

Séminaire en sciences animales

SAN-12474

*Les effets d'une supplémentation
en enzymes fibrolytiques exogènes dans l'alimentation
des vaches laitières*

par

François Gamache

(matricule 04 152 419)

Supervisé par

Monsieur Dany Cinq-Mars

Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation

Université Laval

Le 18 avril 2007

Résumé

Les ruminants ont la capacité d'extraire une partie de l'énergie contenue dans les fibres des fourrages au moyen des bactéries ruminales. On distingue 3 types de fibres : la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Seulement la cellulose et l'hémicellulose peuvent être hydrolysés en sucres simples tels que du glucose et du xylose. Ces sucres simples sont utilisés par les bactéries du rumen comme substrat énergétique. Afin de procéder à l'hydrolyse des fibres, les bactéries sécrètent des enzymes fibrolytiques qui coupent les molécules de cellulose et d'hémicellulose. Des chercheurs se sont demandé, dans le milieu des années 1990, si l'ajout d'enzymes fibrolytiques de source exogène entraînerait une augmentation de la digestibilité des fourrages. En ayant une plus grande activité enzymatique au niveau du rumen, une plus grande quantité d'énergie serait disponible aux bactéries. La recherche a statué qu'il y a bel et bien une augmentation de la digestibilité accompagné d'un changement dans la production d'acides gras volatils. Le résultat final tend vers une augmentation de la production laitière et d'un taux de matière grasse plus faible. Par contre, l'ajout d'enzymes fibrolytiques exogènes n'influence pas le comportement alimentaire, la consommation volontaire de matière sèche et le pH ruminal. Le mécanisme d'action exact des enzymes fibrolytiques exogènes n'est pas encore complètement connu. Contrairement à ce qu'on serait porté à le croire, il y a peu d'hydrolyse directe par les enzymes. Les enzymes agiraient surtout à titre érosif de la paroi cellulaire ce qui améliorerait l'attachement des bactéries ruminales aux particules d'aliments. Il y aurait de plus une synergie entre les enzymes exogènes et les enzymes endogènes c'est-à-dire que les enzymes exogènes stimuleraient les enzymes endogènes. Et il y aurait également une spécificité entre le type d'enzyme et le type de fourrage. Donc, la recherche a encore plusieurs zones grises à explorer.

Table des matières

1- Introduction.....	2
2- Le système digestif chez les ruminants.....	2
3- Utilisation d'enzymes fibrolytiques exogènes pour les ruminants	6
4- Revue de littérature.....	7
• 4.1- Le comportement alimentaire	7
• 4.2- La consommation volontaire de matière sèche.....	8
• 4.3- Le pH ruminal	9
• 4.4- La digestibilité	9
• 4.5- La production d'acides gras volatils	10
• 4.6- La production laitière et les composantes du lait.....	10
4.7- Résumé de la revue de littérature.....	12
5- Mode d'action des enzymes fibrolytiques de sources exogènes.....	12
6- Intérêt des enzymes fibrolytiques	14
7- Méthodes d'application d'enzymes fibrolytiques aux aliments.....	16
8- Le futur des enzymes fibrolytiques exogènes.....	17
9- Conclusion	18
Bibliographie.....	19

Liste des tableaux

Tableau 1 : Comparaison d'études sur l'effet des enzymes fibrolytiques sur la consommation volontaire de matière sèche

Tableau 2 : Effets d'une diète supplémentée en enzymes fibrolytiques sur la digestibilité

Tableau 3 : Production laitière et composantes dans le lait (selon Yang et al. 2000)

Tableau 4 : Production laitière et composantes dans le lait (selon Rode et al. 1999)

Tableau 5 : Performances de veaux holsteins en pré-sevrage recevant une ration sans et avec enzymes fibrolytiques

Liste des figures

Figure 1 : Système digestif de la vache

Figure 2 : Métabolisme énergétique chez un ruminant

Figure 3 : Structure de la cellulose et de l'hémicellulose

Figure 4 : Rendement en composantes du lait (adapté de Rode et al. 1999)

1- Introduction

La biologie est un domaine d'étude aux multiples facettes. Il suffit de s'y intéresser un peu pour se rendre compte que c'est un domaine passionnant pour ceux qui aiment découvrir les mécanismes complexes derrière toutes formes de vie. Certains mécanismes sont, encore aujourd'hui, sous l'œil attentif des chercheurs afin d'en découvrir toute la vérité. Le système digestif des ruminants est l'un de ces mécanismes pour lequel on essaie encore d'en découvrir davantage au fil du temps. Nombreuses recherches ont été effectuées en rapport avec le rumen des bovins; on essaie d'en apprendre plus sur la vitesse de passage des aliments, le synchronisme énergie-protéine, la digestibilité de différents aliments, etc. La biologie ruminale est un domaine qui devient de plus en plus pointu. On essaie d'en apprendre davantage sur les fins détails qui régissent le fonctionnement du rumen. Dans le cadre de cette revue de littérature, nous nous sommes intéressés à la supplémentation en enzymes fibrolytiques dans la ration des vaches laitières. Les enzymes fibrolytiques font parti de la microflore du rumen. À travers les pages qui suivent, il y a aura une description du mode d'action général des enzymes, une revue de littérature d'articles scientifiques portant sur les effets de la supplémentation en enzymes fibrolytiques de source exogène sur différents paramètres touchant la production laitière, une description du mode d'action spécifique des enzymes fibrolytiques exogènes, une liste des avantages et inconvénients de cette pratique, une description des méthodes d'application des enzymes aux aliments et finalement, il sera question de ce que le futur nous réserve dans l'avenir à ce sujet.

2- Le système digestif chez les ruminants

Les fourrages représentent la principale source d'énergie pour les ruminants. Cependant, la portion digérée et réellement utilisée est inférieure à 50 % de toute la quantité ingérée (Hatfield et al. 1999 cité par Eun et al. 2007). Ceci est dû aux fibres contenues dans les fourrages. La fibre est une composante essentielle des tissus végétaux qui a un rôle de support et de protection. Pratiquement toutes les plantes en possèdent et la proportion de fibre augmente avec l'âge de la plante. On distingue trois catégories de fibres; la lignine, l'hémicellulose et la cellulose. Ces trois types de fibres ne sont pas digestibles pour des monogastriques. Les polygastriques, quant à eux, ont la capacité d'extraire l'énergie contenue dans l'hémicellulose et la cellulose. Toutefois, la lignine est

la portion non digestible de la fibre. Quand on parle de fibre détergent neutre (NDF), il s'agit des trois types de fibres, dans le cas de la fibre détergent acide (ADF), il s'agit seulement de la lignine et de la cellulose.

L'extraction de l'énergie des fibres dans le rumen se fait via un processus de fermentation engendré par des bactéries, des protozoaires et des champignons. Comme le montre la figure 1, le rumen est la première partie de l'estomac et c'est à cet endroit que les particules fibreuses sont fermentées. Le rumen peut représenter jusqu'à 15 % du poids de la vache. La fermentation des particules fibreuses est un processus lent et celles-ci restent dans le rumen de 20 à 48 heures avant de passer dans l'omasum (feuillet). Cependant, les particules fines et rapidement fermentescibles ont tendance à rester moins longtemps dans le rumen. Par exemple, les grains sont rapidement fermentescibles et passent rapidement à l'omasum puisqu'ils sont peu fibreux et contiennent de l'amidon; l'amidon étant fermentescible très rapidement.

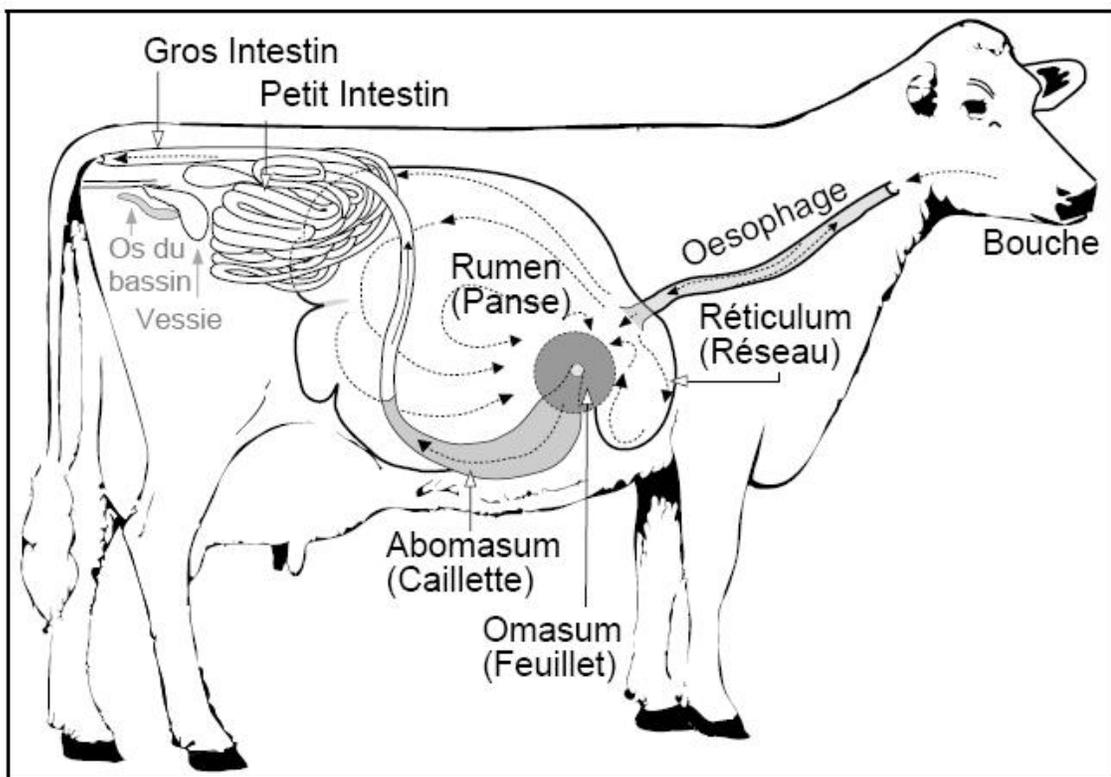


Figure 1 : Système digestif de la vache (source : Babcock Institute, 2006)

Le rumen est un milieu propice au développement de certains microorganismes dû à l'absence d'oxygène et au pH neutre qui y règne. Les bactéries permettant la digestion de la fibre sont particulièrement favorisées dans ce milieu. Ces microorganismes fermentent une partie des sucres de la paroi cellulaire des fourrages, soit l'hémicellulose et la cellulose, pour en obtenir de l'énergie. Cette énergie permet aux bactéries de croître en utilisant les protéines dégradables ingérées par la vache et ainsi, synthétiser leurs propres protéines. La plupart des protéines bactériennes ainsi formées dans le rumen sont digérées dans le petit intestin où elles deviennent la source principale d'acides aminés pour la vache. L'un des produits finaux de tout ce processus de fermentation permettant d'extraire l'énergie de la fibre par les microbes sont des acides gras volatils (AGV). Les AGV sont sans valeur énergétique pour les microbes, mais sont d'une très grande valeur énergétique pour les vaches. En fait, les AGV traversent la paroi du rumen pour être utilisés par les cellules de la vache comme substrat énergétique. La figure 2 résume très bien le métabolisme d'un ruminant. Les AGV, principalement l'acide acétique et l'acide propionique, transitent dans le foie de la vache pour être ensuite utilisés comme substrat énergétique pour ses différentes fonctions telle que la production laitière.

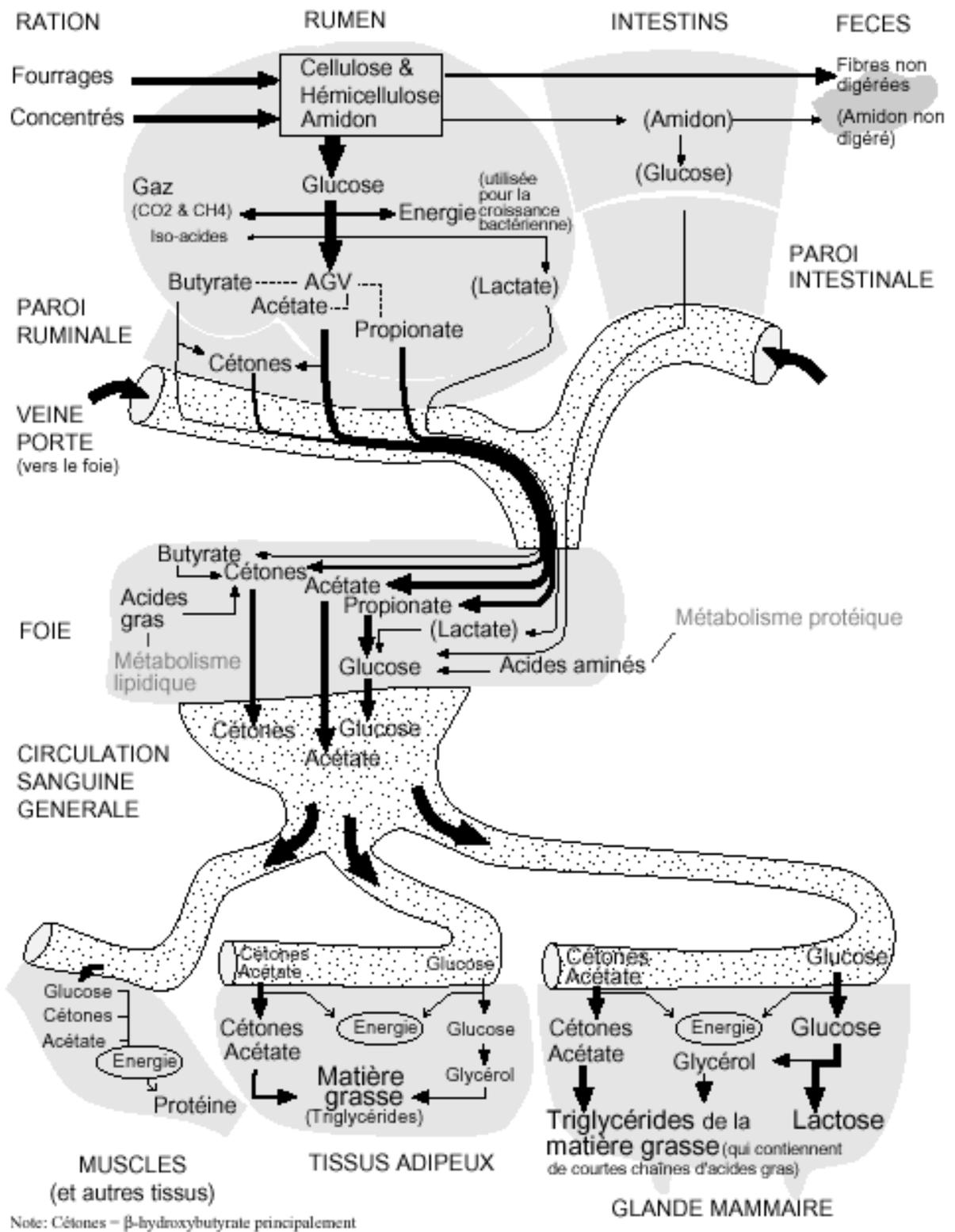


Figure 2 : Métabolisme énergétique chez un ruminant (source : Babcock Institute, 2006)

3- Utilisation d'enzymes fibrolytiques exogènes pour les ruminants

Tout d'abord, il est important, de définir ce qu'est un enzyme. Le Petit Larousse 2000 définit une enzyme comme une protéine qui catalyse une réaction chimique spécifique. La fonction des enzymes est liée à un site particulier sur la protéine appelé site actif. Par exemple, dans le cas des enzymes fibrolytiques, elles possèdent un site actif qui agit spécifiquement sur la cellulose ou l'hémicellulose. Tel que le démontre la figure 3, la cellulase hydrolyse la molécule de cellulose et l'hémicellulase s'attaque quant à elle, à l'hémicellulose. Aussi, on peut ajouter que les enzymes agissent à de très faibles concentrations et qu'elles se retrouvent intactes à la fin de la réaction.

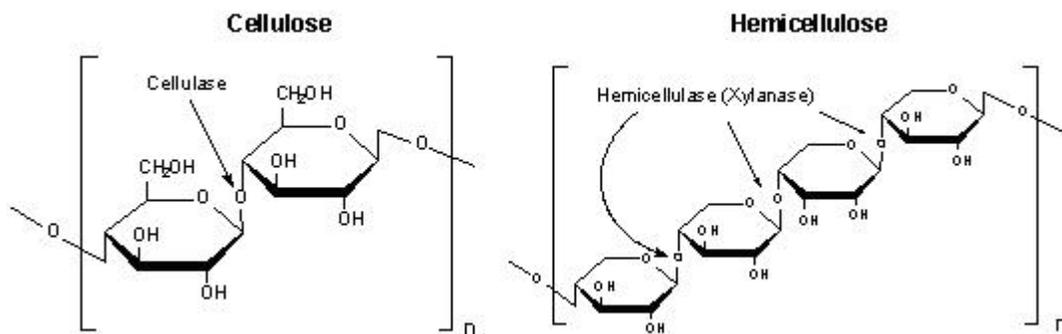


Figure 3 : Structure de la cellulose et de l'hémicellulose (source : Sigmaaldrich, 2007)

Afin d'augmenter la bio-disponibilité des nutriments contenus dans la fibre des fourrages, des chercheurs se sont demandé si l'ajout d'enzymes fibrolytiques de sources exogènes aux fourrages ne pouvait pas être justifié. Il faut savoir que tous les ruminants ont à la base un processus enzymatique qui s'attaque à la fibre dans le but de la dégrader et ainsi, d'en extraire l'énergie. L'hémicellulose et la cellulose sont digérées par des cellulases et xylanases produites par des bactéries ruminales et des protozoaires.

Il est possible de produire ces enzymes en dehors du contexte ruminal à partir de cultures fongiques; *Trichoderma longibrachiatrum*, par exemple. Ce que plusieurs chercheurs tentaient à savoir était si l'ajout de ces enzymes exogènes pouvait résulter en des effets positifs sur la production laitière et différents paramètres de production. Les premières recherches à ce sujet ont été menées vers les années 1960. Malheureusement, les produits enzymatiques utilisés provenaient de sources mal définies et les réponses des animaux étaient très variables. De plus, la production

d'enzymes exogènes était très dispendieuse et les laboratoires ne possédaient pas les outils de biologie moléculaire nécessaire. L'intérêt de cette technique est cependant revenu vers le milieu des années 1990. Lors des premières expériences sur ce sujet, beaucoup de scepticisme entourait cette nouvelle idée. Quelques membres de la communauté scientifiques croyaient que l'ajout d'enzymes de sources exogènes était inutile puisque les ruminants en possèdent déjà et que, par conséquent, l'ajout n'influencerait pas de façon significative l'activité de la biologie ruminale et, indirectement, la production laitière des vaches. De plus, plusieurs croyaient que l'enzyme ingérée serait hydrolysée par les protéases du rumen dès son entrée dans celui-ci. Donc, il était important d'effectuer des recherches pour valider ou non ces différentes hypothèses.

4- Revue de littérature

Il est très pertinent maintenant de s'intéresser aux effets concrets de l'ajout d'enzymes fibrolytiques à la ration des vaches laitières. À travers plusieurs études menées ces dernières années, nous verrons l'effet de ces enzymes sur le comportement alimentaire des vaches, le pH ruminal, la consommation volontaire de matière sèche, la digestibilité ruminale de la fibre, la production d'acides gras volatils, la production laitière et les composantes du lait.

4.1- Le comportement alimentaire

Le temps et le nombre d'épisodes de rumination ne sont pas affectés significativement par l'ajout d'enzymes fibrolytiques (Beauchemin et *al.* 2000). Bowman et *al.* (2003) sont arrivés aux mêmes résultats. Le temps passé à manger n'est lui non plus affecté par les enzymes (Beauchemin et *al.* 2000). Cependant, selon Bowman et *al.* (2003), la production de salive par les vaches qui ingèrent des enzymes fibrolytiques est supérieure. Ceci va à l'encontre de Krause et *al.* (1998), qui disent que les enzymes ont pour effet de diminuer la rumination et la production de salive dû à une diminution de l'efficacité de la fibre puisque, selon eux, les enzymes solubilisent plus vite la fibre NDF et ADF.

4.2- La consommation volontaire de matière sèche

La consommation volontaire de matière sèche (CVMS) des vaches ingérant des rations contenant des enzymes fibrolytiques a été mesurée dans plusieurs études. Le tableau 1 montre les études où une différence statistiquement significative a été enregistrée entre les traitements contrôles et les traitements avec supplémentation en enzymes fibrolytiques.

Tableau 1 : Comparaison d'études sur l'effet des enzymes fibrolytiques sur la consommation volontaire de matière sèche

Études	Différence dans la Consommation volontaire de matière sèche
Bernal <i>et al</i> , 2006	Non-significative
Sutton <i>et al</i> , 2003	Non-significative
Bowman <i>et al</i> , 2002	Non-significative
Knowlton <i>et al</i> , 2002	Non-significative
Yang <i>et al</i> , 2000	Non-significative
Beauchemin <i>et al</i> , 2000	Augmentation significative (P<0.05)
Lewis <i>et al</i> , 1999	Augmentation significative (P<0.05)
Rode <i>et al</i> , 1999	Non-significative
Stokes and Zheng, 1995	Augmentation significative (P<0.05)

On ne peut pas affirmer hors de tout doute que les enzymes fibrolytiques ont une influence directe sur l'ingestion de matière sèche vu la grande variabilité des résultats obtenus. Sur 9 études, 6 n'ont vu aucune différence significative sur la CVMS et 3 ont vu une augmentation. Même en analysant la méthodologie expérimentale de chacune de ces expériences, on ne peut pas dégager la cause de cette différence entre les expériences.

De plus, aucune recherches n'ont fait mention d'un quelconque refus de la part des vaches à consommer leur ration contenant des enzymes. Ceci n'est pas vraiment surprenant vu la petite quantité ajoutée et le fait que les enzymes ne dégagent aucune odeur particulière. On peut donc en conclure que les vaches ne goûtent pas ce produit ajouté à leurs aliments.

4.3- Le pH ruminal

Le pH ruminal n'est pas influencé par l'ajout d'enzymes fibrolytiques à la ration des vaches en lactation (Bowman et *al.* 2003). Cependant, il est intéressant de savoir que, selon Yang et *al.* (2002), certaines enzymes exogènes sont optimalement plus actives à des pH inférieurs auxquels les enzymes endogènes sont habituées. Nous savons que les bactéries cellulolytiques sont non-viables dans à un pH inférieur à 7 ce qui a évidemment un impact négatif sur la digestibilité de la fibre. Ceci impliquerait que leur ajout à la ration serait bénéfique lorsque les conditions ruminales seraient légèrement défavorables aux enzymes bactériennes. On risque de retrouver cette situation chez les vaches consommant des rations à haute teneur en concentrés.

4.4- La digestibilité

De très nombreuses recherches s'accordent pour dire que la digestibilité des rations à base de fourrages augmente avec la supplémentation en enzymes. Feng et *al.* (1996), Krause et *al.* (1998), Rode et *al.* (1999), Yang et *al.* (2000), Beauchemin et *al.* (2000) Kung et *al.* (2000) en sont arrivé également à cette conclusion. Le tableau 2 montre les résultats obtenus par Rode et *al.* en 1999. On y voit une augmentation significative de la digestibilité de la matière sèche, de la fibre NDF et de la fibre ADF. Cette augmentation de la digestibilité a été calculée après le passage des aliments dans le système digestif au complet.

Tableau 2 : Effets d'une diète supplémentée en enzymes fibrolytiques sur la digestibilité

	Ration contrôle	Ration + Enzymes fibrolytiques
Consommation matière sèche (kg/jour)	18.7	19.0
Digestibilité de la matière sèche (%)	63.9 ^a	66.6 ^b
Digestibilité de la fibre NDF (%)	42.5 ^a	51.0 ^b
Digestibilité de la fibre ADF (%)	31.7 ^a	41.9 ^b

Des lettres différentes sur une même ligne indique des résultats significativement différents (adapté de Rode et *al.* 1999)

Des études effectuées *in vitro* ont également été menées et la plupart ont résulté en une augmentation de la digestibilité de la matière sèche et de la fibre. Eun et *al.*, (2007) ont démontré que la fermentation *in vitro* du foin de luzerne et d'ensilage de maïs était améliorée.

4.5- La production d'acides gras volatils

La quantité totale d'acides gras volatils n'est pas significativement différente selon une étude de Beauchemin et *al.* effectuée en 2000. Kung et *al.* (2000) ont eu les mêmes résultats. La proportion d'acide acétique, d'acide propionique et d'acide butyrique ne change pas significativement. Bernal et *al.* ont fait une expérience sur des veaux holstein en 2006 et ont eux aussi obtenu les mêmes résultats; aucun effet significatif des enzymes fibrolytiques sur la concentration en acides gras volatils dans le fluide ruminal. Toutefois, Sutton et *al.* (2003) ont observé des résultats très intéressants; une production moins élevée d'acide acétique et plus élevée d'acide propionique. Eun et *al.*, (2007) ont aussi obtenu, pour leur part, une plus grande proportion d'acide propionique et butyrique et une plus basse proportion d'acide acétique lorsque les vaches sont alimentées avec des rations contenant des enzymes de sources exogènes. On peut donc penser que les enzymes exogènes ont vraiment un effet significatif sur la production d'acides gras volatils puisque Beauchemin, qui avait conclu en 2000 qu'il n'y avait pas de différence, est l'un des collaborateurs de Eun, qui a publié ses résultats en 2007 dans lesquels il concluait que les enzymes fibrolytiques de source exogène ont bel et bien un effet sur les AGV.

4.6- La production laitière et les composantes du lait

Yang et *al.* (2000) ont rapporté une augmentation significative de la production laitière comme le démontre le tableau qui suit. La composition en gras, protéine et lactose n'ont cependant pas varié entre les traitements.

Tableau 3 : Production laitière et composantes dans le lait

	Ration contrôle	Ration + Enzymes fibrolytiques*
Production laitière (kg/jour)	35.3 ^b	37.4 ^a
Protéine (g/kg)	3.18	3.13
Gras (g/kg)	3.34	3.19
Lactose (g/kg)	4.65	4.65
Protéine (g/jour)	1.14	1.28
Gras (g/jour)	1.24	1.18
Lactose (g/jour)	1.62	1.69

* : Les enzymes fibrolytiques ont été ajoutées aux concentrés

Des lettres différentes sur une même ligne indique des résultats significativement différents (adapté de Yang et *al.* 2000)

Il est intéressant de noter, comme on peut le voir dans le tableau 4, que Rode et *al.* (1999) ont noté, quant à eux, une diminution significative du taux de matière grasse sans toutefois noter de différence sur la quantité de lait produite.

Tableau 4 : Production laitière et composantes dans le lait

	Ration contrôle	Ration + Enzymes fibrolytiques
Production laitière (kg/jour)	35.9	39.5
Protéine (%)	3.87	3.37
Gras (%)	3.24 ^b	3.03 ^a
Lactose (%)	4.73	4.62
Protéine (Kg/jour)	1.35	1.32
Gras (Kg/jour)	1.13	1.19
Lactose (Kg/jour)	1.68	1.85

Des lettres différentes sur une même ligne indique des résultats significativement différents (adapté de Rode et *al.* 1999)

Bref, pour résumer les deux études, on remarque une augmentation de la production laitière (dans un cas, de façon significative, mais pas dans l'autre) et une diminution du taux de matières grasses (dans un cas, de façon significative, mais pas dans l'autre). La figure 4 est en lien avec l'étude de Rode et *al.* (1999) (tableau 4). On y voit la différence dans les rendements quotidiens en composantes du lait sur une période de 12 semaines pour des vaches nourries avec ou sans enzymes fibrolytiques. À noter qu'il n'y a pas eu de différence significative dans les rendements en lactose, protéines ou gras, mais il est intéressant de voir l'allure des différentes courbes.

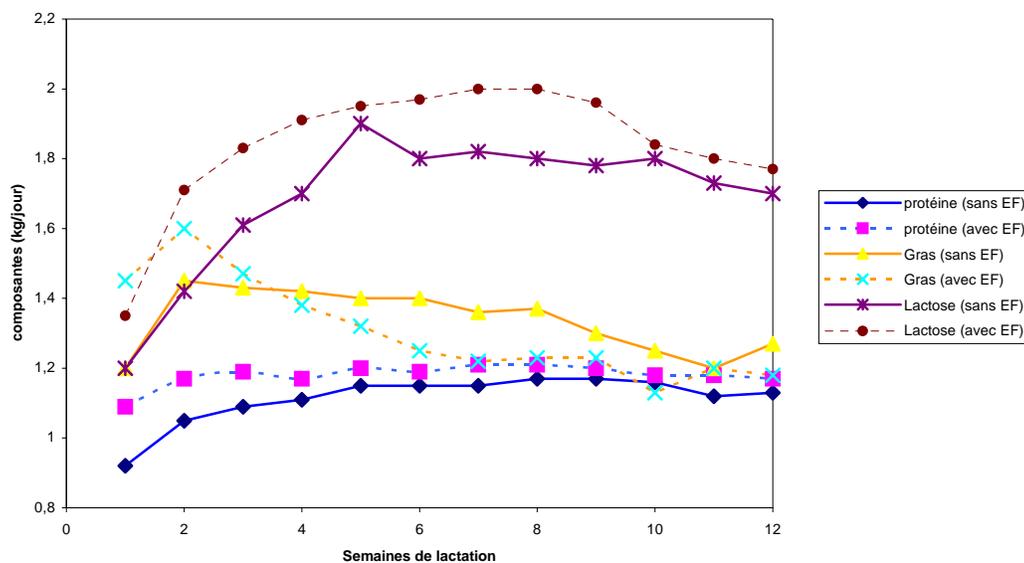


Figure 4 : Rendement en composantes du lait (adapté de Rode et *al.* (1999))

4.7- Résumé de la revue de littérature

Parmi les paramètres étudiés à travers les différentes recherches présentées dans cette revue de littérature, seulement la digestibilité de la fibre, la production d'acides gras volatils, la production laitière et la composition du lait en gras sont influencées par l'ajout d'enzymes fibrolytiques de source exogène. Seulement une étude a vu une augmentation significative de la production laitière, mais il faut dire que dans les autres études, on voit une tendance à la hausse. Même chose pour le taux de matières grasses, seulement une étude présente des résultats significatifs à la baisse, mais la même tendance à la baisse se retrouve dans d'autres études. Ensuite, la consommation volontaire de matière sèche est influencée dans quelques études, mais d'autres études affirment le contraire. Il est donc difficile de tirer une conclusion à ce sujet. Il y a aussi ambiguïté à propos du comportement alimentaire surtout au niveau de la quantité de salive produite. Quelques études n'ont pas noté de changements à propos de la production d'acides gras volatils, mais deux études plus récentes, cependant, ont noté une différence significative. Selon ces études, il y aurait une diminution d'acide acétique et une augmentation d'acide propionique. Le pH ruminal, quant à lui, n'est pas significativement différent lors de l'ajout d'enzymes fibrolytiques.

5- Mode d'action des enzymes fibrolytiques de sources exogènes

Le mode d'action des enzymes exogènes est extrêmement complexe. Avant même leur entrée dans le rumen, un processus complexe d'attachement aux fibres intervient. Au début, les enzymes n'hydrolysent pas directement les parois cellulaires, mais jouent un rôle érosif qui aidera ultérieurement la colonisation bactérienne (Nsereko et *al.* 2000). Il y aurait aussi une solubilisation partielle de la fibre NDF et ADF entraînant un relâchement de sucres digestibles selon Krause et *al.*, (1998) cité par Beauchemin et *al.*, (2003), mais cette quantité est considérée infime. Lors de l'entrée des enzymes dans le rumen, les enzymes sont protégées des protéases lorsqu'elles sont liées aux aliments. Plusieurs études indiquent que les enzymes ajoutées à la ration sont généralement très stables dans le rumen à condition qu'elles soient bien liées à la paroi cellulaire des aliments. Et c'est directement dans le rumen que toute la complexité des enzymes prend son sens. Les chercheurs s'entendent pour dire que l'hydrolyse directe de la fibre par les enzymes a un effet mineur sur l'augmentation de digestibilité. Elles aident par contre à l'attachement des bactéries aux particules.

Ceci a comme résultat une population microbienne plus grande. Donc à la base, l'augmentation de la population microbienne a pour effet d'augmenter l'activité enzymatique totale dans le rumen. Ce qui est surprenant, c'est que la majeure partie de l'augmentation de la digestibilité de la fibre serait attribuable à la synergie enzymes exogènes-enzymes endogènes (Morgavi et *al.* 2000). Le concept de cette synergie implique que la multitude d'enzymes endogènes (enzymes provenant des bactéries déjà présentes dans le rumen) seraient plus actives lors de l'ajout d'enzymes exogènes. Il y aurait un effet positif net par rapport à la somme de l'activité enzymatique des deux types d'enzymes. Le problème est que le mécanisme précis qui explique cette synergie n'est pas encore très bien compris et ce, même aujourd'hui en 2007. Mais reste que c'est pour cette raison qu'il y aurait augmentation de la digestibilité dans le rumen. De plus, les enzymes fibrolytiques exogènes agiraient encore dans le petit intestin. Il y aurait encore hydrolyse d'hydrates de carbone structuraux dans le petit intestin rendant des sucres disponibles selon Beauchemin et *al.* (1999). Cette absorption de nutriments est considérée comme minime puisque les enzymes sont rapidement hydrolysées dans le petit intestin.

Concrètement, ce qui se passe dans le rumen, c'est une augmentation de l'activité enzymatique. Plus de sucres sont hydrolysés, donc la population bactérienne augmente parce qu'elle acquiert l'énergie nécessaire à sa croissance. Pendant ce processus, il y a augmentation de la production d'acides gras volatils. On remarque une proportion plus grande d'acide propionique par rapport à l'acide acétique. C'est exactement la raison pour laquelle on note, en général, une augmentation de la production laitière et une diminution du taux de gras dans le lait. En voici la raison : comme le montre la Figure 2, l'acide propionique est un substrat du lactose contenu dans le lait. En fait, l'acide propionique devient du glucose, puis est transformé en lactose dans la glande mammaire. La quantité de lactose synthétisé dans le pis est étroitement liée à la quantité de lait produit. La concentration de lactose dans le lait est constante, c'est pourquoi les cellules du pis sécrètent de l'eau pour diluer le lactose et l'amener à un taux d'environ 4.5%. La quantité de lait produit par jour est donc directement liée à la quantité d'acide propionique synthétisé au niveau du rumen. L'ajout d'enzymes fibrolytiques fait augmenter la production laitière parce qu'il y a plus d'acide propionique synthétisé par les bactéries. La chute du taux de gras peut être attribuable, quant à elle, à la diminution de la proportion d'acide acétique produit par les bactéries. L'acide acétique est utilisé comme substrat pour synthétiser la matière grasse du lait. Il est très important de comprendre qu'il n'y a pas vraiment une diminution de la production d'acide acétique. C'est la

proportion acide acétique/acide propionique qui change. Il s'en suit une augmentation de la production laitière, mais sans vraiment d'augmentation de la production de gras. Il s'agit en fait d'une dilution du gras dans le lait. Également, comme la population bactérienne augmente, il y a augmentation de la protéine microbienne digérée par la vache au niveau de l'intestin. Cette protéine, de haute qualité, fournit les acides aminés nécessaires à la production laitière. Il n'y a pas de différence pourtant dans le taux de protéine dans le lait.

La raison pour laquelle il y aurait une plus grande proportion d'acide propionique fabriquée dans le rumen serait la synergie des enzymes endogènes – enzymes exogènes selon Beauchemin et *al.* (2003). Les enzymes fibrolytiques exogènes stimuleraient, entre autre, la population de bactéries amylolytiques fabricant l'acide propionique.

6- Intérêt des enzymes fibrolytiques

Quel est l'avantage d'ajouter des enzymes fibrolytiques à la ration des vaches laitières quand le résultat concret est une légère augmentation de la production laitière accompagné d'une baisse du taux de matière grasse? Au Québec, présentement, les producteurs ont intérêt à avoir un bon taux de matière grasse dans leur lait puisqu'ils sont payés sur cette base et ils reçoivent une prime s'ils respectent un ratio solides non-gras/gras inférieur à 2.25. Knowlton et *al.* ont effectué une étude en 2002 et ils se sont intéressé à la balance énergétique des vaches. Ils ont évalué deux groupes de vaches; un groupe en début de lactation et l'autre en fin de lactation. Le groupe de vaches en début de lactation recevant une ration contenant des enzymes a connu une perte de poids inférieure au groupe contrôle lors du premier mois de lactation. Pour ce qui est des vaches en fin de lactation, cette différence n'était pas significative. Schingoethe et *al.* (1999) en sont venus exactement aux mêmes conclusions. Dans leur expérience, les vaches en début de lactation ont eu une augmentation de 16 à 23 % de lait (lait corrigé à 4%) que les vaches nourries avec la ration contrôle. La production des vaches en milieu et fin de lactation n'a pas été influencée par la supplémentation. Ceci veut donc dire qu'on a intérêt à donner des enzymes aux vaches en début de lactation pour améliorer leur efficacité énergétique et ainsi pouvoir contrôler leur état de chair. Surtout, on sait que les vaches en début de lactation n'ont pas un appétit maximal; on maximise donc l'efficacité de leur ration en ajoutant des enzymes fibrolytiques exogènes.

Il y a aussi un intérêt à fournir une supplémentation en enzymes fibrolytiques chez d'autres ruminants comme les animaux d'engraissement. Les bovins de boucherie en sont un bon exemple. Il y a aussi dans ce cas une amélioration de l'efficacité énergétique et un gain journalier quotidien supérieur (Beauchemin et *al.*, 2001). Des études ont également été menées chez le mouton et vont dans le même sens. Toutefois, peu d'études ont été faites chez la chèvre.

Tel que mentionné, tous les polygastriques ont une population bactérienne ruminale ayant des fonctions enzymatiques afin d'extraire l'énergie de la fibre. Il est donc intéressant de mesurer l'effet des enzymes sur les polygastriques n'ayant pas encore de fonction enzymatique dans leur rumen. Il s'agit d'appliquer un régime alimentaire aux veaux au même titre que l'on fait pour les monogastriques. C'est d'ailleurs une pratique courante d'appliquer des enzymes fibrolytiques aux rations d'animaux comme les poulets pour améliorer l'efficacité alimentaire. Le veau a un système enzymatique peu développé et ceci limite sa capacité de digestion. Le fonctionnement de son système digestif repose uniquement sur sa caillette. C'est pourquoi les aliments des veaux doivent être hautement digestibles afin de maximiser l'efficacité alimentaire et pour accroître la croissance de ceux-ci. Bernal et *al.* (2006) se sont intéressés à l'effet des enzymes exogènes sur des veaux commençant l'alimentation en foin de luzerne. Le tableau 5 montre les résultats de l'expérience de Bernal et *al.* Les veaux supplémentés en enzymes fibrolytiques ont enregistré un meilleur gain moyen quotidien ainsi qu'une meilleure efficacité alimentaire. Cette donnée est très intéressante puisqu'il est prouvé qu'une bonne croissance des veaux entraînera en bout de ligne un vêlage à un plus jeune âge. Un vêlage à 24 mois est bénéfique par rapport à un vêlage à 28-29 mois pour ce qui est de la production laitière (Lefebvre, 2002). Bref, pour accroître l'efficacité alimentaire pendant le développement du rumen du veau, ajouter des enzymes fibrolytiques à sa ration est une option parfaitement envisageable.

Tableau 5 : Performances de veaux Holsteins en pré-sevrage recevant une ration sans et avec enzymes fibrolytiques

	Ration contrôle	Écart-type	Ration + Enzymes fibrolytiques	Écart- type
Ingestion de matière sèche (kg/jour)	0.93	0.07	1.11	0.06
Gain moyen quotidien (kg/jour)	0.40 ^a	0.04	0.61 ^b	0.04
Efficacité alimentaire (Gain/ingestion)	0.41 ^a	0.02	0.55 ^b	0.02

Des lettres différentes sur une même ligne indique des résultats significativement différents (adapté de Bernal et *al.* 2006)

7- Méthodes d'application d'enzymes fibrolytiques aux aliments

Des études intéressantes ont été effectuées sur les effets de la supplémentation en enzymes fibrolytiques par rapport à la méthode d'application de ces enzymes à la ration des vaches. Nsereko et *al.* (2000) rapportent qu'il faut ajouter les enzymes exogènes aux aliments secs. En effet, certains aliments humides comme des ensilages contiendraient des inhibiteurs de xylanases. De plus, Beauchemin et *al.* (2003) avancent qu'il faut appliquer les enzymes aux aliments juste avant que ceux-ci soient servis aux animaux. Lorsque servis en simultanément, les enzymes n'ont pas la possibilité de s'attacher aux parois cellulaires et ainsi, ne sont pas protégées contre les protéases ruminales. Bowman et *al.* (2002) disent qu'il faut maximiser la portion de la ration contenant les enzymes fibrolytiques. Ceci veut donc dire qu'on a avantage à appliquer les enzymes aux fourrages au lieu du pré-mélange minéral; c'est en lien avec l'importance de l'attachement des enzymes aux parois cellulaires.

La préparation d'enzymes devrait être sous forme liquide et être pulvérisée directement aux fourrages. Le problème est que cette méthode d'application n'est pas vraiment pratique dans les fermes laitières dû aux équipements de pulvérisation nécessaires.

Il existe plusieurs produits enzymatiques commerciaux pour les ruminants. Par exemple, Pulp-O-zyme (La Coop Fédérée) et Promote N.ET (Purina Agribrand). Tous les produits enzymatiques peuvent être inefficaces s'ils sont donnés en trop grande quantité ou en quantité insuffisante. Et il a été démontré que la réponse n'est pas linéaire. Ce n'est pas parce qu'on ajoute une grande quantité d'enzymes que la réponse sera grande. Et c'est normal puisque, comme mentionné précédemment, les enzymes doivent se lier aux parois cellulaires, donc il y a une compétition pour les sites de liaisons si trop d'enzymes sont ajoutés; l'augmentation de la supplémentation n'est alors pas justifiée. Présentement, des recherches se font sur ce sujet, c'est-à-dire essayer de connaître la dose idéale. Le problème est que plusieurs facteurs influencent la réponse des enzymes, le type de fourrage est un des facteurs à tenir en compte. Beauchemin et *al.* (1995) ont tenté une expérience visant à connaître la réponse des enzymes à trois types de fourrages : du foin de luzerne, du foin de mil et de l'ensilage de blé. L'effet des enzymes différerait d'un fourrage à l'autre. Ça impliquerait une spécificité entre l'enzyme et le type de fourrage. C'est pourquoi il serait intéressant de trouver une

formulation d'enzymes passe-partout qui pourrait être ajoutée aux aliments des ruminants et pour laquelle on pourrait espérer obtenir une réponse positive. Les produits commerciaux présents sur le marché sont créés justement dans l'optique d'être efficace pour tous les types de rations alimentaires. Sauf que biochimiquement parlant, c'est plus probable de penser qu'on aura de meilleurs résultats avec des enzymes spécifiques pour chaque type de fourrage. La composition et la structure des cellules végétales sont bien différentes selon les types de fourrages. La proportion des trois types de fibres (cellulose, hémicellulose et lignine) change selon l'espèce végétale. Bref, beaucoup de recherches dans ce sens sont nécessaires pour approfondir nos connaissances sur ce sujet.

8- Le futur des enzymes fibrolytiques exogènes

Comme une multitude de facteurs font varier la réponse des animaux aux enzymes, il est très important de continuer à faire des recherches pour préciser les modes d'action, les interactions entre les différentes sources d'enzymes, la spécificité aliments-enzymes, la dose à appliquer et la méthode d'application sinon l'industrie ne sera pas encouragée à utiliser cette technologie. L'industrie laitière québécoise s'attend à des résultats concrets et une réponse homogène aux enzymes avant de l'appliquer à grande échelle. Cependant, comme les expériences *in vivo* sont coûteuses, on a intérêt à faire avant de la recherche en laboratoire *in vitro* pour trouver les enzymes les plus susceptibles d'être performantes *in vivo*.

On pourrait aussi entendre parler de transgénèse dans les prochaines années. Nous n'aurions plus besoin d'ajouter des enzymes dans le rumen, mais plutôt d'ajouter des bactéries transgéniques. Le principe est simple; si l'on parvient à mettre au point des microbes du rumen doués d'une meilleure aptitude à décomposer les fibres et ayant des fonctions enzymatiques supérieures, ces microbes pourront extraire du fourrage consommé une plus forte proportion de nutriments disponibles. Il s'agit, en fait, d'isoler les gènes codant pour les enzymes fibrolytiques chez les bactéries déjà présentes dans le rumen, de les inclure dans des plasmides bactériens (par exemple, *E. coli*) pour leur multiplication puis, finalement, de les intégrer dans la bactérie hôte. Cette bactérie hôte sera déjà une bactérie ayant des fonctions enzymatiques, mais elle possèdera un plus large éventail de cibles. Elle sera dotée d'un système multi-enzymatique. Par exemple, une bactérie qui effectue surtout la fermentation de la pectine pourrait être dotée en plus de l'aptitude à digérer la

cellulose et l'hémicellulose. Par contre, il faut considérer que nous ne savons pas tout à propos de ces bactéries modifiées génétiquement; il se peut que le maintien de ses micro-organismes dans le rumen soit extrêmement difficile en raison de mécanismes d'interaction et de compétition de l'écosystème microbien complexe du rumen. Des recherches très poussées sont nécessaires afin de déterminer leur aptitude à survivre, les facteurs qui interviennent dans leur maintien dans le rumen et leurs caractéristiques de croissance. Ensuite, bien-sûr, il faudra adapter la technique, si celle-ci est valable, pour l'appliquer aux conditions réelles des producteurs laitiers.

Une nouvelle technique très intéressante a été examinée en 2003 par l'équipe de Johanne Chiquette du Centre de recherche et de développement sur le bovin laitier et le porc d'Agriculture et agroalimentaire Canada à Lennoxville. Il s'agit d'introduire une bactérie à haut pouvoir cellulolytique (*Ruminococcus flavefaciens*) dans le rumen des vaches laitières. Ce qui est de particulier, c'est que cette bactérie provient du rumen de l'original. Ils ont remarqué une augmentation de la digestibilité de la matière sèche et de la fibre au détergent neutre. Ils ont même remarqué une augmentation de la croissance des principales populations de bactéries cellulolytiques déjà présentes dans le rumen de la vache (résultats non-publié). Donc, encore ici, c'est une avenue à ne pas négliger dans les années à venir pour augmenter la digestibilité des aliments consommés par les vaches laitières.

9- Conclusion

Il est démontré que les enzymes fibrolytiques ajoutées à la ration des vaches ont un effet sur celles-ci. Ceci réfute ce que certains chercheurs ont avancé à savoir qu'il n'y aurait pas d'avantages à ajouter des enzymes à la ration des vaches puisque les ruminants en ont déjà. Les principaux effets engendrés sur lesquels les chercheurs s'entendent sont une augmentation de la digestibilité de la fibre et un changement dans la proportion d'acides gras volatils produits, ce qui en résulte une augmentation de la production laitière et une diminution du taux de matière grasse du lait. Cependant, le mécanisme par lequel les enzymes fibrolytiques agissent au niveau du rumen est complexe et est influencé par une multitude de facteurs. Il y a un besoin pour d'autres études; la recherche est loin d'être finie sur ce sujet. Ces études permettront de connaître les bons produits enzymatiques qui donneront des résultats fiables. Nous avons vu également que le futur est très prometteur en ce qui a trait à la découverte de nouvelles méthodes pour augmenter l'efficacité alimentaire des ruminants.

Bibliographie

Agriculture et agroalimentaire Canada. 2007. À la découverte des Programmes scientifiques nationaux d'AAC. Page web d'AAC. http://res2.agr.gc.ca/index_f.htm. page consultée le 4 avril 2007.

Babcock Institute. 2006. Nutrition et Alimentation, Digestion chez la vache laitière, The Babcock Institute home page. <http://babcock.cals.wisc.edu>. page consultée le 28 mars 2007.

Beauchemin, K. A., Colombatto, D., Morgavi, D. P., Rode, L. M., Yang, W. Z. 2003. Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants. *Can. J. Anim. Sci.* 387:13-22.

Beauchemin, K. A., Rode, L. M., Maekawa, M., Morgavi, D. P., et Kampen, R. 2000. Evaluation of a nonstarch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. *J. Dairy Sci.* 83:543-553.

Bernal, M. J., Lopez, F., Carrilo, M. et Munoz, J. 2006. Productive performance of Holstein calves fed different quality alfalfas and fibrolytic enzyme supplements during the pre and postweaning periods. *Téc Pecu Méx* 44(3):313-328.

Bowman, G. R., Beauchemin, K. A., et Shelford, J. A. 2003. Fibrolytic enzymes and parity effects on feeding behavior, salivation, and ruminal pH of lactating cows. *J Dairy Sci.* 86: 565-575.

Bowman, G. R., Beauchemin, K. A., et Shelford, J. A. 2002. The proportion of the diet to which fibrolytic enzymes are added affects nutrient digestion by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:3420-3429.

Eun, J. S., Beauchemin, K. A., Schulze, H. 2007. Use of exogenous fibrolytic enzymes to enhance *in vitro* fermentation of alfalfa hay and corn silage. *J. Dairy Sci.* 90:1440-1451.

Feng, P., Hunt, C. W., Pritchard, G. T., et Julien, W. E. 1996. Effect of enzyme preparations on *in situ* and *in vitro* degradation and *in vivo* digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. *J. Anim. Sci.* 74: 1349-1357.

Knowlton, K. F., McKinney, J. M., et Cobb, C. 2002. Effect of a direct-fed fibrolytic enzyme formulation on nutrient intake, partitioning, and excretion in early and late lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 85:3328-3335.

Krause, M., Beauchemin, K. A., Rode, L. M., Farr, B. I. et Norgaard, P. 1998. Fibrolytic enzymes treatment of barley grain and source of forage in high-grain diets fed to growing cattle. *J. Anim Sci.* 76: 1010-1015.

Kung, L. Jr., Cohen, M. A., Rode, L. M., et Treacher, R. J. 2002. The effect of fibrolytic enzymes sprayed onto forages and fed in a total mixed ration to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2396-2402.

Kung, L. Jr., Treacher, R. J., Nauman, G. A., Smagala, A. M., Endres, K. M. et Cohen, M. A. 2000. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:115-122.

Lefebvre, D., Brisson, J., Gosselin, B., mai 2002, Pour une production laitière supérieure, un vêlage à 24 mois au poids optimal, *Le producteur de lait québécois*, 24-27.

Lewis, G. E., Sanchez, W. K., Hunt, C. W., Guy, M. A., Pritchard, G. T., Swanson, B. I. et Treacher, R., 1999, Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows, *J. Dairy Sci.* 82:611-617.

Le Petit Larousse 2000, 1999, Les Éditions Larousse, HER, Paris, France.

Morgavi, D. P., Nsereko, V. L., Rode, L. M., Beauchemin, K. A., McAllister, T. A. et Yang, W. 2000, A *Trichoderma* feed enzyme preparation enhances adhesion of *Fibrobacter succinogenes* to complex substrates but not to pure cellulose. Proc. Of the XXV Conference on Rumen Function, Chicago, IL. P. 33.

Nsereko, V. L., Beauchemin, K. A., Morgavi, D. P., Rode, L. M., Furtado, A. F., McAllister, T. A., Iwaasa, A. D., Yang, W. Z., et Wang, Y. 2002. Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows. *Can. J. Microbiol.* 48:14-20.

Nsereko, V. L., Morgavi, D. P., Rode, L. M., Beauchemin, K. A., et McAllister, T. A. 2000, Effects of fungal enzyme preparation on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 88: 153-170.

Rode, L. M., Yang, W. Z., et Beauchemin, K. A. 1999. Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 82:2121-2126.

Schingoethe, D. J., Stegeman, G. A. et Treacher, R. J. 1999, Response of lactating dairy cows to a cellulose and xylanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding. *J. Dairy Sci.* 82: 996-1003.

Sigma-Aldrich. 2007. Enzymes for Carbohydrate Analysis and Digestion. Sigma-Aldrich home page http://www.sigmaaldrich.com/Local/SA_Splash.html. page consultée le 28 mars 2007.

Soto, M. A., Gonzalez, E. A., Serrano, A. B., Vizcarra, V. M., Garcia, D. M., Jorquera, A. P., Zinn, R. A. 2006. Influence of an exogenous fibrolytic enzyme and the maceration process of a low-quality forage on digestion and ruminal function of dry Holstein cows. *Vét. Mex.* 37(3):275-289.

Strokes, M. R. et Zheng, S. 1995, The use of carbohydrase enzymes as feed additives for early lactation cows, Biennial Conference on rumen fonction, Chigago, IL, p. 35.

Sutton, J. D., Phipps, R.H., Beever, D. E., Humphries, D. J., Hartnell, G. F., Vicini, J. L. et Hard, D. L. 2003. Effects of method of application of a fibrolytic enzyme product on digestive processes and milk production in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 86: 546-556.

Yang, W. Z., Beauchemin, K. A., et Rode, L. M. 2000. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. *J. Dairy Sci.* 83:2512-2520.