

Effets des produits de dégradation des protéines sur la croissance et l'activité protéolytique de *Streptococcus bovis*

Effects of proteolysis end-products on the growth and the proteolytic activity of *Streptococcus bovis*

M. SALES, F. LUCAS, G. BLANCHART

INPL-INRA-UHP Nancy 1, Laboratoire de Sciences Animales de l'ENSAIA, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex

INTRODUCTION

Ce travail s'inscrit dans l'objectif général de caractériser les effets des interdépendances nutritionnelles entre bactéries sur l'efficacité de la protéolyse dans le rumen. Nous avons étudié l'influence des produits de la protéolyse, acides aminés (AA) et ammoniac (NH_3), sur la croissance, l'activité protéolytique et ses produits terminaux chez *Streptococcus bovis*, bactérie très souvent impliquée dans le métabolisme azoté des ruminants (Russell *et al.*, 1981 ; Wallace et Brammall, 1985).

1. MATERIEL ET METHODES

S. bovis JB1 est cultivé en batch sur milieu synthétique avec de la caséine comme seule source de protéine. Les effets de doses physiologiques de NH_3 (5 ; 10 ; 20 ; 30 mM) et d'AA (hydrolysats acide de caséine) apportant la même quantité d'azote que NH_3 (0,27 ; 0,9 ; 1,8 ; 2,7 g/l) ont été testés indépendamment et comparés à un témoin (caséine seule) avec 3 répétitions par dose. La dégradation de la caséine est suivie en cinétique par la méthode de Bradford. En fin de phase exponentielle de croissance, les teneurs en NH_3 (électrode spécifique), en AA (CPG) et en peptides (HPLC) sont déterminées et l'activité protéolytique totale est mesurée avec de l'azocaséine comme substrat standard.

2. RESULTATS

La croissance de *S. bovis*, caractérisée par le taux spécifique de croissance (μ_{max}) et la biomasse, est stimulée par un apport de NH_3 dans le milieu dès la plus faible dose testée. Elle est maximum pour une concentration intermédiaire de l'ordre de 10 mM. Au-delà, NH_3 n'a pas d'effet supplémentaire. A cette dose, l'activité protéolytique totale est la plus faible (15 UE/ml/h/DO). Cette inhibition des capacités protéolytiques de *S. bovis* est confirmée par la baisse de la vitesse de dégradation de la caséine en cours d'incubation : - 40 à -50 % par rapport au témoin.

L'apport croissant d'AA a des effets similaires. Le (μ_{max}) n'a cependant pas encore atteint son maximum à la plus forte dose testée. L'inhibition de l'activité protéolytique est presque totale (<5 UE/ml/h/DO). La diminution de la vitesse de dégradation de la caséine en cours d'incubation traduit cette inhibition : - 70 % par rapport au témoin.

La prédominance de l'activité protéolytique associée aux cellules (80 %) disparaît lorsque la disponibilité en NH_3 ou en AA augmente. Lors d'un apport croissant de NH_3 , l'activité protéolytique libre reste constante et semble donc constitutive.

En revanche, avec les AA, l'activité protéolytique libre diminue aussi.

La quantité totale de peptides dans le milieu varie peu avec la dose de NH_3 . La proportion de grands peptides (>4 kDa) issus de l'hydrolyse de la caséine augmente de 60 % aux dépens de la classe intermédiaire (1,5-2,6 kDa) qui diminue (-27 à -40 %). D'autre part, la consommation de NH_3 est maximum (3,5 mM) dès la plus faible dose d' NH_3 testée. Très peu d'AA sont libérés dans le milieu, sauf la proline, et leur libération diminue quand l'apport d' NH_3 augmente.

La quantité de peptides totaux double quand on apporte des AA et les petits peptides (<1,5 kDa) s'accumulent massivement. La production de NH_3 est très faible (0,55 mM). *S. bovis* prélève la plupart des AA en quantité croissant avec les doses apportées. Seule la proline est plus libérée qu'absorbée.

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

NH_3 et les AA ont des effets opposés sur la croissance (stimulation) et l'activité protéolytique (inhibition) de *S. bovis*. Leurs effets distincts sur la part des activités libre et liée suggèrent qu'ils ont un mode d'action différent sur l'expression de cette activité protéolytique.

Avec NH_3 , la baisse de la libération d'azote de la caséine n'est compensée qu'en partie par l'augmentation de l'absorption de NH_3 . La caséine, bien que dégradée en quantité plus faible, donnerait plus d'AA ou de peptides absorbables ce qui stimulerait la croissance bactérienne. La classe intermédiaire (1,5-2,6 kDa) serait la principale source de l'azote absorbable. L'effet d'apports croissants d'AA sur la croissance et l'activité de *S. bovis* confirme sa préférence pour les AA exogènes dont l'utilisation ne nécessite pas une action endopeptidasique préalable ; sa faible activité désaminante laisse penser qu'il utilise les AA tels quels ou après transamination.

De telles dépendances nutritionnelles pourraient être à l'origine d'interactions entre bactéries dans le déroulement de la protéolyse. La contribution de *S. bovis* à la protéolyse dans le rumen pourrait être d'autant plus active que les protéines représenteraient une part importante de l'apport azoté de la ration.

Russell J. B., Bottje W. G., Cotta M. A., 1981. J. Anim. Sci., 53, 1, 242-252

Wallace R. J., Brammall M. L., 1985. J. Gen. Microbiol., 131, 821-832