0	0	0	X	X	0	X	X	X	X
<i>Eubacterium limosum</i>	0	0	0	X	X	X	X	X	0	X
<i>Eubacterium ruminantium</i>	0	0	0	X	X	0	X	X	0	0
<i>Fibrobacter succinogenes subsp. Succinogenes</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	X	0
<i>Kandleria vitulina</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	0	0
<i>Lachnospira multipara</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	X	0
<i>Lactobacillus mucosae</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	0	X
<i>Lactobacillus ruminis</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	0	0
<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>	0	0	X	0	X	0	X	X	X	X
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	X	0	X	X	X	0	X	X	X	X
<i>Megasphaera elsdenii</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	X	0
<i>Mitsuokella jalaludinii</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	0	0

<i>Porphyromonas levii</i>	0	0	X	0	0	0	X	X	X	0
<i>Prauserella rugosa</i>	0	0	X	0	0	0	X	X	0	X
<i>Prevotella bryantii</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	0	0
<i>Pseudobutyrvibrio xylanivorans</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	X	0
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	X	0
<i>Ruminococcus bromii</i>	0	0	X	0	0	0	X	X	X	0
<i>Selenomonas ruminantium</i>	0	0	0	X	0	X	X	X	X	0
<i>Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica</i>	0	X	X	X	X	X	X	X	X	0
<i>Selenomonas ruminantium subsp. Ruminantium</i>	0	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Streptococcus equinus</i>	0	0	0	X	X	0	X	X	0	X
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	X	0
<i>Terrisporobacter glycolicus</i>	0	0	0	0	0	0	X	X	0	0
<i>Treponema bryantii</i>	0	0	X	0	0	0	X	X	X	0
<i>Treponema saccharophilum</i>	0	0	X	0	X	0	X	X	X	0
<i>Wolinella succinogenes</i>	0	0	X	0	0	0	X	X	X	0

**Annexe 8** - Tableau d'identification des bactéries sécrétant des enzymes de la voie des PPP, réalisé par analyse des banques de données Hungate 1000 et UniprotKB

Nom de l'enzyme	G6P déshydrogénése	transaldolase	6- phosphogluconate déshydrogénase	transcétolase	6- phosphogluconolactonase	Ribose-5- phosphate isomérase	Ribulose- phosphate 3- épimérase
<b>Bactéries\EC</b>	<b>1.1.1.49</b>	<b>2.2.1.2</b>	<b>1.1.1.44</b>	<b>2.2.1.1</b>	<b>3.1.1.31</b>	<b>5.3.1.6</b>	<b>5.1.3.1</b>
<i>Actinobacillus succinogenes</i>	0	X	0	0	0	X	0
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	0	X	0	0	0	0	0
<i>Basfia succiniciproducens</i>	0	X	0	0	0	X	0
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0	0	0	0	0	X	0
<i>Butyrivibrio hungatei</i>	0	X	0	0	0	0	X
<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	0	X	0	0	X	X	X
<i>Enterococcus mundtii</i>	0	X	X	X	0	X	X
<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	0	X	0	0	0	0	X
<i>Eubacterium limosum</i>	0	X	0	0	0	0	X
<i>Eubacterium ruminantium</i>	0	X	0	X	0	0	X
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Lachnospira multipara</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>megasphaera elsdenii</i>	0	0	X	0	0	0	X
<i>Prauserella rugosa</i>	X	0	X	0	0	0	X
<i>Prevotella bryantii</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Prevotella ruminicola</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Pseudobutyrvibrio ruminis</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Pseudobutyrvibrio xylanivorans</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Ruminococcus albus</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Ruminococcus bromii</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	0	0	0	0	0	0	X
<i>Schwartzia succinivorans</i>	0	0	0	X	0	0	X
<i>Selenomonas ruminantium</i>	0	0	X	X	0	0	X
<i>Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica</i>	0	0	X	X	0	X	X
<i>Selenomonas ruminantium subsp. Ruminantium</i>	0	0	X	X	0	X	X
<i>Streptococcus equinus</i>	0	X	0	X	0	X	X
<i>Succiniclasticum ruminis</i>	0	X	X	X	0	0	X

**Annexe 9** - Tableau d'identification des bactéries sécrétant des enzymes de la voie ED, réalisé par analyse des banques de données Hungate 1000 et UniprotKB

Nom de l'enzyme	Hexokinase	G6P déshydrogénase	6- phosphogluco nolactonase	6- phosphoglucona te déshydratase	2-céto-3- désoxy-6- phosphogluco nate (KDPG) aldolase
<b>Bactéries\EC</b>	<b>2.7.1.1</b>	<b>1.1.1.49</b>	<b>3.1.1.31</b>	4.2.1.12	<b>4.1.2.14</b>
<i>Actinomyces ruminicola</i>	0	0	X	0	X
<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	0	0	X	0	0
<i>Butyrivibrio hungatei</i>	0	0	0	0	X
<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	0	0	X	0	X
<i>Corynebacterium vitaeruminis</i>	0	0	X	0	0
<i>Eubacterium ruminantium</i>	0	0	0	0	X
<i>Prauserella rugosa</i>	0	X	0	0	0
<i>Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica</i>	X	0	0	0	X
<i>Selenomonas ruminantium subsp. Ruminantium</i>	X	0	0	0	X
<i>Succiniclasticum ruminis</i>	0	0	0	0	X

**Annexe 10** - Tableau d'identification des bactéries sécrétant des enzymes intervenant dans la production d'acétate, réalisé par analyse des banques de données Hungate 1000 et UniprotKB

Nom de l'enzyme	phosphotransacétylase	succinyl-CoA:acétate CoA-transférase	succinyl-CoA synthétase	Acétate kinase
<b>Bactéries\EC</b>	<b>2.3.1.8</b>	<b>2.8.3.18</b>	<b>6.2.1.5</b>	<b>2.7.2.1</b>
<i>Acetitomaculum ruminis</i>	X	0	0	X
<i>Actinobacillus succinogenes</i>	0	0	X	0
<i>Actinomyces ruminicola</i>	X	0	0	X
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	0	0	X	X
<i>Basfia succiniciproducens</i>	0	0	X	X
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0	0	0	X
<i>Bifidobacterium boum</i>	0	0	0	X
<i>Bifidobacterium merycicum</i>	0	0	0	X
<i>Bifidobacterium pseudolongum subsp. globosum</i>	0	0	0	X
<i>Bifidobacterium ruminantium</i>	0	0	0	X
<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	0	0	X	X
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	0	0	0	0
<i>Butyrivibrio hungatei</i>	X	0	0	X
<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	X	0	0	X
<i>Cellulosilyticum ruminicola</i>	0	0	0	0
<i>Clostridium beijerinckii</i>	0	0	0	X
<i>Corynebacterium vitaeruminis</i>	0	0	0	X
<i>Denitrobacterium detoxificans</i>	X	0	0	X
<i>Enterococcus mundtii</i>	X	0	0	X
<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	X	0	0	X
<i>Eubacterium limosum</i>	X	0	0	X
<i>Eubacterium oxidoreducens</i>	X	0	0	X
<i>Eubacterium ruminantium</i>	X	0	0	X
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	0	0	0	X
<i>Lachnospira multipara</i>	0	0	0	X
<i>Megasphaera elsdenii</i>	0	0	0	X
<i>Mitsuokella jalaludinii</i>	0	0	X	0
<i>Oxobacter pfennigii</i>	0	0	0	X
<i>Porphyromonas levii</i>	0	0	0	X
<i>Prevotella bryantii</i>	0	0	0	X
<i>Prevotella ruminicola</i>	0	0	0	X
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	0	0	X	X
<i>Ruminococcus albus</i>	0	0	0	X
<i>Ruminococcus bromii</i>	0	0	0	X
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	0	0	0	X
<i>Selenomonas ruminantium</i>	0	0	X	0
<i>Selenomonas ruminantium subsp. lactylitica</i>	0	0	X	0
<i>Selenomonas ruminantium subsp. ruminantium</i>	0	0	X	0
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	0	0	0	X
<i>Terrisporobacter glycolicus</i>	0	0	0	X
<i>Treponema saccharophilum</i>	0	0	0	X

**Annexe 11** - Tableau d'identification des bactéries sécrétant des enzymes intervenant dans la production de butyrate, réalisé par analyse des banques de données Hungate 1000 et UniprotKB

Nom de l'enzyme	3-hydroxybutyryl-CoA déshydrogenase	énoyl-CoA hydratase	butyryl-CoA déshydrogénase	phosphate butyryltransférase	acétyl-CoA C-acétyltransférase	butyrate kinase	acétate CoA-transférase
<b>Bactéries\EC</b>	<b>1.1.1.157</b>	<b>4.2.1.17</b>	<b>1.3.8.1</b>	<b>2.3.1.19</b>	<b>2.3.1.9</b>	<b>2.7.2.7</b>	<b>2.8.3.8</b>
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	0	0	0	0	0	X	0
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	X	X	X	X	X	X	0
<i>Butyrivibrio hungatei</i>	0	0	0	0	0	X	0
<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	X	X	X	X	X	X	0
<i>Clostridium beijerinckii</i>	0	0	0	X	0	X	0
<i>Clostridium longisporum</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	0	X	0	0	X	0	0
<i>Eubacterium limosum</i>	0	X	0	0	X	0	X
<i>Eubacterium ruminantium</i>	0	0	0	0	0	X	0
<i>Megasphaera elsdenii</i>	0	0	X	0	0	0	0
<i>Prauserella rugosa</i>	0	0	0	0	0	X	0
<i>Pseudobutyrvibrio ruminis</i>	0	0	0	0	0	X	0
<i>Pseudobutyrvibrio xylanivorans</i>	0	0	0	0	0	X	0

**Annexe 12** - Tableau d'identification des bactéries sécrétant des enzymes intervenant dans la production de propionate, réalisé par analyse des banques de données Hungate 1000 et UniprotKB

Nom de l'enzyme	Propionyl-CoA:succinate-CoA transférase	Méthyl malonyl-CoA carboxyl transférase	L-lactate déshydrogénase	Propionate CoA transférase	Lactoyl-CoA déshydrogénase	Acrylyl-CoA réductase	Méthylmalonyl-CoA épimérase	Méthyl malonyl-CoA mutase
<b>Bactéries\EC</b>	2.8.3.27	2.1.3.1	1.1.1.27	2.8.3.1	4.2.1.54	1.3.1.95	5.1.99.1	5.4.99.2
<i>Corynebacterium vitaeruminis</i>	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus mundtii</i>	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Selenomonas ruminantium</i>	0	0	X	0	0	0	0	0
<i>Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica</i>	0	0	X	0	0	0	X	X
<i>Selenomonas ruminantium subsp. ruminantium</i>	0	0	0	0	0	0	X	X

## BIBLIOGRAPHIE

- AKIN, D.E. et BORNEMAN, W.S., 1990. Role of rumen fungi in fiber degradation. *Journal of Dairy Science*. Vol. 73 (10), pp. 3023-3032. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(90)78989-8.
- ALIMARDANI-THEUIL, P., GAINVORS-CLAISSE, A. et DUCHIRON, F., 2011. Yeasts: an attractive source of pectinases - from gene expression to potential applications: a review. *Process Biochemistry*. Vol. 46, pp. 1525-1537. DOI 10.1016/j.procbio.2011.05.010.
- ALKORTA, I., GARBISU, C., LLAMA, M. et al, 1998. Industrial applications of pectic enzymes: a review. *Process Biochemistry*. Vol. 33, (1), pp. 21-28. DOI 10.1016/S0032-9592(97)00046-0.
- AN, D., CAI, S. et DONG, X., 2006. *Actinomyces ruminicola* sp. nov., isolated from cattle rumen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol. 56, (9), pp. 2043-2048. DOI 10.1099/ijs.0.64059-0.
- ANDERSON, C., SULLIVAN, M. et FERNANDO, S., 2017. Dietary energy drives the dynamic response of bovine rumen viral communities. *Microbiome*. Vol. 5, (1), pp. 155. DOI 10.1186/s40168-017-0374-3.
- ANDERSON, K., 2007. Degradation of cellulose and starch by anaerobic bacteria. In : . pp. 359-386. ISBN 978-0-306-46239-9.
- ASANUMA, N., IWAMOTO, M. et HINO, T., 1999. Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro. *Journal of Dairy Science*. Vol. 82, (4), pp. 780-787. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(99)75296-3.
- ASCHENBACH, J., KRISTENSEN, N., DONKIN, S., et al, 2010. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB life*. Vol. 62, pp. 869-77. DOI 10.1002/iub.400.
- AVGUSTIN, G., WALLACE, R. J. et FLINT, H. J., 1997. Phenotypic diversity among ruminal isolates of *Prevotella ruminicola*: proposal of *Prevotella brevis* sp. nov., *Prevotella bryantii* sp. nov., and *Prevotella albensis* sp. nov. and redefinition of *Prevotella ruminicola*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 47, (2), pp. 284-288. DOI 10.1099/00207713-47-2-284.
- BAAR, C., EPPINGER, M., RADDATZ, G., et al, 2003. Complete genome sequence and analysis of *Wolinella succinogenes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 100, (20), pp. 11690-11695. DOI 10.1073/pnas.1932838100.
- BAILONI, L., CARRARO, L., CARDIN, M. et al, 2021. Active rumen bacterial and protozoal communities revealed by RNA-based amplicon sequencing on dairy cows fed different diets at three physiological stages. *Microorganisms*. Vol. 9, (4), pp. 754. DOI 10.3390/microorganisms9040754.
- BANNINK, A., KOGUT, J., DIJKSTRA, et al, 2006. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. *Journal of Theoretical Biology*. Vol. 238, (1), pp. 36-51. DOI 10.1016/j.jtbi.2005.05.026.
- BAYER, E. A., MORAG, E. et LAMED, R., 1994. The cellulosome--a treasure-trove for biotechnology. *Trends in Biotechnology*. Vol. 12, (9), pp. 379-386. DOI 10.1016/0167-7799(94)90039-6.

- BENGELSDORF, F., POEHLEIN, A., SCHIEL-BENGELSDORF, et al, 2015. Genome sequence of the acetogenic bacterium *Oxobacter pfennigii* DSM 3222T. *Genome Announcements*. Vol. 3, (6), pp. e01408-15. DOI 10.1128/genomeA.01408-15.
- BENNIK, M., VANLOO, B., BRASSEUR, R., et al, 1998. A novel bacteriocin with a YGNGV motif from vegetable-associated *Enterococcus mundtii* : full characterization and interaction with target organisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. Vol. 1373, (1), pp. 47-58. DOI 10.1016/S0005-2736(98)00086-8.
- BERG MILLER, M., YEOMAN, C., CHIA, N., et al, 2012. Phage-bacteria relationships and CRISPR elements revealed by a metagenomic survey of the rumen microbiome. *Environmental Microbiology*. Vol. 14, (1), pp. 207-227. DOI 10.1111/j.1462-2920.2011.02593.x.
- BERGER, E., JONES, W., JONES, D. et al, 1990. Sequencing and expression of a cellodextrinase (*ced1*) gene from *Butyrivibrio fibrisolvens* H17c cloned in *Escherichia coli*. *Molecular and General Genetics MGG*. Vol. 223, (2), pp. 310-318. DOI 10.1007/BF00265068.
- BIAVATI, B. et MATTARELLI, P., 1991. *Bifidobacterium ruminantium* sp. nov. and *Bifidobacterium merycicum* sp. nov. from the rumens of cattle. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 41, (1), pp. 163-168. DOI 10.1099/00207713-41-1-163.
- BONNIN, E., DOLO, E., LE GOFF, A. et al, 2002. Characterisation of pectin subunits released by an optimised combination of enzymes. *Carbohydrate Research*. Vol. 337, (18), pp. 1687-1696. DOI 10.1016/s0008-6215(02)00262-8.
- BRET, L. et DELCAMP, C., 2020. *Biochimie structurale ; cours, fiches et QCM*. Ellipses. ISBN 2-340-04046-9.
- BRIESACHER, S. L., MAY, T., GRIGSBY, K. N., et al, 1992. Use of DNA probes to monitor nutritional effects on ruminal prokaryotes and *Fibrobacter succinogenes* S85. *Journal of Animal Science*. Vol. 70, (1), pp. 289-295. DOI 10.2527/1992.701289x.
- BRYANT, M. P., 1956. The characteristics of strains of *Selenomonas* isolated from bovine rumen contents. *Journal of Bacteriology*. Vol. 72, (2), pp. 162-167. DOI 10.1128/jb.72.2.162-167.1956.
- BRYANT, M. P. et SMALL, N., 1956. Characteristics of two new genera of anaerobic curved rods isolated from the rumen of cattle. *Journal of Bacteriology*. Vol. 72, (1), pp. 22-26. DOI 10.1128/jb.72.1.22-26.1956.
- BRYANT, M. P., SMALL, N., BOUMA, C. et al, 1958. *Bacteroides ruminicola* n. sp. and *Succinimonas amylyolytica*; the new genus and species; species of succinic acid-producing anaerobic bacteria of the bovine rumen. *Journal of Bacteriology*. Vol. 76, (1), pp. 15-23. DOI 10.1128/jb.76.1.15-23.1958.
- CAI, S. et DONG, X., 2010. *Cellulosilyticum ruminicola* gen. nov., sp. nov., isolated from the rumen of yak, and reclassification of *Clostridium lentocellum* as *Cellulosilyticum lentocellum* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol. 60, (4), pp. 845-849. DOI 10.1099/ijms.0.014712-0.
- CAI, S., LI, J., HU, F., et al., 2010. *Cellulosilyticum ruminicola*, a newly described rumen bacterium that possesses redundant fibrolytic-protein-encoding genes and degrades

- lignocellulose with multiple carbohydrate- borne fibrolytic enzymes. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 76, (12), pp. 3818-3824. DOI 10.1128/AEM.03124-09.
- CAMERON, R., LUZIO, G., GOODNER, K. et al, 2008. Demethylation of a model homogalacturonan with a citrus salt-independent pectin methylesterase: Effect of pH on block size and number. Enzyme mode of action and resulting functionality. *Gums and Stabilisers for the Food Industry 14*. .
- CAVANAGH, D., CASEY, A., ALTERMANN, E., et al, 2015. Evaluation of *Lactococcus lactis* isolates from nondairy sources with potential dairy applications reveals extensive phenotype-genotype disparity and implications for a revised species. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 81, (12), pp. 3961-3972. DOI 10.1128/AEM.04092-14.
- CHANG, A., JESKE, L., ULBRICH, S., et al, 2021. BRENDA, the ELIXIR core data resource in 2021: new developments and updates. *Nucleic Acids Research*. Vol. 49, (D1), pp. D498-D508. DOI 10.1093/nar/gkaa1025.
- CHANG, D., JIN, T., RHEE, M., et al, 2015. Draft genome sequence of *Bordetella trematum* strain HR18. *Genome Announcements*. Vol. 3, (1), pp. e01357-14. DOI 10.1128/genomeA.01357-14.
- CHANG, Y., PUKALL, R., SAUNDERS, E., et al, 2010. Complete genome sequence of *Acidaminococcus fermentans* type strain (VR4T). *Standards in Genomic Sciences*. Vol. 3, (1), pp. 1-14. DOI 10.4056/sigs.1002553.
- CHESSON, A., STEWART, C. S., DALGARNO, K. et al, 1986. Degradation of isolated grass mesophyll, epidermis and fibre cell walls in the rumen and by cellulolytic rumen bacteria in axenic culture. *Journal of Applied Bacteriology*. Vol. 60, (4), pp. 327-336. DOI 10.1111/j.1365-2672.1986.tb01740.x.
- COLLINS, M. D., LAWSON, P. A., WILLEMS, A., et al, 1994. The phylogeny of the genus *Clostridium*: proposal of five new genera and eleven new species combinations. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 44, (4), pp. 812-826. DOI 10.1099/00207713-44-4-812.
- COTTA, M. A., 1993. Utilization of xylooligosaccharides by selected ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 59, (11), pp. 3557-3563. DOI 10.1128/aem.59.11.3557-3563.1993.
- CRAIG, W. M., BRODERICK, G. A. et RICKER, D. B., 1987. Quantitation of microorganisms associated with the particulate phase of ruminal ingesta. *The Journal of Nutrition*. Vol. 117, (1), pp. 56-62. DOI 10.1093/jn/117.1.56.
- CREEVEY, C., KELLY, W., HENDERSON, G. et al, 2014. Determining the culturability of the rumen bacterial microbiome. *Microbial Biotechnology*. Vol. 7, (5), pp. 467-479. DOI 10.1111/1751-7915.12141.
- DASSA, B., BOROVOK, I., RUIMY-ISRAELI, V., et al, 2014. Rumen cellulosomes: divergent fiber-degrading strategies revealed by comparative genome-wide analysis of six ruminococcal strains. *PLoS ONE*. Vol. 9, (7), pp. e99221. DOI 10.1371/journal.pone.0099221.

- DE MENEZES, A., LEWIS, E., O'DONOVAN, M., et al, 2011. Microbiome analysis of dairy cows fed pasture or total mixed ration diets. *FEMS microbiology ecology*. Vol. 78, (2), pp. 256-265. DOI 10.1111/j.1574-6941.2011.01151.x.
- DE VRIES, R. P. et VISSER, J., 2001. Aspergillus enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*. Vol. 65, (4), pp. 497-522, table of contents. DOI 10.1128/MMBR.65.4.497-522.2001.
- DIN, N., DAMUDE, H., GILKES, N., et al, 1994. C1-Cx revisited: intramolecular synergism in a cellulase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 91, (24), pp. 11383-11387.
- DING, S., RINCON, M., LAMED, R., et al, 2001. Cellulosomal scaffoldin-like proteins from *Ruminococcus flavefaciens*. *Journal of Bacteriology*. Vol. 183, (6), pp. 1945-1953. DOI 10.1128/JB.183.6.1945-1953.2001.
- DODD, D., MACKIE, R. et CANN, I., 2011. Xylan degradation, a metabolic property shared by rumen and human colonic Bacteroidetes. *Molecular Microbiology*. Vol. 79, (2), pp. 292-304. DOI 10.1111/j.1365-2958.2010.07473.x.
- DUMVILLE, J. et FRY, S., 2000. Uronic acid-containing oligosaccharins: their biosynthesis, degradation and signalling roles in non-diseased plant tissues. *Plant Physiology and Biochemistry*. Vol. 38. DOI 10.1016/S0981-9428(00)00163-7.
- DURAND, M., 1982. Orientation du métabolisme du rumen au moyen des additifs. *Annales de Zootechnie*. Vol. 31, (1), pp. 47-76. DOI 10.1051/animres:19820105.
- ELLIS, J. et MAGNUSON, T., 2012. Thermostable and alkalistable xylanases produced by the thermophilic bacterium *Anoxybacillus flavithermus* TWXYL3. *International Scholarly Research Notices*. Vol. 2012, pp. e517524. DOI 10.5402/2012/517524.
- EMERSON, E. et WEIMER, P., 2017. Fermentation of model hemicelluloses by *Prevotella* strains and *Butyrivibrio fibrisolvens* in pure culture and in ruminal enrichment cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 101, (10), pp. 4269-4278. DOI 10.1007/s00253-017-8150-7.
- ERIKSSON, K., BLANCHETTE, R. et ANDER, P., 1990. *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components*. Berlin, Heidelberg : Springer. Springer Series in Wood Science. ISBN 978-3-642-46689-2.
- FLIEGEROVA, K., KAERGER, K., KIRK, P. et al, 2015. Rumen fungi., Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution. New Delhi : Springer India. pp. 97-112. ISBN 978-81-322-2401-3.
- FONTY, G. et CHAUCHEYRAS-DURAND, F., 2007. Les écosystèmes digestifs. Paris Cachan : Éd. Tec & doc Éd. médicales internationales. Monographies de microbiologie. ISBN 978-2-7430-0989-2. 579.178 5
- GARNER, M., FLINT, J. et RUSSELL, J., 2002. *Allisonella histaminiformans* gen. nov., sp. nov. a novel bacterium that produces histamine, utilizes histidine as its sole energy source, and could play a role in bovine and equine laminitis. *Systematic and Applied Microbiology*. Vol. 25, (4), pp. 498-506. DOI 10.1078/07232020260517625.

- GILBERT, R., TOWNSEND, E., CREW, K., et al, 2020. Rumen virus populations: technological advances enhancing current understanding. *Frontiers in Microbiology*. Vol. 11, pp. 450. DOI 10.3389/fmicb.2020.00450.
- GREENING, R. C. et LEEDLE, J. A., 1989. Enrichment and isolation of *Acetitomaculum ruminis*, gen. nov., sp. nov.: acetogenic bacteria from the bovine rumen. *Archives of Microbiology*. Vol. 151, (5), pp. 399-406. DOI 10.1007/BF00416597.
- HACKMANN, T., NGUGI, D., FIRKINS, J. et al, 2017. Genomes of rumen bacteria encode atypical pathways for fermenting hexoses to short-chain fatty acids. *Environmental Microbiology*. Vol. 19, (11), pp. 4670-4683. DOI 10.1111/1462-2920.13929.
- HENDERSON, G., COX, F., GANESH, S., et al, 2015. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Scientific Reports*. Vol. 5, (1), pp. 14567. DOI 10.1038/srep14567.
- HENDERSON, G., COX, F., KITTELMANN, S., et al, 2013. Effect of DNA extraction methods and sampling techniques on the apparent structure of cow and sheep rumen microbial communities. *PLoS One*. Vol. 8, (9), pp. e74787. DOI 10.1371/journal.pone.0074787.
- HESPELL, R., WOLF, R. et BOTHAST, R., 1987. Fermentation of xylans by *Butyrivibrio fibrisolvens* and other ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 53, (12), pp. 2849-2853. DOI 10.1128/aem.53.12.2849-2853.1987.
- HOPGOOD, M. et WALKER, D., 1967. Succinic acid production by rumen bacteria. I. Isolation and metabolism of *Ruminococcus flavefaciens*. *Australian Journal of Biological Sciences*. Vol. 20, (1), pp. 165-182.
- HUA, D., HENDRIKS, W., XIONG, B. et al, 2022. Starch and cellulose degradation in the rumen and applications of metagenomics on ruminal microorganisms. *Animals : an Open Access Journal from MDPI*. Vol. 12, (21), pp. 3020. DOI 10.3390/ani12213020.
- HUANG, Y., MARDEN, J. P., JULIEN, C. et al, 2018. Redox potential: An intrinsic parameter of the rumen environment. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. Vol. 102, (2), pp. 393-402. DOI 10.1111/jpn.12855.
- HUNGATE, R. E., 1944. Studies on cellulose fermentation: I. The culture and physiology of an anaerobic cellulose-digesting bacterium. *Journal of Bacteriology*. Vol. 48, (5), pp. 499-513. DOI 10.1128/jb.48.5.499-513.1944.
- HUNGATE, R. E., 1960. I. Microbial ecology of the rumen. *Bacteriological Reviews*. Vol. 24, (4), pp. 353-364.
- HUNGATE, R.E., 1966. *The Rumen and Its Microbes*. Elsevier. ISBN 978-1-4832-6362-5.
- HUNTINGTON, G. B., 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal of Animal Science*. Vol. 75, (3), pp. 852-867. DOI 10.2527/1997.753852x.
- HUSSON, O., 2013. Redox potential (Eh) and pH as drivers of soil/plant/microorganism systems: a transdisciplinary overview pointing to integrative opportunities for agronomy. *Plant and Soil*. Vol. 362, (1), pp. 389-417. DOI 10.1007/s11104-012-1429-7.

- IWASAKI, K., INOUE, M. et MATSUBARA, Y., 1998. Continuous hydrolysis of pectate by immobilized endo-polygalacturonase in a continuously stirred tank reactor. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. Vol. 62, (2), pp. 262-267. DOI 10.1271/bbb.62.262.
- JACKSON, C., DREADEN, T., THEOBALD, L., et al, 2007. Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: correlation of apoptotic function with pectin structure. *Glycobiology*. Vol. 17, (8), pp. 805-819. DOI 10.1093/glycob/cwm054.
- JAMI, E. et MIZRAHI, I., 2012. Composition and similarity of bovine rumen microbiota across individual animals. *PloS One*. Vol. 7, (3), pp. e33306. DOI 10.1371/journal.pone.0033306.
- JAYANI, R., SAXENA, S. et GUPTA, R., 2005. Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*. Vol. 40, (9), pp. 2931-2944. DOI 10.1016/j.procbio.2005.03.026.
- JONES, W., NAGLE, D. et WHITMAN, W., 1987. Methanogens and the diversity of archaeobacteria. *Microbiological Reviews*. Vol. 51, (1), pp. 135-177.
- JOUANY, J. P., 1991. *Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*. Editions Quae. ISBN 978-2-7380-0345-4.
- JOUANY, J.-P., 1994. Les fermentations dans le rumen et leur optimisation. *Productions Animales*. Vol. 7, (3), pp. 207-225.
- KAMBLE, R. et JADHAV, A., 2012. Isolation, purification, and characterization of xylanase produced by a new species of *Bacillus* in solid state fermentation. *International Journal of Microbiology*. Vol. 2012, pp. e683193. DOI 10.1155/2012/683193.
- KELLY, W., LEAHY, S., ALTERMANN, et al, 2010. The glycobioime of the rumen bacterium *Butyrivibrio proteoclasticus* B316(T) highlights adaptation to a polysaccharide-rich environment. *PloS One*. Vol. 5, (8), pp. e11942. DOI 10.1371/journal.pone.0011942.
- KHATTAB, A., 2022. The Microbial Degradation for Pectin. In : . pp. 166. ISBN 978-1-83969-597-1.
- KIM, M., MORRISON, M. et YU, Z., 2011. Status of the phylogenetic diversity census of ruminal microbiomes. *FEMS microbiology ecology*. Vol. 76, (1), pp. 49-63. DOI 10.1111/j.1574-6941.2010.01029.x.
- KLIEVE, A., HECK, G., PRANCE, M. et al, 1999. Genetic homogeneity and phage susceptibility of ruminal strains of *Streptococcus bovis* isolated in Australia. *Letters in Applied Microbiology*. Vol. 29, (2), pp. 108-112. DOI 10.1046/j.1365-2672.1999.00596.x.
- KLIEVE, A., O'LEARY, M., MCMILLEN, L. et al., 2007. *Ruminococcus bromii*, identification and isolation as a dominant community member in the rumen of cattle fed a barley diet. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 103, (6), pp. 2065-2073. DOI 10.1111/j.1365-2672.2007.03492.x.
- KLIEVE, A. et SWAIN, R., 1993. Estimation of ruminal bacteriophage numbers by pulsed-field gel electrophoresis and laser densitometry. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 59, (7), pp. 2299-2303.

- KOIKE, S. et KOBAYASHI, Y., 2009. Fibrolytic rumen bacteria: their ecology and functions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. Vol. 22, (1), pp. 131-138. DOI 10.5713/ajas.2009.r.01.
- KOPEČNÝ, J., ZOREC, M., MRÁZEK, J., et al, 2003. *Butyrivibrio hungatei* sp. nov. and *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* sp. nov., butyrate-producing bacteria from the rumen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol. 53, (1), pp. 201-209. DOI 10.1099/ijs.0.02345-0.
- KRAUSE, D., NAGARAJA, T., WRIGHT, A. et al, 2013. Board-invited review: rumen microbiology: leading the way in microbial ecology. *Journal of Animal Science*. Vol. 91, (1), pp. 331-341. DOI 10.2527/jas.2012-5567.
- KRAUSE, D. et WHITAKER, R., 2015. Inferring speciation processes from patterns of natural variation in microbial genomes. *Systematic Biology*. Vol. 64, (6), pp. 926-935. DOI 10.1093/sysbio/syv050.
- KRAUSE, D., DENMAN, S., MACKIE, R., et al, 2003. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS microbiology reviews*. Vol. 27, (5), pp. 663-693. DOI 10.1016/S0168-6445(03)00072-X.
- KRUMHOLZ, L. et BRYANT, M., 1986. *Eubacterium oxidoreducens* sp. nov. requiring H<sub>2</sub> or formate to degrade gallate, pyrogallol, phloroglucinol and quercetin. *Archives of Microbiology*. Vol. 144, (1), pp. 8-14. DOI 10.1007/BF00454948.
- KUHNERT, P., SCHOLTEN, E., HAEFNER, S., et al, 2010. *Basfia succiniciproducens* gen. nov., sp. nov., a new member of the family Pasteurellaceae isolated from bovine rumen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol. 60, (1), pp. 44-50. DOI 10.1099/ijs.0.011809-0.
- LAMBIE, S., KELLY, W., LEAHY, S., et al, 2015. The complete genome sequence of the rumen methanogen *Methanosarcina barkeri* CM1. *Standards in genomic sciences*. Vol. 10, pp. 57. DOI 10.1186/s40793-015-0038-5.
- LAN, G., HO, Y. et ABDULLAH, N., 2002. *Mitsuokella jalaludinii* sp. nov., from the rumens of cattle in Malaysia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol. 52, (3), pp. 713-718. DOI 10.1099/00207713-52-3-713.
- LEATHERWOOD, J., 1965. Cellulase from *Ruminococcus albus* and mixed rumen microorganisms. *Applied Microbiology*. Vol. 13, (5), pp. 771-775.
- LECLERE, L., CUTSEM, P. et MICHIELS, C., 2013. Anti-cancer activities of pH- or heat-modified pectin. *Frontiers in Pharmacology*. Vol. 4, pp. 128. DOI 10.3389/fphar.2013.00128.
- LEFKOWITZ, E., DEMPSEY, D., HENDRICKSON, R., et al, 2018. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Research*. Vol. 46, (1), pp. D708-D717. DOI 10.1093/nar/gkx932.
- LOBO, R. et FACIOLA, A., 2021. Ruminant phages – a review. *Frontiers in Microbiology*. Vol. 12, pp. 763416. DOI 10.3389/fmicb.2021.763416.
- LOOSE, J., FORSBERG, Z., KRACHER, D., et al, 2016. Activation of bacterial lytic polysaccharide monooxygenases with cellobiose dehydrogenase. *Protein Science: A Publication of the Protein Society*. Vol. 25, (12), pp. 2175-2186. DOI 10.1002/pro.3043.

LYND L., WEIMER P., VAN ZYL W., et al., 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol. 66, (3), pp. 506-577. DOI 10.1128/mmbr.66.3.506-577.2002.

MAROUNEK, M., FLIEGROVA, K. et BARTOS, S., 1989. Metabolism and some characteristics of ruminal strains of *Megasphaera elsdenii*. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 55, (6), pp. 1570-1573. DOI 10.1128/aem.55.6.1570-1573.1989.

MCKINLAY, J., LAIVENIEKS, M., SCHINDLER, B., et al, 2010. A genomic perspective on the potential of *Actinobacillus succinogenes* for industrial succinate production. *BMC Genomics*. Vol. 11, (1), pp. 680. DOI 10.1186/1471-2164-11-680.

MICHALET-DOREAU, B., FERNANDEZ, I. et FONTY, G., 2002. A comparison of enzymatic and molecular approaches to characterize the cellulolytic microbial ecosystems of the rumen and the cecum1. *Journal of Animal Science*. Vol. 80, (3), pp. 790-796. DOI 10.2527/2002.803790x.

MICHALET-DOREAU, B., FERNANDEZ, I., PEYRON, C., et al, 2001. Fibrolytic activities and cellulolytic bacterial community structure in the solid and liquid phases of rumen contents. *Reproduction, Nutrition, Development*. Vol. 41, (2), pp. 187-194. DOI 10.1051/rnd:2001122.

MICHEL COMBO, A., AGUEDO, M. et PAQUOT, M., 2011. Les oligosaccharides pectiques : production et applications possibles. *BASE*.

MIKAMI, Bunzo, ADACHI, Motoyasu, KAGE, Takihiro, SARIKAYA, Elif, NANMORI, Takashi, SHINKE, Ryu et UTSUMI, S., 1999. Structure of raw starch-digesting *Bacillus cereus*  $\beta$ -amylase complexed with maltose . *Biochemistry*. Vol. 38, (22), pp. 7050-7061. DOI 10.1021/bi9829377.

MIRON, J., BEN-GHEDALIA, D. et MORRISON, M., 2001. Invited review: adhesion mechanisms of rumen cellulolytic bacteria. *Journal of Dairy Science*. Vol. 84, (6), pp. 1294-1309. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(01)70159-2.

MOHNEN, D., 2008. Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*. Vol. 11, (3), pp. 266-277. DOI 10.1016/j.pbi.2008.03.006.

MORGAVI, D.P., KELLY, W.J., JANSSEN, P.H. et al, 2013. Rumen microbial (meta)genomics and its application to ruminant production. *Animal*. Vol. 7, pp. 184-201. DOI 10.1017/S1751731112000419.

MORVAN, B., BONNEMOY, F., FONTY, G. et al, 1996. Quantitative determination of H<sub>2</sub>-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea from digestive tract of different mammals. *Current Microbiology*. Vol. 32, (3), pp. 129-133. DOI 10.1007/s002849900023.

MORVAN, B. et JOBLIN, K., 1999. Hydration of oleic acid by *Enterococcus gallinarum*, *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus* sp. isolated from the rumen. *Anaerobe*. Vol. 5, (6), pp. 605-611. DOI 10.1006/anae.1999.0306.

MURRAY, R., GRANNER, D., MAYES, P., et al, 1995. *Précis de biochimie de Harper*. De Boeck et Larcier. 23<sup>ème</sup> édition. ISBN 2-8041-2452-5.

- NAGARAJA, T. G. et TITGEMEYER, E. C., 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. *Journal of Dairy Science*. juin 2007. Vol. 90 Suppl 1, pp. E17-38. DOI 10.3168/jds.2006-478.
- NIHIRA, T., SAITO, Y., NISHIMOTO, M., et al, 2013. Discovery of cellobionic acid phosphorylase in cellulolytic bacteria and fungi. *FEBS Letters*. Vol. 587, (21), pp. 3556-3561. DOI 10.1016/j.febslet.2013.09.014.
- NOEL, S., 2013. Cultivation and community composition analysis of plant-adherent rumen bacteria, PhD thesis, Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- NYONYO, T., SHINKAI, T., TAJIMA, A. et al, 2013. Effect of media composition, including gelling agents, on isolation of previously uncultured rumen bacteria. *Letters in Applied Microbiology*. Vol. 56, (1), pp. 63-70. DOI 10.1111/lam.12019.
- OUWERKERK, D., KLIEVE, A. V. et FORSTER, R. J., 2002. Enumeration of *Megasphaera elsdenii* in rumen contents by real-time Taq nuclease assay. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 92, (4), pp. 753-758. DOI 10.1046/j.1365-2672.2002.01580.x.
- PASTER, B. et CANALE-PAROLA, E., 1985. *Treponema saccharophilum* sp. nov., a large pectinolytic spirochete from the bovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 50, (2), pp. 212. DOI 10.1128/aem.50.2.212-219.1985.
- PASTER, B., RUSSELL, J., YANG, C., et al, 1993. Phylogeny of the ammonia-producing ruminal bacteria *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii*, and *Clostridium aminophilum* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 43, (1), pp. 107-110. DOI 10.1099/00207713-43-1-107.
- PEDROLI, D., MONTEIRO, A., GOMES, E. et al, 2009. Pectin and pectinases: production, characterization and industrial application of microbial pectinolytic enzymes. *The Open Biotechnology Journal*. Vol. 3, pp. 9-18. DOI 10.2174/1874070700903010009.
- PERRONE, P., HEWAGE, C., THOMSON, A., et al, 2002. Patterns of methyl and O-acetyl esterification in spinach pectins: new complexity. *Phytochemistry*. Vol. 60, (1), pp. 67-77. DOI 10.1016/s0031-9422(02)00039-0.
- POPOVA, M., MORGAVI, D., DOREAU, M. et al, 2011. Methane production and ruminal microbial interactions. *Productions Animales*. Vol. 24, pp. 447-460. DOI 10.20870/productions-animales.2011.24.5.3277.
- PRINS, R., VAN VUGT, F., HUNGATE, R. et al, 1972. A comparison of strains of *Eubacterium cellulosolvens* from the rumen. *Antonie Van Leeuwenhoek*. Vol. 38, (2), pp. 153-161. DOI 10.1007/BF02328087.
- PUKALL, R., LAPIDUS, A., NOLAN, M., et al, 2009. Complete genome sequence of *Slackia heliotrinireducens* type strain (RHS 1T). *Standards in Genomic Sciences*. Vol. 1, (3), pp. 234-241. DOI 10.4056/sigs.37633.
- PUNIYA, A., SINGH, R. et KAMRA, D., 2015. *Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution*. New Delhi : Springer India. ISBN 978-81-322-2400-6.
- PURUSHE, J., FOUTS, D., MORRISON, M., et al, 2010. Comparative genome analysis of *Prevotella ruminicola* and *Prevotella bryantii*: insights into their environmental niche. *Microbial Ecology*. Vol. 60, (4), pp. 721-729. DOI 10.1007/s00248-010-9692-8.

- REEVES, A., WANG, G. et SALYERS, A., 1997. Characterization of four outer membrane proteins that play a role in utilization of starch by *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Journal of Bacteriology*. Vol. 179, (3), pp. 643-649. DOI 10.1128/jb.179.3.643-649.1997.
- RÉMOND, B., BRUGÈRE, H., PONCET, C. et al, 1994. Le contenu du réticulo-rumen. In : [en ligne]. INRA Editions. [Consulté le 10 novembre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://hal.inrae.fr/hal-02843756>
- RIDLEY, B., O'NEILL, M. et MOHNEN, D., 2001. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*. Vol. 57, (6), pp. 929-967. DOI 10.1016/s0031-9422(01)00113-3.
- ROBLES, V., 2006. Effets de la fréquence de distribution de l'aliment sur l'ingestion, le comportement d'ingestion, et la fermentation ruminale chez des génisses en engraissement intensif.
- RUSSELL, J. et WALLACE, R., 1997. Energy-yielding and energy-consuming reactions. In : HOBSON, P. N. et STEWART, C. S. (éd.), *The Rumen Microbial Ecosystem*. Dordrecht : Springer Netherlands. pp. 246-282. ISBN 978-94-009-1453-7.
- SAHA TCHINDA, J., 2015. *Caractérisation et valorisation des substances extractibles de cinq essences camerounaises majeures de l'industrie du bois : Ayous, Moabi, Movingui, Padouk et Tali*.
- SAKAI, T., SAKAMOTO, T., HALLAERT, J. et al, 1993. Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties, and applications. *Advances in Applied Microbiology*. Vol. 39, pp. 213-294. DOI 10.1016/s0065-2164(08)70597-5.
- SANG, Y., BEAN, S., SEIB, P., et al, 2008. Structure and functional properties of sorghum starches differing in amylose content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 56, (15), pp. 6680-6685. DOI 10.1021/jf800577x.
- SATTER, L. D. et ESDALE, W. J., 1968. In vitro lactate metabolism by ruminal ingesta. *Applied Microbiology*. mai 1968. Vol. 16, n° 5, pp. 680-688. DOI 10.1128/am.16.5.680-688.1968.
- SCARDOVI, V., TROVATELLI, L. D., BIAVATI, B. et al, 1979. *Bifidobacterium cuniculi*, *Bifidobacterium choerinum*, *Bifidobacterium boum*, and *Bifidobacterium pseudocatenulatum*: four new species and their deoxyribonucleic acid homology relationships. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 29, (4), pp. 291-311. DOI 10.1099/00207713-29-4-291.
- SCARDOVI, V., TROVATELLI, L. D., CROCIANI, F. et al, 1969. Bifid bacteria in bovine rumen. New species of the genus *Bifidobacterium*: *B. globosum* n.sp. and *B. ruminale* n.sp. *Archiv Fur Mikrobiologie*. Vol. 68, (3), pp. 278-294.
- SCHELLHORN, H. et FORSBERG, C., 1984. Multiplicity of extracellular  $\beta$ -(1,4)-endoglucanases of *Bacteroides succinogenes* S85. *Canadian Journal of Microbiology*. Vol. 30, (7), pp. 930-937. DOI 10.1139/m84-146.
- SESHADRI, R., LEAHY, S., ATTWOOD, G., et al, 2018. Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection. *Nature Biotechnology*. Vol. 36, (4), pp. 359-367. DOI 10.1038/nbt.4110.

- SHAH, H., COLLINS, M., OLSEN, I., et al, 1995. Reclassification of *Bacteroides levii* (Holdeman, Cato, and Moore) in the genus *Porphyromonas*, as *Porphyromonas levii* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45, 586-588
- SHARPE, M., LATHAM, M., GARVIE, E., et al, 1973. Two new species of *Lactobacillus* isolated from the bovine rumen, *Lactobacillus ruminis* sp.nov. and *Lactobacillus vitulinus* sp.nov. *Journal of General Microbiology.* Vol. 77, (1), pp. 37-49. DOI 10.1099/00221287-77-1-37.
- STINCONE, A. PRIGIONE, A., CRAMER, T., et al, 2015. The return of metabolism: biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society.* Vol. 90, (3), pp. 927-963. DOI 10.1111/brv.12140.
- STOKKERMANS, J., VAN DEN BERG, W., VAN DONGEN, W. et al, 1992. The primary structure of a protein containing a putative [6Fe-6S] prismane cluster from *Desulfovibrio desulfuricans* (ATCC 27774). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression.* Vol. 1132, (1), pp. 83-87. DOI 10.1016/0167-4781(92)90057-7.
- TAMATE, H., MCGILLIARD, A., JACOBSON, N. et al, 1962. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. *Journal of Dairy Science.* Vol. 45, (3), pp. 408-420. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(62)89406-5.
- TEERI, T., KOIVULA, A., LINDER, M., et al, 1998. *Trichoderma reesei* cellobiohydrolases: why so efficient on crystalline cellulose? *Biochemical Society Transactions.* Vol. 26, (2), pp. 173-178. DOI 10.1042/bst0260173.
- TERRY, S., BADHAN, A., WANG, Y., et al, 2019. Fibre digestion by rumen microbiota — a review of recent metagenomic and metatranscriptomic studies. MIGLIOR, Filippo (éd.), *Canadian Journal of Animal Science.* Vol. 99, (4), pp. 678-692. DOI 10.1139/cjas-2019-0024.
- THE UNIPROT CONSORTIUM, 2023. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Research.* Vol. 51, (D1), pp. D523-D531. DOI 10.1093/nar/gkac1052.
- TOMME, P., WARREN, R. et GILKES, N., 1995. Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi. *Advances in Microbial Physiology.* Vol. 37, pp. 1-81. DOI 10.1016/s0065-2911(08)60143-5.
- URRUTIA, N. et HARVATINE, K., 2017. Acetate dose-dependently stimulates milk fat synthesis in lactating dairy cows 1334. *The Journal of Nutrition.* Vol. 147, (5), pp. 763-769. DOI 10.3945/jn/116.245001.
- VAN GYLSWYK, N., HIPPE, H. et RAINEY, F. A., 1996. *Pseudobutyrvibrio ruminis* gen. nov., sp. nov., a butyrate-producing bacterium from the rumen that closely resembles *Butyrvibrio fibrisolvens* in phenotype. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* Vol. 46, (2), pp. 559-563. DOI 10.1099/00207713-46-2-559.
- VAN GYLSWYK, N., HIPPE, H., et RAINEY, F.A., 1997. *Schwartzia succinivorans* gen. nov., sp. nov., another ruminal bacterium utilizing succinate as the sole energy source - PubMed. *Int J Syst Bacteriol.* (47), pp. 155-159. DOI 10.1099/00207713-47-1-155.
- VAN GYLSWYK, N., 1995. *Succiniclasticum ruminis* gen. nov., sp. nov., a ruminal bacterium converting succinate to propionate as the sole energy-yielding mechanism. *International Journal of Systematic Bacteriology.* Vol. 45, (2), pp. 297-300. DOI 10.1099/00207713-45-2-297.

- VAREL, V., 1989. Reisolation and characterization of *Clostridium longisporum*, a ruminal sporeforming cellulolytic anaerobe. *Archives of Microbiology*. Vol. 152, (3), pp. 209-214. DOI 10.1007/BF00409652.
- WATANABE, H. et TOKUDA, G., 2001. Animal cellulases. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*. Vol. 58, (9), pp. 1167-1178. DOI 10.1007/PL00000931.
- WEBER, J., KAYSER, A. et RINAS, U., 2005. Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* in glucose-limited continuous culture. II. Dynamic response to famine and feast, activation of the methylglyoxal pathway and oscillatory behaviour. *Microbiology (Reading, England)*. Vol. 151, (3), pp. 707-716. DOI 10.1099/mic.0.27482-0.
- WEIMER, P., 2015. Redundancy, resilience, and host specificity of the ruminal microbiota: implications for engineering improved ruminal fermentations. *Frontiers in Microbiology*. Vol. 6, pp. 296. DOI 10.3389/fmicb.2015.00296.
- WEIMER, P., 2022. Degradation of cellulose and hemicellulose by ruminal microorganisms. *Microorganisms*. Vol. 10, (12), pp. 2345. DOI 10.3390/microorganisms10122345.
- WELCH, J., 1982. Rumination, particle size and passage from the rumen. *Journal of Animal Science*. Vol. 54, (4), pp. 885-894. DOI 10.2527/jas1982.544885x.
- WILLIAMS, A. et COLEMAN, G., 1992. The flagellate protozoa in the rumen. *The Rumen Protozoa*. New York, NY : Springer. pp. 368-371. Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience. ISBN 978-1-4612-2776-2.
- WOESE, C. et FOX, G., 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Vol. 74, (11), pp. 5088-5090. DOI 10.1073/pnas.74.11.5088.
- YADAV, P., MAHARJAN, J., KORPOLE, S., et al, 2018. Production, purification, and characterization of thermostable alkaline xylanase from *Anoxybacillus kamchatkensis* NASTPD13. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. Vol. 6. DOI 10.3389/fbioe.2018.00065.
- YAN, M., PRATAMA, A., SOMASUNDARAM, S., et al, 2023. Interrogating the viral dark matter of the rumen ecosystem with a global virome database. *Nature Communications*. Vol. 14, (1), pp. 5254. DOI 10.1038/s41467-023-41075-2.

NOM : CREUSEL

PRENOM : Maurine

TITRE : Rôles du microbiome bactérien ruminal dans la digestion des glucides chez les bovins : étude bibliographique métagénomique

RESUME : Les bovins, animaux herbivores polygastriques, dépendent de la dégradation enzymatique des polyholsides végétaux ingérés pour leur croissance et leur métabolisme. Cette dégradation est réalisée dans le rumen, où une communauté microbienne diversifiée produit des enzymes hydrolytiques permettant de décomposer les polymères végétaux en nutriments absorbables. Des techniques récentes ont permis d'explorer de manière plus précise sa composition, son fonctionnement et son intervention dans les processus clés du métabolisme glucidique. L'étude de la fermentation ruminale et des enzymes bactériennes impliquées est cruciale pour comprendre la digestion des glucides dans le rumen, avec des implications pour la santé et les performances des animaux, ainsi que pour la durabilité de l'élevage.

MOTS CLEFS : BOVINS, RUMEN, METABOLISME GLUCIDIQUE, BACTÉRIES, ENZYMES, FERMENTATION.

ABSTRACT : Bovines are polygastric herbivores that depend on the enzymatic degradation of plant polysaccharides for their growth and metabolism. Their degradation is carried out in the rumen, where a diverse microbial community produces hydrolytic enzymes to break down plant polymers into absorbable nutrients. Recent techniques have made it possible to deeply explore its composition and its key role in the carbohydrate metabolism. The study of ruminal fermentation and its bacterial enzymes is crucial to understand carbohydrate digestion in the rumen, with implications for animal health and performance as well as livestock sustainability.

KEYWORDS : CATTLE, RUMEN, CARBOHYDRATE METABOLISM, BACTERIA, ENZYMES, FERMENTATION