



HAL
open science

L'efficience de la synthèse de lait chez la vache laitière : effet de la nutrition sur le métabolisme du glucose et des acides aminés

Sophie Lemosquet

► To cite this version:

Sophie Lemosquet. L'efficience de la synthèse de lait chez la vache laitière : effet de la nutrition sur le métabolisme du glucose et des acides aminés. Sciences du Vivant [q-bio]. 2016. <tel-02800395>

HAL Id: tel-02800395

<https://hal.inrae.fr/tel-02800395v1>

Submitted on 5 Jun 2020

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.



HAL Authorization

Université de Rennes I

Habilitation à Diriger des Recherches

Spécialité : sciences de la vie

Préparée par

Sophie LEMOSQUET

Chargée de Recherche 1^{ère} Classe

INRA Agrocampus Ouest, UMR 1348 Physiologie, Environnement et Génétique pour l'Animal et les Systèmes d'Elevage, 35590 Saint Gilles.

Efficienc e de la synthèse de lait chez la vache laitière :
effet de la nutrition sur le métabolisme du glucose et
des acides aminés.



Rapporteurs

Patrice Martin
Sophie Tesseraud
Michel Wattiaux

Directeur de Recherches INRA
Directrice de Recherches INRA
Professeur, Université de Madison

Examineurs

Thierry Bailhache
Estelle Devillard
Philippe Schmidely

Maître de Conférence, HDR, Université de Rennes I
Docteur, ADISSEO
Professeur, AgroParisTech

SOMMAIRE

SOMMAIRE	1
REMERCIEMENTS	5
GLOSSAIRE	9
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	11
AVANT-PROPOS	14
A. CURRICULUM VITAE	15
B. LISTES DES TITRES ET TRAVAUX, CONTRAT DE RECHERCHE ET APPELS D'OFFRES OBTENUS, ET DES ACTIVITES D'ENCADREMENT	19
1. Articles à comité de lecture	19
1.1. Revues internationales	19
1.2. Conférences internationales publiées dans des ouvrages scientifiques à comité de lecture	23
2. Proceeding, résumés de communications orales ou par posters lors de congrès à comité de lecture	24
2.1. En tant qu'orateur invité	24
2.2. En tant que co-auteur d'un orateur invité	24
2.3. Communications orales avec actes et comité de lecture	25
2.3.1. Dans des congrès internationaux	25
2.3.2. Articles dans des congrès français avec comité de lecture	26
2.4. Posters avec actes et comité de lecture	27
2.4.1. Posters avec actes et comité de lecture dans un congrès international	27
2.4.2. Posters avec actes dans un congrès à comité de lecture national	29
3. Articles de synthèse dans des revues françaises à comité de lecture	29
4. Tutoriel	30
5. Conférences de vulgarisation	30
6. Résumés d'oral ou de posters de congrès avec actes	30
7. Rapports diplômants	31
8. Liste des contrats de recherche en relation avec le milieu industriel international	32
9. Obtention d'un appel d'offres	32
10. Activités d'encadrements : thèses (pourcentage de responsabilité de l'encadrement), Masters 2 et 1 ou IUT et BTS.	33
10.1. Thèses	33
10.2. Masters 2 (encadrement 100 %)	34
10.3. Masters 1 et cédures entre master 1 et master 2 (encadrement 100 %)	34
10.4. IUT et BTS (encadrement 100 %)	35

C. DOCUMENT DE SYNTHÈSE	36
I. INTRODUCTION	36
1. Description du positionnement dans l'équipe et des objectifs scientifiques	36
2. Les enjeux de maîtrise de l'efficacité et de la composition du lait	37
2.1. L'enjeu environnemental	37
2.2. Les critères de paiement du lait et les changements possibles	37
3. La synthèse des macro-constituants du lait et sa régulation	38
4. Les questions de recherche	39
II. BILAN DES ACTIVITÉS PASSÉES	41
1. Stratégie de recherche	41
1.1. Les équilibres nutritionnels étudiés	41
1.2. Choix des méthodes expérimentales pour moduler l'apport de nutriments	42
1.3. Méthodologie d'étude du métabolisme	43
1.3.1. Les mesures de flux en métabolisme	43
1.3.2. Utilisation d'approches systémiques en métabolisme	45
2. Effet des nutriments glucoformateurs sur l'insuline et d'autres hormones impliquées dans la répartition de l'utilisation des nutriments	46
2.1. Les connaissances sur la régulation du métabolisme chez les ruminants laitiers par l'insuline et l'hypothèse de Mc Clymont et Valance (1962)	47
2.1.1. Action de l'insuline	47
2.1.2. Sécrétion de l'insuline	48
2.1.3. Un modèle d'étude d'effet des nutriments sur la répartition des précurseurs de la synthèse de lait : effet du glucose intestinal sur le taux butyreux	48
2.2. Questions de recherche sur l'effet des nutriments sur l'insuline et d'autres hormones impliquées dans la répartition de l'utilisation des nutriments	49
2.3. Diminution de l'apport de précurseurs d'acide gras long du lait par l'apport de glucose intestinal	50
2.4. Quels sont les nutriments insulino-sécréteurs chez la vache laitière ?	50
2.5. Variations de la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline	52
2.6. Variations des concentrations circulantes d'hormones régulant l'homéostasie et du débit d'apparition du glucose	53
2.7. Conclusions	53
3. Effet des nutriments glucoformateurs sur le métabolisme du glucose et sa répartition entre la synthèse de lactose et d'autres utilisations	55
3.1. Rappel des connaissances sur le métabolisme du glucose des vaches laitières	55
3.2. Question de recherches sur le métabolisme du glucose des vaches laitières	57
3.3. Stratégie de recherche	58
3.4. Effets des nutriments sur le volume de lait et la synthèse de lactose	58

3.5.	Effet des nutriments glucoformateurs sur le débit d'apparition du glucose	59
3.5.1.	Le glucose intestinal est le nutriment le plus efficace pour accroître le débit d'apparition du glucose	59
	Le glucose intestinal	59
	L'acide propionique ruminal	60
	Les mélanges d'acides aminés	61
3.5.2.	Conclusions	62
3.6.	Relations entre débit d'apparition du glucose, production de lactose et volume de lait : répartition du glucose entre la synthèse de lactose et les autres utilisations	62
3.7.	Conclusions	64
4.	Effets des nutriments glucoformateurs sur la production de protéines du lait et les voies de catabolisme ou de production d'ATP	65
4.1.	Rappel du métabolisme des acides aminés chez les vaches laitières et effets des facteurs nutritionnels	66
4.1.1.	Le métabolisme de l'azote et des acides aminés chez la vache laitière	66
	Le métabolisme de l'azote	66
	Le métabolisme des AA absorbés	67
	L'intérêt de la technique des bilans d'organe	69
4.1.2.	Les facteurs alimentaires de variations de l'efficacité azotée chez les vaches laitières	70
	Les leviers zootechniques pour moduler l'efficacité azotée	70
	Les études de métabolisme sur l'effet de ces facteurs nutritionnels	72
4.1.3.	Bilan de l'analyse de la littérature	72
4.2.	Hypothèses, questions et stratégies de recherche sur la régulation de la synthèse protéique par la nutrition	73
4.3.	Réponses des matières protéiques et de l'efficacité azotée	75
4.3.1.	Effets de l'apport d'énergie	75
4.3.2.	L'apport PDI et la correction du profil en acides aminés	75
4.3.3.	Le profil en acides aminés indispensables	76
4.4.	Prélèvements et métabolisme mammaire des acides aminés	78
4.5.	Répartition de l'utilisation des AA entre la production de protéines du lait et le catabolisme	80
4.6.	Comment est modulée l'utilisation intra-mammaire des nutriments pour fournir de l'énergie (l'ATP) pour les synthèses ?	83
4.6.1.	Règles de répartition liées à l'ATP	86

4.6.2.	Répartition des nutriments dans l'essai d'apport de protéines et d'acide propionique	87
4.7.	Conclusions	88
5.	Conclusions du bilan et perspectives	91
III.	PROJET	94
1.	Les enjeux sociétaux et scientifiques	94
2.	Les questions et la stratégie de recherche sur les AA	96
2.1.	Les questions de recherche sur les AA	96
2.2.	La stratégie de recherche sur les AA	101
2.2.1.	La stratégie de recherche sur les apports	101
2.2.2.	La stratégie de recherche sur les recommandations	102
3.	La compréhension des interactions entre les productions de lactose, de protéines et de matières grasses et des phénomènes de dilution des matières protéiques par le volume de lait	105
3.1.	Les questions de recherche sur la synthèse des constituants du lait	105
3.2.	Stratégie de Recherche	108
IV.	REALISATION DE PROJETS SCIENTIFIQUES, COLLABORATIONS INTERNATIONALES (Cf. Parties B.8 et B.9 de la liste des titre et travaux ...pages 32-33)	109
V.	FORMATION A LA RECHERCHE, ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT, PRISE EN CHARGE DE RESPONSABILITES COLLECTIVES (Cf. partie B. 10 de la liste pages 33 à 35)	110
1.	Formation à la recherche	110
2.	Activités d'enseignements	111
3.	Prise de responsabilités collectives	112
VI.	CONCLUSIONS GENERALES	114
VII.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	116

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier sincèrement Sophie Tesseraud, Patrice Martin et Michel Wattiaux d'avoir accepté d'être mes rapporteurs malgré des emplois du temps très contraints. Un grand merci aussi à mes examinateurs : Philippe Schmidely qui a accepté cette tâche malgré la responsabilité d'un module d'enseignement sur le mois de mars, Thierry Bailhache pour représenter l'Université de Rennes I et Estelle Devillard pour représenter le monde de l'entreprise.

Mes remerciements vont d'abord aux thésards et stagiaires que j'ai encadrés ou dont j'ai participé à l'encadrement. Je n'oublierai jamais les aventures humaines qu'ont été les thèses de Gaston Raggio, d'Oumarou Abdou Arbi et de Naveed Haque. L'encadrement de jeunes reste l'une des motivations principales à mon travail de chercheuse. Je suis très heureuse qu'avec Oumarou et Naveed nous continuions toujours à travailler ensemble. Merci à Yoann Quiniou et Clémence Panzuti, mes derniers stagiaires pour leur aide dans le travail ingrat de méta-analyse pour « Systali ».

Mes remerciements vont également à tous ceux qui m'ont formée. Merci à Nicole Rideau, Jean Simon, Philippe Favardin et Raymond Vérité pour leur soutien et leur encadrement lors de ma thèse : ils m'ont permis d'acquérir le raisonnement et les outils de la rigueur scientifique. Ils sont les premiers à m'avoir formée à la rédaction scientifique. Cinq grands chercheurs m'ont permis de me former en métabolisme. Je souhaite une bonne retraite à Henri Rulquin. Merci à Henri pour tous nos échanges scientifiques, en particulier pour sa passion du métabolisme qu'il a su me transmettre. J'apprécie toujours énormément ses écrits et son travail sur le système Acides Aminés Digestibles dans l'Intestin (des vaches laitières) qui a marqué l'histoire. Je tiens à remercier Jean Grizard qui a su lors de la soutenance de ma thèse, me proposer un post-doctorat pour que je découvre les mesures de flux métaboliques et l'utilisation des isotopes stables. Mon post-doctorat dans le Laboratoire de Nutrition Humaine est l'une de mes meilleures aventures scientifiques, merci à toute cette équipe. Ce post-doctorat m'a permis de développer ma propre méthodologie en métabolisme. Je ne serais pas reconnue comme travaillant sur le métabolisme mammaire sans la formation sur les bilans mammaires transmise par ma collègue Jocelyne Guinard-Flament. Enfin, un très grand merci à Hélène Lapierre et Gerald Lobley qui m'ont formée sur le métabolisme des acides aminés. Je n'oublierai jamais cette semaine de novembre 2004 passée au Rowett Research Institute qui m'a permis de me forger ma propre opinion sur le métabolisme mammaire. Je dois à Hélène bien plus de choses encore.

Je tiens à remercier chaleureusement Catherine Hurtaud, ma responsable d'équipe passée (Biolait), à qui je dois énormément et bien au-delà du contexte professionnel. Catherine est pour moi un exemple dans sa capacité à faire coopérer les personnes entre elles, avec une grande gentillesse. Comment ne pas remercier Hélène Quesnel (responsable de l'équipe Lactation) et Jaap Van Milgen (directeur de l'UMR PEGASE) pour m'avoir laissé la liberté de poursuivre les travaux sur les acides aminés après REDNEX. Merci également à Christine Audoux et Jean-Baptiste Coulon pour leur soutien.

Un grand merci à Jean-Louis Peyraud, directeur de l'UMR PL qui m'a permis de collaborer avec Hélène Lapière. Jean-Louis a su ouvrir nos recherches à l'international. Un grand merci également à Philippe Favardin (directeur de l'UMR PL), qui avec Jean-Louis, m'ont confié le volet acides aminés du projet européen REDNEX. Vous m'avez fait confiance sur les changements à y apporter : je n'oublierai pas cette soirée de février 2009 où tout s'est décidé entre 19 h et 20 h. REDNEX a été et continue d'être une très belle aventure scientifique que je mène avec Naveed, Gonzalo Cantalpietra-Hijar et Isabelle Ortigues (INRA, UMRH).

Mes remerciements vont aussi à ceux qui m'ont fait découvrir la modélisation et la méta-analyse, en particulier à Philippe Favardin qui m'a fait rencontrer Anne Siegel (CNRS, IRISA, INRIA) à qui je dois une partie de ma thèse et ma titularisation par la publication de notre premier modèle. Merci à Anne Siegel, Jérémie Bourdon et Jaap Van Milgen qui ont accepté avec enthousiasme et énergie de monter et conduire la thèse de modélisation du métabolisme mammaire d'Oumarou Abdou Arbi, quelle aventure ! Merci à Florence Gondret et Masoomah Taghipoor pour leur intérêt sur ces méthodes. Merci à Daniel Sauvant qui me suit depuis ma thèse, pour tous ses conseils en méta-analyse, et surtout merci à Pierre Nozière et Daniel de me faire confiance sur le système AADI dans la rénovation du système d'alimentation des ruminants « Systali ».

Merci à tous mes collègues travaillant sur le lait pour tous ces échanges qui vont au-delà de la science : Anne Boudon et Catherine Hurtaud (équipe Alinut) et Jocelyne Guinard-Flament pour nos travaux sur la composition du lait, Jean-Noël Thibault (équipe Alinut) pour tous nos travaux sur les isotopes stables, Marion Boutinaud, Eric Chanut, Frédéric Dessauge, Vanessa Lollivier, Pierre-Guy Marnet et Hélène Quesnel (Lactation) ; Remy Delagarde, Laurence Buonocore, Luc Delaby (équipe Syslait) pour « Systali ». Un merci particulier à Luc Delaby pour sa grande pédagogie en statistiques. Merci à Lucile Montagne, Catherine Disenhaus, Vanessa Lollivier et Jocelyne Guinard-Flament de me confier des tâches d'enseignement. Je n'oublie pas de remercier mes collègues de PEGASE pour nos

discussions sur les recommandations en AA du porc en croissance (Alberto Condé, Nathalie Le Floc'h, Jean-Yves Dourmad et Jaap Van Milgen).

Un merci particulier à tous mes collègues acteurs de la recherche qui ont à cœur d'assurer le bon déroulement d'un essai, d'augmenter la précision d'une mesure ou d'un dosage. La recherche à l'INRA et en particulier en métabolisme ne serait rien sans leur savoir-faire. Mes remerciements vont à Colette Mustière à qui je dois tout le suivi du travail de laboratoire dans REDNEX et la mise en place avec Nadine Mézière des dosages d'acides aminés par UPLC/MS. Quelle joie a été l'arrivée de Sandra Wiart sur Saint-Gilles pour m'aider sur les dosages RIA puis celle de Colette Mustière : Je n'oublie pas tous les moments passés qui dépassent le contexte professionnel. Je remercie également Nicole Huchet pour les heures passées à doser les fractions azotées du lait ; à Sabrina Philau et Agnès Stark pour le développement des mesures des points de congélation du lait. Qu'auraient été ma thèse, celles de Sophie, de Gaston ou de Naveed sans un travail de laboratoire méticuleux également mené par Maryse Vérité, Sylvie Marion, Annick Brasseur, Isabelle Jicquel, Yolande Peyraud, Perrine Debournoux, Mario Leonard, Thibault Le Mouel. Merci à Jacques Lassalas (responsable de l'IEPL) pour la superbe rénovation de notre ferme de Méjusseaume. Merci à Philippe Lamberton et à son équipe de Physiologie (Jean-Luc Harel, Jean-Yves Thebault et par le passé Maryline Lemarchand) à qui un nouveau protocole expérimental n'a jamais fait peur. Merci à Daniel Chevrel pour son implication dans l'amélioration du suivi post-opératoire de nos animaux. Merci à André Cozien pour les heures passées à mettre en place et surveiller les perfusions digestives ; je lui souhaite une bonne retraite. Merci à Maryvonne Texier pour toute la préparation des échantillons. Un grand merci à toute l'équipe de l'Etable qui a relevé le défi de recommencer les essais de nutrition de précision en alimentation azotée (Joseph Orinel, Patrick et Françoise Pichot, Gaël Boulet, Jean Parois, Arnaud Mottin et ceux que j'oublie...). Un merci particulier à Ginette Théaud et Michel Fargetton à qui je souhaite une bonne retraite : ils ont pendant des années œuvré pour le respect des protocoles d'alimentation et la traçabilité des données zootechniques. La recherche ne serait rien sans nos équipes d'appui, un grand merci à Christine Le Nezet, Laurence Thébault, Marie-Claude Quintard, Bernadette Urban, Sandra Wiart pour leur aide en relations humaines, en comptabilité ou en orthographe et en informatique : votre aide n'est pas seulement un gage d'efficacité mais une garantie de travailler sans aucun souci dans le plaisir et la bonne humeur.

Merci enfin à ma famille pour m'avoir soutenue dans mon travail, en particulier à Jean-Paul, mon époux, Claire ma sœur, Marie-Thérèse ma belle-mère, et Maman sans qui je n'aurais pas pu réaliser ce mémoire. Je tiens à dire à Elodie et Jeanne, mes filles, qu'elles sont ma première source

d'épanouissement mais que le travail est aussi important, comme me l'a toujours montré mon père. Il y a 7 ans, Elodie m'avait dit angoissée : « Maman que feras-tu quand tu auras trouvé comment les vaches fabriquent le lait ? ». J'espère que ce mémoire répondra à cette angoisse démontrant que nous ne sommes pas prêts de manquer de travail.

Sophie

GLOSSAIRE

AA : Acides Aminés

AAI : Acides Aminés Indispensables

AAI-N : Azote des AAI

AA-N : Azote des AA

AANI : Acides Aminés Non Indispensables

AANI-N : Azote des AANI

AGNE : Acides Gras Non Estérifiés

AGV : Acide Gras Volatil. Il y a trois AGV majoritaires produits lors de la fermentation dans le rumen, l'acide acétique, l'acide propionique (principal précurseur de la néoglucogenèse hépatique, l'acide butyrique).

Ala : Alanine

Arg : Arginine, AA semi-indispensable considéré comme indispensable chez les vaches hautes productrices

Asp : Aspartate

FBA : « Flux Balance Analysis ». Ensemble de méthodes de modélisation des flux métaboliques

GH : somatotrophine ou hormone de croissance

Gln : Glutamine

Glu : Glutamate

IGF-I : Somatomedine C ou « Insulin Like Growth Factor I »

His : Histidine

Ile : Isoleucine

Leu : Leucine

Lys : Lysine

Met : Methionine

PDI : Protéines Digestibles dans l'Intestin (INRA, 2007). Dans INRA (2007) la valeur PDI d'une ration est la valeur minimale entre PDIN et PDIE.

PDIA : Protéines Digestibles dans l'Intestin d'Origine Alimentaire (non dégradées dans le rumen mais digestibles ; INRA, 2007).

PDIE : Protéines Disdigestibles dans l'Intestin permises par l'Energie disponible dans le rumen (INRA, 2007 : PDIE= PDIME + PDIA). Les PDIE vont disparaître dans le futur système d'alimentation des ruminants [projet « Systali », Sauvart et Nozière, 2013] du fait d'un modèle intégré du rumen

qui calculera directement les PDI en fonction de l'azote et de la matière organique fermentescible).

PDIM : Protéines Digestibles dans l'Intestin d'origine Microbienne

PDIN : Protéines Digestibles dans l'Intestin permise par l'Azote disponible dans le rumen (INRA, 2007 ; les PDIN vont disparaître dans le futur système d'alimentation des ruminants [projet « Systali », Sauvart et Nozière, 2013] du fait d'un modèle intégré du rumen qui calculera directement les PDI).

Phe : Phénylalanine

Ra : débit d'apparition (« Rate of Appearance ») du glucose mesuré par une technique de dilution d'un traceur.

Rd : débit de disparition (« Rate of Disappearance ») d'un traceur

«Systali » : projet de rénovation du système INRA d'alimentation des ruminants

Thr : Thréonine

Trp : Tryptophane

Tyr : Tyrosine

UFL : Unité d'Energie Nette « Unité Fourragère Lait », dans INRA, 2007 1 UFL = 1700 kCal.

Val : Valine

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

En face des	Pages
Tableau 1. Ensemble des essais d'apports de nutriments par perfusions digestives ou par l'alimentation, mesures associées et références correspondantes.	42
Tableau 2. Comparaison de la précision du débit plasmatique d'une demi-mamelle (L/h) chez des vaches laitières recevant deux niveaux d'apports protéiques Bas (BP) et Haut (HP) croisés avec deux niveaux d'apports d'énergie (BE et HE ; tableau repris de Lemosquet et al., 2010b [O4] et 2009c, d [C7 ; C8]).	45
Tableau 3. Répétabilité et reproductibilité (en intra-laboratoire) des concentrations plasmatiques d'acides aminés mesurés par UPLC/MS (« Ultra Performance Liquide Chromatography » couplée à un Spectromètre de Masse ; repris de Haque et al., 2012a : [A8]).	45
Tableau 4. Baisse du TP en réponse à un déséquilibre dans l'apport des trois acides aminés Val, Leu et Ile. (Haque et al., 2013 ;[A7]).	78
Tableau 5. Effet de deux niveaux d'apports protéiques (PDIE : BP et HP) croisés avec deux profils en AA (AA- et AA+) sur la répartition de l'azote des acides aminés (Haque et al., 2015 :[A3])	78
Figure 1. Débit d'apparition et de disparition du glucose chez un ruminant laitier.	43
Figure 2. Mesure du prélèvement net mammaire sur une demi-mamelle selon le principe de Fick appliqué à Phe+Tyr (Cant et al., 1993).	44
Figure 3. Comparaison (sur une base de carbone) des prélèvements nets de nutriments mesurés aux quantités de carbone exportées dans le lait et le sang veineux (CO ₂) dans l'essai de Haque et al. (2015 : [A3]). Les dosages de Phe+Tyr ont été réalisés par UPLC/MS (cf. Tableau 3 ci-dessous). Les débits plasmatiques ont été soit mesurés avec une sonde débitmétrique ou calculés selon le principe de Fick (Phe+Tyr). Les bilans carbone ont été calculés selon Lemosquet et al. (2009b : [A14]). La sonde à ultrason A (Transonic) de la vache 7016 conduisait à surestimer ses prélèvements de 50% et le ratio prélèvements nets sur exportation dans le lait de (Phe+Tyr) était de 1,26 ; ce qui n'était pas le cas sur les 3 autres vaches présentant des ratios de 1.	44
Figure 4. Diminution du taux butyreux (concentration en matières grasses) du lait en réponse à des apports d'acide propionique (C3) dans le rumen ou des apports post-rumen de glucose (GLC), exprimés en MCal d'Energie Nette (EN) par jour (d'après Rigout et al., 2003 : [A24]).	50
Figure 5. Diminution des matières grasses (MG) du lait, des acides gras longs en C18, des concentrations plasmatiques de leurs précurseurs (Triglycérides et Acides Gras Non Estérifiés [AGNE]) et de β -hydroxybutyrate (précurseur des acides gras courts) en réponse à des apports de glucose (GLC) dans le duodénum ou d'acides propionique (C3) dans le rumen (dans les essais de Lemosquet et al., 1997b [A31] ; Hurtaud et al., 2000 [A29] ; Rigout et al. 2002 a et b : [A26 ; A27] ; Lemosquet et al., 2009a [A15]).	50
Figure 6. Variation en phase post-prandiale de la glycémie, des concentrations plasmatiques d'Acides Gras Non Estérifiés (AGNE), de l'insulinémie, de l'hormone de croissance (GH). Effets de	51

l'apport de glucose dans le duodénum (■) en substitution iso-énergétique sur une base d'énergie nette à une partie de la ration (traitement témoin □). La ration est à base de maïs (repris de Lemosquet et al., 1997b [A31]).

Figure 7. Variation de concentrations plasmatiques basales d'insuline et d'IGF-I. Effets de l'apport de glucose dans le duodénum (●), d'acide propionique dans le rumen (○) (Lemosquet et al., 1997b, 2004a, 2009a, b ; Rigout et al., 2002a,b : [A15 ; A16 ; A21 ; A26 ; A27 ; A31]). 52

Figure 8. Réduction du pourcentage d'acides gras longs du lait (C18) en fonction de l'augmentation du débit d'apparition du glucose (exprimé en g) obtenue avec les perfusions de glucose intestinal (■, □), d'acide propionique ruminal (●, ○) ou d'acides aminés non indispensables (Δ) apportées en substitution (■, ●) ou en supplément (□, ○, Δ) énergétique à la ration dans trois essais (Rigout et al., 2002b ; Lemosquet et al., 2004a et Lemosquet et al., 2009a [A15 ; A21 ; A27]). 53

Figure 9. Le métabolisme du glucose chez la vache laitière (Lemosquet et al., 2009a [A15]). Débit d'apparition du glucose chez une vache laitière produisant 35 kg de lait et répartition de son utilisation (Lemosquet et al., 1997c : [R1] ; Rigout et al., 2002b : [A27] ; Lemosquet et al., 2009b : [A16] ; Galindo et al., 2011 : [A11]). 55

Figure 10. Augmentation de la production de lactose en réponse à l'apport de Protéines Digestibles dans l'Intestin (PDIE) ou en réponse à l'apport d'acide propionique dans le rumen (C3), ou de glucose (GLC) dans l'intestin (méta-analyse de Lemosquet et al., 2010b [O4]). 58

Figure 11. Lois de réponse du débit d'apparition du glucose aux nutriments glucoformateurs : glucose intestinal (■, □) acide propionique ruminal (●, ○) ou acides aminés glucoformateurs (Δ) apportés en substitution (■, ●) ou en supplément (□, ○, Δ) énergétique à la ration dans les trois essais (1,2,3 ; Rigout et al., 2002b ; Lemosquet al., 2004a et 2009a ; [A15, A21, A27]). 59

Figure 12. Loi de réponse du débit d'apparition du glucose aux apports de protéines digestibles dans l'intestin (PDIE ; Lemosquet et al., 2008a ; [C12]). 61

Figure 13. Modification du ratio (%) entre le lactose produit (g) et le débit d'apparition du glucose (g) en fonction des perfusions du glucose intestinal (■) et de l'acide propionique ruminal (●). Les rations plus les perfusions apportent les mêmes quantités d'énergie nette (Rigout et al., 2002b ; Lemosquet al., 2004a ; [A21, A27]). 63

Figure 14. Absence de relation entre le débit d'apparition du glucose (Ra) et la production mammaire de lactose : prélèvements et utilisation du glucose (GLC). Réponses à l'apport de GLC dans l'intestin, d'acide propionique dans le rumen (C3), d'acides aminés non indispensables (AANI) et de protéines sous forme de caséine (CN) dans l'intestin : comparaison avec un traitement témoin appelé contrôle (Ctrl ; Rigout et al., 2002b ; Lemosquet al., 2004a et 2009a, b ; [A15, A16, A21, A27]). 64

Figure 15. Effet de l'accroissement d'apports en protéines digestibles dans l'intestin (PDIE) sur le débit d'apparition corporel du glucose, sur les productions de matières ainsi que sur les composantes du prélèvement mammaire de glucose ((a) : 6 essais et 21 données ; (b) à (i) : 11 essais et 36 données (Lemosquet al., 2008a : [C12])). 65

Figure 16. Augmentations des matières protéiques du lait en réponse à l'apport de Protéines Digestibles dans l'Intestin (PDIE) ou à des apports d'acide propionique dans le rumen (C3) ou de glucose (GLC) dans l'intestin exprimés en MCal d'énergie nette (EN ; méta-analyse de Lemosquet et 66

al., 2010b : [O4]).

- Figure 17.** Le métabolisme de l'azote chez la vache laitière. 67
- Figure 18.** L'image du tonneau de Liebig (1828) pour représenter le concept du premier AA limitant (Mitchell et Block, 1946). 68
- Figure 19.** Le métabolisme intra-mammaire des acides aminés (source : Anison, 1983 reprise de Mephram, 1982). 69
- Figure 20.** Augmentation curvilinéaire des matières protéiques en fonction de l'apport de Protéines Digestibles dans l'Intestin (PDIE) exprimé par unité d'énergie nette (UFL : 1 UFL = 1700 Kcal ; INRA, 2007) et augmentation exponentielle du ratio entre l'azote (N) excrété dans les urines et l'azote excrété dans le lait (source : Vérité et Delaby, 2000). 70
- Figure 21.** Lois de réponses des matières protéiques à l'apport de LysDI et MetDI établies par Rulquin et al (1993) à partir d'une base de données où l'apport protéique (PDIE/UFL) était supérieur aux recommandations d'INRA (2007) de 100 PDIE/UFL. 70
- Figure 22.** Augmentation des matières protéiques en réponse à la correction du profil en acides aminés indispensables (AAI) digestibles dans l'intestin quel que soit le niveau d'apport de Protéines Digestibles dans l'Intestin (PDIE). Les profils apportés corrigeaient de 2, 4 ou 9 AAI - Gain d'efficience PDI sans interaction. On constate que l'augmentation est plus importante si l'His et la Leu sont corrigées avec la Lys et la Met (Lemosquet et al., 2014 [C11] : synthèse des résultats zootechniques du projet européen REDNEX. 76
- Figure 23.** Relation entre la clairance mammaire des acides aminés calculée selon Hanigan et al. (1998b) et leur concentration artérielle dans l'essai de Haque et al. (2015: [A3]) : BP, HP représentent respectivement les niveaux d'apports protéiques (PDI) ; AA- correspond au profil en acides aminés déséquilibré et AA+ au profil idéal proposé par Rulquin et al. (2007a, [C22]). 77
- Figure 24.** Lois de réponses des productions de lait aux apports d'HisDI (Méta-analyse de Haque et al., 2012c [C29]). 77
- Figure 25.** Prélèvements mammaires des acides aminés du groupe I (His, Met, Phe+Tyr, Trp) et II (lys, Ile, Leu, Val) de Mephram (1982) en réponse à l'apport de protéines digestibles dans l'intestin (PDIE), d'acide propionique (C3) ruminal ou de glucose (GLC) intestinal (Lemosquet et al., 2010b : [O4]) et ratio entre prélèvements et exportations dans les protéines du lait. 79
- Figure 26.** Carbones prélevés sur une base nette (en vert) ou produits par la glande mammaire (orange ; Lemosquet et al., 20010b : [O4]). AA : Acide Aminés ; AGNE : Acides gras Non Estérifiés ; β -OH : β -hydroxybutyrate. 83
- Figure 27.** Relation entre la production de protéines du lait et celles de lactose et d'acides gras synthétisés dans la glande mammaire (C4 à 50 % des C16) sur une base de carbone (Lemosquet et al., 2010b : [O4]). 84
- Figure 28.** Représentation du modèle d'O. Abdou Arbi (2014 : [A4]). 84

AVANT-PROPOS

Je suis chargée de recherche à l'INRA à l'UMR PEGASE dans l'équipe Lactation. Mes domaines de compétences sont le métabolisme, la physiologie de la lactation et la nutrition des ruminants. Après avoir participé à l'encadrement de 4 thèses, je candidate à Habilitation à Diriger des Recherches. Voici le dossier de synthèse qui comprend :

- Un Curriculum Vitae où sont retracés mon parcours et mes principales activités dont mes activités d'enseignement
- Une liste de mes titres et travaux dans laquelle sont indiquées mes publications, mes activités de contrats (B.8 et B.9), mes activités d'encadrement de thèses, de masters etc. (B.10)
- Un document de synthèse composé de 5 parties : une introduction, un bilan, un projet scientifique, les réalisations de projets et les collaborations internationales, les activités de formation par la recherche et par l'enseignement.
- Les tableaux et les figures sont placés au verso des pages.

A. CURRICULUM VITAE

Sophie Lemosquet
Née le 03 Octobre 1969 à ARRAS (62),
Mariée (épouse SIMON), 2 enfants.

INRA
UMR1348 PEGASE
Equipe Lactation
35590 Saint-Gilles.
Sophie.Lemosquet@rennes.inra.fr

Discipline de Recherche : Nutrition et Métabolisme.

Situation Professionnelle

Depuis Janvier 2012 dans l'équipe Lactation (responsable H Quesnel) de l'UMR INRA/Agrocampus ouest PEGASE (Physiologie Environnement et Génétique pour l'Animal et les Systèmes d'Elevage ; directeur : J Van Milgen).

Février 2004. Avancement au grade de Chargée de Recherche 1^{re} Classe session 2003 dans l'équipe Biolait (responsable C Hurtaud) de l'UMR Production du Lait (UMR PL : directeurs : JL Peyraud puis P Faverdin).

Juin 1998. Chargée de Recherche 2^{nde} classe à la Station de Recherches sur la Vache Laitière (SRVL, dirigée par R Vérité) de l'INRA de Rennes – St-Gilles.

Novembre 1997 - Septembre 1998/Juin 1999 - Juillet 1999. Post-doctorat dans l'Unité d'Etude du Métabolisme Azoté (dirigée par J Grizard, département NASA) dans le groupe de travail Contrôle par les Hormones et les Substrats du Métabolisme Protéique, INRA de Clermont Ferrand - Theix.

Mars 1994 - Avril 1997. Thèse en formation en alternance entre l'équipe d'Endocrinologie du Métabolisme et de la Croissance (dirigée par J. Simon) sous l'encadrement de N. Rideau, Station de Recherches Avicoles, INRA de Tours - Nouzilly et la SRVL à l'INRA Saint Gilles sous l'encadrement d'H Rulquin.

Novembre 1993. Attachée Scientifique Contractuelle à la Station de Recherches sur la Vache Laitière, INRA de Rennes- St-Gilles.

Mars 1992- Septembre 1993. Stage de DEA sur la digestion comparée des lamas et des moutons dans l'équipe Ingestion (dirigée par JP Dulphy), INRA de Clermont Ferrand - Theix.

Enseignements suivis de diplômes

1997 Doctorat de Biologie et Agronomie de l'ENSA de Rennes mention très honorable avec félicitations du jury.

1993 Diplôme d'Etudes Approfondies de l'ENSA de Rennes ; spécialité : Biologie et Agronomie ; option : Adaptations Physiologiques du Jeune Animal : Mention Bien.

1993 Diplôme d'Ingénieur Agronome de l'ENSA de Rennes ; spécialité : Sciences et Techniques des Productions Animales ; mention : Physiologie Animale Appliquée.

1992 Suivi des cours MSc. en physiologie animale et végétale en tant qu'étudiante ERASMUS à l'Université de Nottingham.

1987 Baccalauréat série C.

Formations

Juillet 2014	Traiter ses données sous R (2,5 jours).
Octobre 2013	Introduction aux méthodes mathématiques et statistiques pour les modèles dynamiques en agronomie et pour l'élevage sous R (4 jours).
Octobre 2007	Méthodes de la génétique moléculaire : les techniques de base (10 jours).
Juin 2004	Chirurgie expérimentale (5 jours).
Mai 2002	Ecole chercheur : la démarche systémique pour relever les nouveaux défis des recherches en élevage (4 jours).
Mai 2001	Analyse systémique (2 jours).
Décembre 2000	Assurance qualité (2 jours).
Avril 2000	Ecole chercheur- modélisation de systèmes à compartiments (3 jours).
Janvier 2000	Habilitation à expérimenter Niveau I (10 jours).
Novembre 1999	Rédaction scientifique en anglais (3 jours).
Mars 1999	Personne compétente en radioprotection (10 jours).

Compétences techniques

- Utilisation d'isotopes stables.
- Bilan mammaire : estimation des prélèvements mammaires par mesure du débit sanguin artériel mammaire (principe de Fick et sonde débitmétrique) et des différences de concentrations artério-veineuses sur des vaches équipées avec une sonde débitmétrique à ultrason et des cathéters artériels et veineux.
- Modélisation de systèmes biologiques : conception de modèles à base d'équations différentielles ordinaires, utilisation d'un logiciel d'optimisation et acquisition de techniques statistiques (eustachage, sensibilité) d'analyse des résultats.
- Maîtrise des techniques d'estimation de la sécrétion insulinaire et de la sensibilité à l'insuline in vivo sur ruminants laitiers (tests de tolérance, clamps hyperinsulinémiques euglycémiques et hyperglycémiques).
- Techniques de biopsies hépatiques.
- Anglais lu, écrit et parlé.

Mission à l'étranger

2013	Mission à l'Université de Madison organisée par l'ambassade de France aux Etats-Unis.
2005 - 2009	Trois missions au Canada – Collaboration avec H Lapierre, Agriculture et Agro-alimentaire Canada, Lennoxville, Sherbrooke dans le cadre de la thèse en cotutelle de G Raggio (2006-2009) et la poursuite de la collaboration.
2005	Réception de G. Lobley (Rowett Research Institute) et C. Thivierge (Université Laval Québec) dans le cadre de la collaboration initiée avec H. Lapierre ([AO4]).
2004	Mission au Rowett Research Institute. Collaboration avec G Lobley dans le cadre de la thèse de G Raggio.
2001	Mission à l'université de Berne en Suisse dans le laboratoire de JW Blum dans le cadre de notre collaboration sur la régulation endocrinienne du métabolisme du glucose.

Congrès

- 2015** Amino Acid Requirements of Dairy Cattle, ADSA Discovery Conference, Itasca, IL.
- 2013** Meeting of the Animal Science Modelling Group, Indianapolis et
Joint Annual meeting of American Society of Animal Science and American Dairy Science,
Indianapolis.
REDNEX (“Innovative and Pratical management approaches to reduce nitrogen excretion by
ruminants” FP7-KBBE-2007-1) Symposium Bucharest, Bulgarie (invitée).
- 2012 et 2011** EAAP- European Federation of Animal Science (invitée en 2011).
- 2011** International Symposium on the nutrition of Herbivores.
- 2010** 3rd International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition (invitée).
- 2009** Joint Annual meeting of American Society of Animal Science; and American Dairy Science,
Montreal, Canada.
International Symposium of Ruminant Physiology, Clermont-Ferrand.
7th International Workshop on Modelling Nutrient Digestion and Utilisation in Farm Animals,
Paris.
- 2007** 2nd International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition, Vichy.
- 2005** Joint Annual meeting of American Society of Animal Science; and American Dairy Science
Association, Minneapolis, Minnesota.
- 2004** VIth International Workshop on Nutrient Digestion and Utilization in Farm Animals: Modelling
Approches, September 6-8, 2004, Wageningen, the Netherlands.
- 2001** 4th Polish-French Symposium - Physiological Regulatory Mechanisms of Animal Growth and
Development, Paris.
- 1998** 3rd International Conference on Farm Animal Endocrinology, The Somatotropic axis, Brussels.

Activité d'enseignement et expertises scientifiques

- **Enseignement**

- 2008 - 2015** Participation au jury du master de BAPSA (Biologie Appliquée aux Productions et aux
Sciences Animales) et du master SAED (Sciences de l'Animal pour l'Élevage de Demain).
- 2008 - 2012** Membre du conseil de gestion du master BAPSA (Biologie Appliquée aux Productions
et aux Sciences Animales).
- 2004 - 2015** Plusieurs cours et TD à Agrocampus Ouest et à l'université de Rennes I en M1 et M2
sur les thématiques de la nutrition, du métabolisme, de la modélisation et de l'analyse
de la bibliographie et des méthodes expérimentales et d'analyses de laboratoires.
- 2013** Participation à la Formation continue « Bases de l'alimentation des vaches laitières »
organisée par Agrocampus ouest (1 jour).
- 2000 et 2001** Animation d'un cours et TD sur l'utilisation des isotopes stables pour étudier le
métabolisme du glucose dans le cadre d'une semaine de cours sur l'utilisation
d'isotopes stables dans les études de nutrition s'adressant aux doctorants et post-
doctorants au Wageningen Institute of Animal Sciences (Pays Bas).

- **Encadrement**

- 2009 - 2012** Participation à l'encadrement de la thèse en informatique d'O. Abdou Arbi (HDR : A.
Siegel) à l'école doctorale Matisse, Université de Rennes I.
- 2009 - 2012** Encadrante principale de la thèse de M.N. Haque (HDR : H. Rulquin), à l'école doctorale
Vie Agro Santé.

2003 - 2006 Co-encadrement de la thèse de G. Raggio thèse en cotutelle avec H. Lapiere (Agriculture et Agro-alimentaire Canada, Lennoxville, Sherbrooke Canada) entre Agrocampus ouest et l'université Laval, Québec, Canada.

2000 - 2002 Participation à l'encadrement de la thèse de S. Rigout dirigée par H. Rulquin.

2000 - 2015 Encadrement de stages, de master 2, DEA, master 1 et maîtrises, licences et BTS.

2009 - 2015 Membre de 4 comités de thèse.

- **Expertise scientifique**

2005 - 2014 Evaluation de projets de recherche de la « Discovery Grants Program » du Natural Grant and Engineering Research Council of Canada (NSERC) et auprès de Bard, the United States - Israel Binational Agricultural Research and Development Fund.

2009 Membre des comités de lecture du congrès « International Symposium of Ruminant Physiology » et des Journées du département PHASE (Physiologie Animale et Système d'Élevage).

2000 - 2015 Evaluations d'articles scientifiques (Journal of Dairy Science, Animal, Journal of Animal Science, Journal of Dairy Research, Livestock Science, INRA Productions Animales, PLoS One).

Participation à la vie collective de l'INRA

- **Activités à l'INRA**

Depuis 2014 Membre du comité de rédaction de la revue INRA Productions Animales.

- **Activités au niveau du département de recherche Physiologie Animale et Système d'Élevage (PHASE)**

2010 - 2016 Responsable de la révision du système Acides Aminés Digestibles dans l'Intestin (AADI) dans le cadre du projet « Systali » de rénovation des Systèmes d'Alimentation des Ruminants (coordonné par P Nozière, JL Peyraud et D Sauvart).

Depuis 2011 Participation à l'établissement et à l'évaluation de « grilles multiparamétriques d'évaluations de la douleur chez les ruminants » suite au projet CARNOT ICASA 2011 (D. Durand UMR H et J. Cognié Tours).

2010 - 2012 Animation du groupe de Modélisation au niveau du département PHASE : « de la biologie intégrative verticale au niveau de la glande mammaire ».

2002 - 2006 Membre élu au conseil scientifique du département PHASE.

- **Participation à la gestion collective de l'unité**

Depuis 2014 Membre du comité de pilotage pour la création de la Plateforme de Spectrométrie de masse du Centre INRA de Rennes Basse Normandie.

Depuis 2012 Membre du groupe de réflexion sur le partenariat à l'UMR PEGASE.

2000 - 2007 Membre élu au conseil de service de l'unité.

2000 - 2012 Détentrice de l'autorisation à manipuler les radioéléments.

2000 - 2007 Personne Compétente en Radioprotection.

2000 - 2015 Suivi des contrats de prestations de service et de recherche portant sur le marquage du lait par des isotopes stables et les acides aminés protégés de la dégradation du rumen.

B. LISTES DES TITRES ET TRAVAUX, CONTRAT DE RECHERCHE ET APPELS D'OFFRES OBTENUS, ET DES ACTIVITES D'ENCADREMENT

1. Articles à comité de lecture

1.1. Revues internationales

- A1. Gidlund, H., Hetta, M., Krizsan, S. J., Lemosquet, S., Huhtanen, P. 2015. Effects of soybean meal or canola meal on milk production and methane emissions in lactating dairy cows fed grass silage-based diets. *Journal of Dairy Science* 98 : 8093–8106. DOI : 10.3168/jds.2015-9757
- A2. Cantalapiedra-Hijar, G., Ortigues-Marty, I., Lemosquet, S. 2015. Diets rich in starch improve the efficiency of amino acids use by the mammary gland in lactating Jersey cows *Journal of Dairy Science* 98 : 6939-6953. DOI : 10.3168/jds.2015-9518
- A3. Hague, M.N., Guinard-Flament, J., Lambertson, P., Lemosquet, S. 2015. Changes in mammary metabolism in response to the provision of an “Ideal” amino acid profile at two levels of metabolizable protein supplies in dairy cows: consequences on efficiency. *Journal of Dairy Science* 98 : 3951-3968. DOI : 10.3168/jds.2014-8656
- A4. Abdou-Arbi, O., Lemosquet, S., Van Milgen, J., Siegel, A., Bourdon, J. 2014. Exploring metabolism flexibility in complex organisms through quantitative study of precursor sets for system outputs. *BMC systems biology* 8: 1-26. DOI : 10.1186/1752-0509-8-8
- A5. Cantalapiedra Hijar, G., Lemosquet, S., Rodriguez-Lopez, J.M., Messad, F., Ortigues-Marty, I. 2014a. Diets rich in starch increase the posthepatic availability of amino acids in dairy cows fed diets at low and normal protein levels. *Journal of Dairy Science* 97 : 1-16. DOI:10.3168/jds.2014-8019
- A6. Cantalapiedra Hijar, G., Peyraud, J.-L., Lemosquet, S., Molina-Alcaide, E., Boudra, H., Noziere, P., Ortigues-Marty, I. 2014b. Dietary carbohydrate composition modifies the milk N efficiency in late lactation cows fed low crude protein diets. *Animal* 8 : 275-285. DOI : 10.1017/S1751731113002012

- A7. Hague, M.N., Rulquin, H., Lemosquet, S. 2013. Milk protein responses in dairy cows to changes in postruminal supplies of arginine, isoleucine, and valine. *Journal of Dairy Science* 96 : 420-430. DOI : 10.3168/jds.2012-5610
- A8. Hague, M.N., Rulquin, H., Andrade, A., Faverdin, P., Peyraud, J.-L., Lemosquet, S. 2012a. Milk protein synthesis in response to the provision of an “ideal” amino acid profile at 2 levels of metabolizable protein supply in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95 : 5876-5887. DOI : 10.3168/jds.2011-5230
- A9. Lapierre, H., Lobley, G., Doepel, L., Raggio, G., Rulquin, H., Lemosquet, S. 2012. Triennial lactation symposium: Mammary metabolism of amino acids in dairy cows. *Journal of Animal Science* 90 : 1708-1721. DOI : 10.2527/jas.2011-4645
- A10. Guinard-Flament, J., Lemosquet, S., Delamaire, E., Le Bris, G., Lambertton, P., Hurtaud, C. 2011a. Alteration of the nutrient uptake by the udder over an extended milking interval in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94 : 5458-5468. DOI : 10.3168/jds.2011-4268
- A11. Galindo, C., Ouellett, D., Pellerin, D., Lemosquet, S., Ortigues-Marty, I., Lapierre, H. 2011. Effect of amino acid or casein supply on whole-body, splanchnic, and mammary glucose kinetics in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94 : 5558-5568. DOI : 10.3168/jds.2010-3978
- A12. Luengo, C., Azzout-Marniche, D., Fromentin, C., Piedcoq, J., Lemosquet, S., Tomé, D., Gaudichon, C. 2009. [C-13] GC-C-IRMS analysis of methylboronic acid derivatives of glucose from liver glycogen after the ingestion of [C-13] labeled tracers in rats. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 877 : 3638-3644. DOI : 10.1016/j.jchromb.2009.09.005
- A13. Koopman, R., Crombach, N., Gijsen, A., Walrand, S., Fauquant, J., Kies, A., Lemosquet, S., Saris, W., Boirie, Y., van Loon, L. 2009. Ingestion of a protein hydrolysate is accompanied by an accelerated in vivo digestion and absorption rate when compared with its intact protein. *American Journal of Clinical Nutrition* 90 : 106-115. DOI : 10.3945/ajcn.2009.27474
- A14. Van Loon, L.J.C., Boirie, Y., Gijsen, A.P., Fauquant, J., de Roos, A.L., Kies, A.K., Lemosquet, S., Saris, W.H.M., Koopman, R. 2009. The production of intrinsically labeled milk protein provides a functional tool for human nutrition research. *Journal of Dairy Science* 92 : 4812-4822. DOI : 10.3168/jds.2009-2317

- A15. Lemosquet, S., Delamaire, E., Lapierre, H., Blum, J.W., Peyraud, J.-L. 2009a. Effects of glucose, propionic acid, and nonessential amino acids on glucose metabolism and milk yield in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92 : 3244-3257. DOI : 10.3168/jds.2008-1610
- A16. Lemosquet, S., Raggio, G., Lobley, G.E., Rulquin, H., Guinard-Flament, J., Lapierre, H. 2009b. Whole-body glucose metabolism and mammary energetic nutrient metabolism in lactating dairy cows receiving digestive infusions of casein and propionic acid. *Journal of Dairy Science* 92 : 6068-6082. DOI : 10.3168/jds.2009-2018
- A17. Guinard-Flament, J., Delamaire, E., Lemosquet, S., Boutinaud, M., David, Y. 2006. Changes in mammary uptake and metabolic fate of glucose with once-daily milking and feed restriction in dairy cows. *Reproduction Nutrition Development* 46 : 589-598. DOI : 10.1051/rnd:2006030
- A18. Raggio, G., Lemosquet, S., Lobley, G.E., Rulquin, H., Lapierre, H. 2006a. Effect of casein and propionate supply on mammary protein metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89 : 4340-4351. DOI : 10.3168/jds.S0022-0302(06)72481-X
- A19. Raggio, G., Lobley, G.E., Lemosquet, S., Rulquin, H., Lapierre, H. 2006b. Effect of casein and propionate supply on whole body protein metabolism in lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 86 : 81-89. DOI : 10.4141/A05-055
- A20. Nozière, P., Remond, D., Lemosquet S., Chauveau, B., Durand, D., Poncet, C. 2005. Effect of site of starch digestion on portal nutrient net fluxes in steers. *British Journal of Nutrition* 94 : 182-191. DOI : 10.1079/BJN2005148
- A21. Lemosquet, S., Rigout, S., Bach, A., Rulquin, H., Blum, J.W. 2004a. Glucose metabolism in lactating cows in response to isoenergetic infusions of propionic acid or duodenal glucose. *Journal of Dairy Science* 87 : 1767-1777. DOI : 10.3168/jds.S0022-0302(04)73332-9
- A22. Lemosquet, S., Thibault, J.-N., Thomas, A., Debras, E., Hurtaud, C. 2004b. Validation of the measurement of glucose appearance rate with [6,6-²H₂]glucose in lactating dairy cows. *Reproduction Nutrition Development* 44 : 17-27. DOI : 10.1051/rnd:2004012
- A23. Rulquin, H., Rigout, S., Lemosquet, S., Bach, A. 2004. Infusion of glucose directs circulating amino acids to the mammary gland in well-fed dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87 : 340-349. DOI : 10.3168/jds.S0022-0302(04)73173-2

- A24. Rigout, S., Hurtaud, C., Lemosquet, S., Bach, A., Rulquin, H. 2003. Lactational effect of propionic acid and duodenal glucose in cows. *Journal of Dairy Science* 86 : 243-253. DOI : 10.3168/jds.S0022-0302(03)73603-0
- A25. Lemosquet, S., Debras, E., Balage, M., Hocquette, J.-F., Rulquin, H., Grizard, J. 2002a. Short-term mild hyperglycemia enhances insulin-stimulated glucose disposal in lactating goats. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 282 : R464-R474.
- A26. Rigout, S., Lemosquet, S., Bach, A., Blum, J.W., Rulquin, H. 2002a. Duodenal infusion of glucose decreases milk fat production in grass silage-fed dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85 : 2541-2550. DOI : 10.3168/jds.S0022-0302(02)74337-3
- A27. Rigout S., Lemosquet S., Van Eys J.E., Blum J.W., Rulquin, H. 2002b. Duodenal glucose increases glucose fluxes and lactose synthesis in grass silage-fed dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85 : 585-606. DOI : 10.3168/jds.S0022-0302(00)75195-2
- A28. Lemosquet, S., Faverdin, P. 2001. A dynamic model to analyse intravenous glucose and insulin tolerance tests performed on dairy cows. *British Journal of Nutrition* 86 : 359-369. DOI : 10.1079/BJN200141
- A29. Hurtaud, C., Lemosquet, S., Rulquin, H. 2000. Effect of graded duodenal infusions of glucose on yield and composition of milk from dairy cows. 2. Diets based on grass silage. *Journal of Dairy Science* 83 : 2952-2962. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75195-2
- A30. Lemosquet, S., Rideau, N., Rulquin, H. 1997a. Insulin response to amino acid and glucose intravenous infusion in dairy cows: synergistic effects. *Hormone and Metabolic Research* 29 : 1-5. DOI : 10.1055/s-2007-979100
- A31. Lemosquet, S., Rideau, N., Rulquin, H., Faverdin, P., Simon, J., Vérité, R. 1997b. Effects of a duodenal glucose infusion on the relationship between plasma concentrations of glucose and insulin in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80 : 2854-2865. DOI : 10.3168/jds.S0022-0302(97)76250-7

- A32. Lemosquet, S., Dardillat, C., Jailler, M., Dulphy, J.P. 1996. Voluntary intake and gastric digestion of two hays by llamas and sheep: Influence of concentrate supplementation. Journal of Agricultural Science 127 : 539-548. DOI : 10.1017/S0021859600078771

1.2. Conférences internationales publiées dans des ouvrages scientifiques à comité de lecture

- O1. Van Vuuren, A.M., Dijkstra, J., Reynolds, C.K., Lemosquet, S. 2014a. Nitrogen efficiency and amino acid requirements in dairy cattle. Dans : Recent Advances in Animal Nutrition. Garnworthy, P.C. ed., Nottingham University Press, Grande Bretagne. 23 p. (sous presse).
- O2. Lemosquet, S., Abdou Arbi, O., Siegel, S., Guinard-Flament, J., Van Milgen, J., Bourdon, J. 2010a. A generic stoichiometric model to analyse the metabolic flexibility of the mammary gland in lactating dairy cows. Dans : Modelling Nutrient Digestion and Utilisation in Farm Animals. Sauvart, D., Van Milgen, J., Faverdin, P., Friggens, N. eds. Wageningen Academic Publisher, Pays Bas. pp. 279-288.
- O3. Lapierre, H., Galindo, C.E., Lemosquet, S., Ortigues-Marty, I., Doepel, L., Ouellet, D.R. 2010a. Protein supply, glucose kinetics and milk yield in dairy cows. Dans : Energy and Protein Metabolism and Nutrition. EAAP Scientific Series, 127. Croveto, G.M., ed. Wageningen Academic Publisher, Pays Bas. pp. 275-286.
- O4. Lemosquet, S., Guinard-Flament, J., Raggio, G., Hurtaud, C., Van Milgen, J., Lapierre, H. 2010b. How does increasing protein supply or glucogenic nutrients modify mammary metabolism in lactating dairy cows? Dans : Energy and Protein metabolism and Nutrition. EAAP Scientific Series 127. Croveto G.M., ed. Wageningen Academic Publisher, Pays Bas. pp. 175-186. (*invitée*)
- O5. Lapierre, H., Lemosquet, S., Rulquin, H., Raggio, G., Lobley, G.E., 2008. Where and how do energy and Protein Interact after the rumen? 44th Eastern Nutrition conference. Animal Nutrition Association of Canada. University of Guelph, Ontario, Canada (22/05/2008 – 23/05/2008). pp. 149-165
- O6. Lapierre, H., Raggio, G., Ouellet, D.R., Berthiaume, R., Lemosquet, S., Doepel, L., Pacheco, D. 2007. Milk protein: Biology supports balancing rations for amino acids. Dans : Recent Advances

in Animal Nutrition 2006. Garnsworthy, P.C., Wiseman, J. eds. Nottingham University Press, Grande Bretagne. pp. 19-35.

2. Proceeding, résumés de communications orales ou par posters lors de congrès à comité de lecture

2.1. En tant qu'orateur invité

- CI1. Lemosquet, S., Lapierre, H., Galindo, C.E., Guinard-Flament, J. 2011. Gluconeogenesis and mammary metabolism and their links with milk production in lactating dairy cows. Dans : Book of abstracts of the 62nd Annual Meeting of the European federation of Animal Science. N° 17, Stavanger, Norvège (29/10/2011 – 02/09/2011). Wageningen Academic Publishers, Pays Bas. p. 65.
- CI2. Lemosquet, S., Guinard-Flament, J., Raggio, G., Hurtaud, C., Van Milgen, J., Lapierre, H. 2010c. How does increasing protein supply or glucogenic nutrients modify mammary metabolism in lactating dairy cows? Communication présentée au 3rd EAAP International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition. Crovetto, G.M., ed. Parme, Italie (06/09/2010 – 10/09/2010) : cf référence O4.

2.2. En tant que co-auteur d'un orateur invité

- CI3. Sauvant, D., Lemosquet, S., Cantalapiedra-Hijar, G., Nozière, P. 2015 Update of Protein and Amino Acid Requirements for Non-Productive Function : the Sytali Project. Dans : Amino Acid Requirements of Dairy Cattle. Amercian Dairy Association Discover Conference Series. Eaglewood resort & Spa, Itasca, IL, Etats-Unis (26/05/2015-29/05/2015)
- CI4. Van Vuuren, A.M., Dijkstra, J., Reynolds, C.K., Lemosquet, S. 2014b. Nitrogen efficiency and amino acid requirements in dairy cattle. 46th University of Nottingham feed conference, Sutton Bonington, Grande Bretagne (24/06/2014 – 26/06/2014) : cf. référence O1.
- CI5. Lapierre, H., Galindo, C.E., Lemosquet, S., Ortigues-Marty, I., Doepel, L., Ouellet, D.R., 2010b.

Protein supply, glucose kinetics and milk yield in dairy cows. Dans : Energy and protein metabolism and nutrition. EAAP Scientific Series, 127. Communication présentée au 3rd EAAP International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition, Parma, Italie (06/09/2010 – 10/09/2010) : cf. référence O3.

2.3. Communications orales avec actes et comité de lecture

2.3.1. Dans des congrès internationaux

- C1. Lapiere, H., Lemosquet, S., Ouellet, D. 2013. Contribution of essential amino acids to glucose metabolism and lactose secretion in late lactation dairy cows. Dans : Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production. *EAAP Publication, 134*. Communication présentée au 4th International symposium on energy and protein metabolism and nutrition (ISEP), Sacramento, Etat Unis (09/09/2013 – 12/09/2013). Wageningen, NLD : Wageningen Academic Publishers, Pays Bas. pp. 447-448.
- C2. Lemosquet, S., Abdou Arbi, O., Van Milgen, J., Siegel, A., Bourbon, J. 2013. Exploring the metabolic flexibility of the mammary gland of dairy cows through flux-balance analysis. *Canadian Journal of Animal Science* 93, 552-554.
- C3. Hague, M.N., Rulquin, H., Guinard-Fament, J., Lemosquet, S. 2012b. Mammary metabolism to the supply of an 'ideal' amino acids profile for dairy cows. EAAP-63rd Annual Meeting, Bratislava, Slovaquie. Wageningen Academic, Pays Bas. p. 116.
- C4. Lemosquet, S., Hague, M.N., Rulquin, H., Delaby, L., Faverdin, P., Peyraud, J.L. 2012. Milk protein responses to dietary manipulation of amino acids at two levels of protein supplies EAAP-63rd Annual Meeting, Bratislava, Slovaquie. Wageningen Academic, Pays Bas. p.115.
- C5. Cantalapiedra-Hijar, G., Peyraud, J.L., Lemosquet, S., Nozière, P., Ortigues-Marty, I. 2011. Conversion of dietary N into milk N may be enhanced by the energy source in isoenergetic diets. Proceeding of the 8th International Symposium on the Nutrition of herbivores (ISNH8). Aberyswyth, Pays de Galle, Grande Bretagne. Cambridge University Press. *Advances in Animal Biosciences* Vol. 2 part 2 : 493.
- C6. Hague, M. N., Rulquin, H., Andrade, A., Faverdin, P., Peyraud, J.L., Lemosquet, S. 2010. Providing an "ideal" profile of essential amino acids in the intestine increased milk protein

- yield in lactating dairy cows fed both under and over requirements. Dans : 3rd Energy and protein metabolism and nutrition. EAAP publication N° 127. Croveto, G.M. ed. Parma, Italie. Wageningen Academic Publishers, Pays Bas. pp. 299-300.
- C7. Lemosquet, S., Bardey, F., Rulquin, H., Lapierre, H., Guinard-Flament, J. 2009c. Mammary glucose metabolism in response to energy and/or protein supply in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 92 E-Suppl.1 : 149.
- C8. Lemosquet, S., Lapierre, H., Rulquin, H., Guinard-Flament, J. 2009d. Mammary amino acid metabolism in response to increased energy and protein supply in lactating dairy cows. Ruminant physiology digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare. XIth International Symposium on Ruminant Physiology, Clermont-Ferrand, France. Chillard, Y., Glasser, F., Faulconnier, Y., Bocquier, F., Veissier, I., and Doreau, M. eds. Wageningen academic publishers, Pays Bas. pp. 442-443.
- C9. Guinard-Flament, J., E. Delamaire, Lemosquet, S., David, Y. 2005. Mammary use of glucose when milk yield is reduced by once daily milking and/or feed restriction in dairy cows. Journal of Dairy Science 88[suppl 1] : 395.
- C10. Lemosquet, S., Debras, E., Balage, M., Hocquette, J.F., Rulquin, H., Grizard, J., 2002b. Short-term mild hyperglycemia enhanced insulin-stimulated glucose disposal in lactating goats. 4^{ème} Polish-French Symposium, Physiological regulatory mechanisms of animal growth and development. Paris, France (25/09/2001 – 26/09/001). Reproduction Nutrition Development 42 : 397-524.

2.3.2. Articles dans des congrès français avec comité de lecture

- C11. Lemosquet, S., Haque, M.N., Favardin, F., Peyraud, J.L., Delaby, L. 2014. Corriger le profil en acides aminés digestibles dans l'intestin à bas comme à haut niveaux d'apport PDI chez la vache laitière permet d'augmenter les matières protéiques du lait et l'efficacité d'utilisation des PDI. 21^{ème} Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. Paris, France. Institut de l'Élevage – INRA. Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants 21 : 139-142.
- C12. Lemosquet, S., Guinard-Flament, J., Raggio, G., Lapierre, H., Rulquin, H. 2008a. Comment les apports de protéines augmentent-ils le volume de lait et les matières utiles ? 15^{èmes} Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. Paris, France : Institut de l'Élevage – INRA.

Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants 15 : 271-274.

- C13. Lemosquet, S., Rigout, S., Hurtaud, C., Rulquin, H., 2000. Effet d'apports croissants de glucose dans l'intestin sur les flux de glucose, la production et la composition du lait chez les vaches laitières recevant un régime à base d'ensilage d'herbe. Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants 7 : 192 (oral plus un poster).

2.4. Posters avec actes et comité de lecture

2.4.1. Posters avec actes et comité de lecture dans un congrès international

- C14. Hurtaud, C., Vanbergue, E., Lemosquet, S., Colette, S., Gallard, Y., Delaby, L. 2015. Evolution of milk freezing point depression during the year in Holsteine and Normande dairy cows. Journal of Dairy Science 98[suppl. 2] : 750.
- C15. Guinard-Flament, J., Albaaj, A., Hurtaud, C., Lemosquet, S., Marnet, P. G. 2011b. Immediate and residual effects on milk yield and composition of decreasing levels of udder emptying during milking in dairy cows. EAAP-62nd Annual meeting, Stavanger, Norway. p. 223.
- C16. Hague M. N., Rulquin H., Lemosquet S. 2011b. Milk protein in response to post-ruminal supplementation of arginine, isoleucine and valine in dairy cows. Proceeding of the 8th International Symposium on the Nutrition of herbivores (ISNH8). Aberyswyth, Pays de Galle, Grande Bretagne. Cambridge University Press. Advances in Animal Biosciences Vol. 2 part 2 : 546.
- C17. Dessauge, F., Lollivier, V., Finot, L., Wiart, S., Cutullic, E., Disenhaus, C., Barbey, S., Lemosquet, S., Boutinaud, M. 2010. Effect of nutrient restriction on mammary cell turnover in lactating dairy cows. Dans : 3rd Energy and protein metabolism and nutrition, Parma, Italie. EAAP publication N° 127. Crovetto G.M., ed. Wageningen Academic Publishers, Pays Bas. pp. 265-266.
- C18. Lemosquet, S., Lobley, G.E., Koopman, R., VanLoon, L.J.C., Kies, A.K., Lapierre, H. 2010d. A large supply of phenylalanine is not oxidised by the mammary gland of dairy cows. In 3rd Energy and protein metabolism and nutrition, Parma, Italie. EAAP publication N° 127. Crovetto G.M., ed. Wageningen Academic Publishers, Pays Bas. pp. 137-138.

- C19. Lemosquet, S., Abdou Arbi, O., Siegel, A., Guinard-Flament, J., Van Milgen, J., Bourbon, J. 2009c. A generic stoichiometric model to analyse the metabolic flexibility of the mammary gland in lactating dairy cows. 7th International Workshop Modelling Nutrient Digestion and utilisation in farm Animals ; Paris. Dans : Modelling Nutrient Digestion and Utilisation in Farm Animals. Sauvant, D., Van Milgen, J., Faverdin, P., Friggens, N. eds. 1 p. Résumé préfigurant le chapitre O2.
- C20. Guinard-Flament, J., Lemosquet, S., Delamaire, E. 2007. Estimation of the intra-mammary metabolic fate of glucose and acetate in response to longer milking intervals in dairy cows. Dans : Energy and protein metabolism and nutrition 151-152. 2007. EAAP Publication n° 124. ISEP, Vichy, France (09/09/2007 – 13/09/2007) Ortigues-Marty, I. ed. Wageningen Academic Publishers, Pays Bas. pp. 151 – 152.
- C21. Lemosquet, S., Raggio, G., Lapierre, H., Guinard-Flament, J., Rulquin, H. 2007. Effects of protein supply on whole body glucose rate of appearance and mammary gland metabolism of energy nutrients in ruminants. Dans : Energy and protein metabolism and nutrition. 2007. EAAP Publication n° 124. ISEP, Vichy, France (09/09/2007 – 13/09/2007). Ortigues-Marty, I. ed. Wageningen Academic Publishers, Pays Bas. pp. 581 – 582.
- C22. Rulquin, H., Raggio, G., Lapierre, H., Lemosquet, S. 2007a. Relationship between intestinal supply of essential amino acids and their mammary metabolism in the lactating dairy cow. Dans : Energy and protein metabolism and nutrition. EAAP Publication n° 124. ISEP, Vichy, France (09/09/2007 – 13/09/2007). Ortigues-Marty, I. ed. Wageningen Academic Publishers, Pays Bas. pp. 587 - 588.
- C23. Lemosquet, S., Delamaire, E., Guinard-Flament, J., Lapierre, H. 2005a. Glucose rate of appearance (Ra) responses to isoenergetic infusions of glucose (GLC), propionic acid (C3) and non essential amino acids (NEAA) in dairy cows. Journal of Dairy Science 88[suppl 1] : 182.
- C24. Raggio, G., Lobley G.E., Lemosquet, S., Rulquin, H., Lapierre, H. 2005a. Effect of casein (Cas) and propionate (C3) supply on whole body protein kinetics in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 88[suppl 1] : 182.
- C25. Rigout, S., Lemosquet, S., Blum, J.W., Rulquin, H. 2001a. Duodenal glucose supply increased mammary blood flow in lactating dairy cows. Livestock Production Science 70 (1-2) : 177.

- C26. Rigout, S., Lemosquet, S., Blum, J.W., Rulquin, H. 2001b. Effects of glucose on milk protein synthesis in lactating dairy cows. *Livestock Production Science*, 70 (1-2) : 175.
- C27. Rulquin, H., Hurtaud, C., Lemosquet, S., Flament, J. 1999. Nutritional control of protein and fat content of milk: a review. IX Congresso de Zootecnia, (11/11/1999 - 13/11/1999), Exponor, Portugal.
- C28. Rulquin, H., Lemosquet, S., Kann, G. 1998. Effects of duodenal infusions of arginine or casein on plasma growth hormone, and prolactin concentrations, mammary blood flow, and milk production in lactating cows. Third Int. Conference on Farm Animal Endocrinology, The Somatotropic axis (7/12/1998 - 10/12/1998), Brussels, Belgique.

2.4.2. Posters avec actes dans un congrès à comité de lecture national

- C29. Haque, M.N., Rulquin, H., Lemosquet, S. 2012c. Recommandations en histidine pour la vache laitière. 19^{èmes} Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. Paris, France : Institut de l'Élevage – INRA. Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants 19 : 207.
- C30. Nozière, P., Poncet, C., Chauveau, B., Durand, D., Rémond, D., Lemosquet, S., 2003. Effet du site de digestion de l'amidon sur les flux d'apparition de glucose en veine porte et dans l'organisme entier chez les bouvillons. 19^{èmes} Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. Paris, France : Institut de l'Élevage – INRA. Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants 10 : 176.
- C31. Rigout, S., Lemosquet, S., Hurtaud, C., Bach, A., Rulquin, H., 2001. Duodenal glucose and ruminal propionate: comparison of their effects on milk yield and composition. 8^{èmes} Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. Paris, France : Institut de l'Élevage – INRA. Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants 8 : 314.
- C32. Lemosquet, S., 1994, Dulphy, J.P., Dardillat, C. 1994. Comparison of Digestion Between Llamas and Sheep: Influence of Concentrate Supply. IX Journées de Recherches sur l'Alimentation et la Nutrition des Herbivores. *Annales de zootechnie*, 43 (suppl 1) : 19s.

3. Articles de synthèse dans des revues françaises à comité de lecture

- S1. Rulquin, H., Hurtaud, C., Lemosquet, S., Peyraud, J.-L. 2007b. Effet des nutriments énergétiques sur la production et la teneur en matière grasse du lait de vache. INRA Productions Animales 20 : 163-176.

4. Tutoriel

- TUT1. L'interface développée par O Abdou Arbi (INRIA) permettant de créer des modèles biochimiques pour une cellule ou un organe ainsi que les modèles biochimiques mammaires de ruminants et les jeux de données associés sont disponibles en libre accès sur le site web : <http://nutritionanalyzer.genouest.org/SupplementaryMaterial>.

5. Conférences de vulgarisation

- CV1. Lemosquet, S., Guinard-Flament, J., Buonocore, L., Faverdin, P., Chapoutout, P., Sauvant, D., Cantalapiedra-Hijar, G., Nozière, P., Maxin, G., Baumont, R. 2014. Les apports en Acides Aminés Digestibles dans l'Intestin (AADI). Journée AFZ-INRA « Systali » - Les systèmes d'unités d'alimentation des ruminants. Communication orale.
- CV2. Lemosquet, S., Delaby, L., Quiniou, Y., Bouanocore, L., Faverdin, P. 2014. Les Recommandations en Acides Aminés Digestibles dans l'Intestin (AADI). Journée AFZ-INRA « Systali » - Les systèmes d'unités d'alimentation des ruminants. Communication orale.
- CV3. Lemosquet, S., Hurtaud, C., Van Milgen, J. 2014. Les recherches sur l'alimentation protéique des animaux à l'UMR PEGASE. CVT ALLiENVi (Alliance nationale de recherche pour l'Environnement. 25 novembre Paris. Poster
- CV4. Lemosquet, S., Haque, M.N. ; Boudon, A. ; Guinard-Flament, J. 2013. Feeding Systems, Feeding strategies and the use of supplements REDNEX Symposium (2013-05-16-2013-05-17) Bucarest (ROU). Communication orale (1 h).

6. Résumés d'oral ou de posters de congrès avec actes

- C33. Abdou Arbi, O., Bourdon, J., Siegel, A., Van Milgen, J., Lemosquet, S. 2009. « La calcullette

métabolique » une approche de modélisation biochimique pour explorer les contraintes au sein du métabolisme des mammifères. 3^{es} Journées d'Animation Scientifique du Département PHASE, Tours, (07/10/2009 - 09/10/2009). p. 132. (oral)

- C34. Lemosquet, S., Guinard-Flament, J., Rulquin, H., Van Milgen, J. 2008b. Développement du modèle biochimique mammaire "La calculette métabolique": un exemple de simulation pour tester la flexibilité de la glande mammaire à utiliser des nutriments à des fins énergétiques. 8^e Journée de l'animation transversale "glande mammaire, lait". Biologie intégrative, Modélisation, Différenciation de la glande mammaire.18/11/2008. INRA Jouy-en-Josas. (oral)
- C35. Lemosquet, S., Van Milgen, J. 2008c. « La calculette métabolique » : un modèle biochimique simple pour étudier le métabolisme énergétique des mammifères – Exemple sur le métabolisme de la mamelle. 3^{es} Journées Scientifiques du réseau Français de Métabolomique et Fluxomique. Bordeaux- 07/02/2008 – 08/02/2008. (oral)
- C36. Lemosquet, S., Delamaire, E. 2005b. Le glucose duodéal est parmi les nutriments absorbés le plus efficace pour augmenter le débit d'apparition du glucose chez les vaches laitières. 1^{res} Journées d'Animation Scientifique du Département Phase. 15/03/2005 – 16/03/2005 - Tours. p. 192. (oral)
- C37. Lemosquet, S., Raggio, G., Lobley, G. E., Guinard-Flament, J., Rulquin, H., Lapiere, H. 2005. Etude in vivo de la synthèse de lactose et de protéines chez la vache laitière dans deux situations nutritionnelles : analyses du métabolisme mammaire du glucose et de la leucine. 5^e Journée de l'animation transversale "Glande mammaire, lait", INRA Jouy en Josas (3/10/2005). (oral)

7. Rapports diplômants

- R1. Lemosquet, S. 1997c. Effet des nutriments sur la sécrétion d'insuline chez la vache laitière : régulation de l'homéostasie glucidique. Thèse de Doctorat. ENSA de Rennes. Mention : Biologie et Agronomie 183 p. mention très honorable avec félicitations du jury.
- R2. Lemosquet, S. 1993. Physiologie digestive comparée du Lama et du Mouton : conséquences sur l'ingestibilité et la digestibilité des fourrages. Mémoire de DEA. Université de Rennes 1. Spécialité : Biologie et Agronomie : Mention Bien.

8. Liste des contrats de recherche en relation avec le milieu industriel international

- CRI1. Lemosquet, S. 2015. Révision des équations de correction du système MetDI, LysDI. Contrat de recherche avec ADISSEO dans le cadre du projet « Systali », de rénovations des systèmes d’Alimentation des Ruminants.
- CRI2. Lemosquet, S. 2014. Rapport de contrat de Recherche avec KEMIN. Experiment 1401. 37 p.
- CRI3. Lemosquet, S., Peyraud, J-L. 2010-2012. Contrat de recherche avec ADISSEO collaboration dans le cadre du projet de recherche REDNEX (Reduction of Nitrogen Excretion). 20 p.
- CRI4. Lemosquet, S., Faverdin, P. 2011. Rapport de contrat avec Ajinomoto. Experiment 1007 : 24 p.
- CRI5. Lemosquet, S., Rulquin, H. Faverdin, P. 2010. Rapport de contrat avec ADISSEO : 20 p.

9. Obtention d’un appel d’offres

- AO1. Participation au Projet « SOS PROTEIN ». PEI des Régions Bretagne et Pays de la Loire « Autonomie protéique accrue pour les élevages de l’ouest, Optimisation de l’utilisation digestive des aliments par les animaux » 2016-2020 animé par S. Rouverand et M. P. Cassagnes. Le travail sur les AA porte sur le « Test de l’utilisation d’AA pour permettre la réduction de la teneur en protéines des rations » (R. Herisset et S. Lemosquet). Il est inclus dans le volet « Amélioration de l’efficacité alimentaire des troupeaux de vaches laitières » dont le responsable est P. Faverdin.
- AO2. Participation au projet européen FP7-KBBE-2007-1 REDNEX “Innovative and practical management approaches to reduce nitrogen excretion by ruminants” (responsable : Ad M. Van Vuuren, Wageningen WUR, Pays Bas). J’ai pris en charge le volet sur l’effet des profils en acides aminés digestibles dans l’intestin sur la production de protéines du lait au sein des « work packages » WP3 (responsable : CK Reynolds, Université de Reading) et WP7 (responsable : J-L. Peyraud, INRA UMR PEGASE). J’ai réalisé 7 essais dans le cadre de ce projet.

AO3. CARNOT ICSA 2011 « Assessment and pain relief in farm mammals » (D. Durand UMR H et J. Cognié Tours).

AO4. Lemosquet, S., Lapierre, H., Peyraud, J-L. 2004. Projets de recherche scientifique et technologique de la 60^e commission permanente de coopération franco-québécoise (CPCFQ). Biennium 2005-2006 (soumis pour financer les échanges de la collaboration avec H. Lapierre). Nous avons obtenu le financement d'une mission : C. Thivierge, Université Laval Québec, est venue une semaine pour discuter d'un futur projet de recherche en décembre 2005.

10. Activités d'encadrements : thèses (pourcentage de responsabilité de l'encadrement), Masters 2 et 1 ou IUT et BTS.

10.1. Thèses

TH1. Abdou Arbi, O. 2013. Etude de la variabilité des contributions de nutriments à un réseau métabolique : Modélisation, optimisation et application en nutrition. Thèse à l'Université de Rennes I de l'école doctorale Matisse. Mention Informatique. Soutenue le 30 septembre 2013, 97 p. *J'ai participé très activement à la thèse d'O. Abdou Arbi pour le volet biologique à hauteur de 30 % mais les 2 encadrants de cette thèse étaient A. Siegel et J. Bourdon, mathématiciens.*

TH2. Hague, M.N. 2012d. Milk protein yield in response to amino acid profiles at different levels of metabolizable protein supply in dairy cow: Efficiencies of protein and amino acid utilization. Thèse Agrocampus Ouest de l'école doctorale Vie-Agro-Santé (VAS) : Spécialité Biologie et Agronomie. Soutenue le 27 novembre 2012. 159 p. *J'ai été l'encadrante principale de cette Thèse à 95 %, H Rulquin a été l'HDR.*

TH3. Raggio, G. 2006c. Effet des apports protéique et énergétique sur le métabolisme protéique chez la vache laitière. Thèse de doctorat en cotutelle entre la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval, Québec, Canada - ENSA de Rennes, France. Soutenue le 26 Mai 2006. 185 p. *Thèse que j'ai co-encadrée avec H. Lapierre, Agriculture et Agro-Alimentaire Canada ; l'HDR était J.L. Peyraud.*

TH4. Rigout, S. 2002c. Effet de la disponibilité en glucose sur le métabolisme mammaire et conséquence sur la production du lait chez la vache laitière. Thèse de doctorat à l'ENSA de

Rennes : Mention Biologie et Agronomie. Soutenue le 22 mars 2002. 159 p. *J'ai participé à l'encadrement de cette thèse à hauteur de 25 %, l'HDR était H. Rulquin.*

10.2. Masters 2 (encadrement 100 %)

- E1. Panzuti, C. 2015. Prédiction du flux d'acides aminés dans l'intestin des bovins. Mémoire de Master 2 de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage. Spécialité : Statistiques Appliquées aux Sciences Agroalimentaires. Agrocampus Ouest. 23 p.
- E2. Jay, V. 2013. Régulation de la synthèse des constituants du lait au niveau de la glande mammaire en réponse à deux situations nutritionnelles contrastées : étude par la méta-analyse. Master 2 Sciences, Technologies, Santé : mention « Nutrition et Sciences de l'Aliment ». Université de Clermont I. 26 p.
- E3. Andrade, A. 2009. Impact du profil en acides aminés digestibles dans l'intestin sur la production du lait chez la vache laitière. Mémoire de fin d'Etudes d'Ingénieur. DAA spécialisation : Ingénierie Zootechnie. Agrocampus ouest. 21 p.
- E4. Bardey, F. 2008. Effet des augmentations d'apports d'énergie et de protéines sur le métabolisme mammaire du glucose chez la vache laitière. Master 2 Recherche « Elaboration de la Qualité et Sécurité des Aliments »- ENSA de Toulouse. 30 p.
- E5. Delamaire, E. 2002. Comparaison de l'efficacité des nutriments glucoformateurs et du glucose intestinal à augmenter la disponibilité en glucose chez la vache laitière. Mémoire de DEA, ENSA de Rennes. 20 p.

10.3. Masters 1 et cédures entre master 1 et master 2 (encadrement 100 %)

- E6. Quiniou, Y. 2013-2014. Les recommandations en LysDI et MetDI dans « Systali ». Stage de césure entre M1 et M2 (6mois), VetAgrosup Clermont Ferrand. pp. 20.
- E7. Declerck, E. 2011a. Mode d'emploi de l'utilisation de la calelette métabolique sur Excel. Rapport de stage de M1 (3 mois), Agrocampus ouest partie I. 45 p.
- E8. Declerck, E. 2011b. Bilan du suivi d'évaluation de la douleur des vaches laitière en période

opérateur à la ferme expérimentale de Méjusseaume. Rapport de stage de M1 (3 mois) Agrocampus ouest partie II : 25 p.

- E9. Mouriec, K. 2004. Premiers éléments de mise au point du dosage du glucose-6-phosphate et du citrate dans le tissu mammaire de vache. pp. 20.
- E10. Kerlidou, V., Lemosquet, S., 2000. Validation de la méthode de dosage du glucose deutéré [6,6-²H₂]glucose sur des plasmas de vaches laitières. Mémoire de Maîtrise de biologie cellulaire et physiologie, Université de Rennes I. 27 p.

10.4. IUT et BTS (encadrement 100 %)

- E11. Lepetit, L. 2012. Analyse de l'azote dans le lait et des acides aminés plasmatiques dans le cadre d'un essai d'alimentation des vaches modulant la production de protéines dans le lait : Eléments de validation : Analyse de la justesse et de la fidélité. Mémoire d'IUT de Chimie. IUT de Rennes.pp.21.
- E12. Nahuet, C. 2004. Suivi d'un protocole expérimental sur l'étude du métabolisme énergétique et protéique chez la vache laitière (validation d'une méthode et analyses biochimiques. pp.25.

C. DOCUMENT DE SYNTHÈSE

I. INTRODUCTION

1. Description du positionnement dans l'équipe et des objectifs scientifiques

Après avoir réalisé un stage de DEA sur la physiologie digestive comparée du lama et du mouton (Lemosquet et al., 1996 : [A32]), je travaille depuis le début de ma thèse (Novembre 1993) à l'INRA de Saint-Gilles. Mon domaine de compétence est la nutrition et le métabolisme des ruminants laitiers et principalement de la vache laitière. Je fais actuellement partie de l'équipe « Physiologie de la lactation et synthèse du lait » (responsable : H. Quesnel) de l'UMR PEGASE (Physiologie Environnement et Génétique pour Animal et les Systèmes d'Élevage ; directeur : J. Van Milgen). Le projet de l'équipe «Lactation» vise à mieux comprendre le fonctionnement de la glande mammaire chez les animaux ruminants et porcins afin de valider des stratégies d'élevage. Les objectifs scientifiques de l'équipe sont d'une part, de déterminer les réponses des femelles reproductrices ou futures reproductrices aux pratiques d'élevage et d'autre part, de comprendre les régulations physiologiques et métaboliques qui sous-tendent ces réponses. Le projet de l'équipe vise à comprendre et à moduler le potentiel de production des mamelles. Il se décline en trois questions de recherches complémentaires : l'identification des régulations physiologiques du tissu mammaire, la synthèse du lait et de ses constituants, et l'adaptation du tissu mammaire aux techniques de traites. Mon travail de recherche porte sur la synthèse des constituants et sur la qualité du lait.

Mes questions de recherches visent à comprendre l'effet de la nutrition sur le métabolisme de la vache laitière et à prédire les conséquences sur le volume et la composition du lait. Au sein de l'équipe, mon principal collaborateur a été H. Rulquin, encadrant principal de ma thèse. Je travaille sur le métabolisme mammaire en collaboration avec J. Guinard-Flament (MC1) et avec M. Boutinaud (CR1) sur l'activité des cellules épithéliales mammaires. Je collabore également avec C. Hurtaud (IRHC responsable de l'équipe ALINUT, PEGASE) dont le sujet de recherche porte sur l'effet des conduites d'élevage sur la composition du lait et l'aptitude à sa transformation. Mon travail de recherche participe à deux enjeux. Le premier enjeu est d'augmenter l'efficacité d'utilisation des nutriments, et en particulier l'efficacité azotée des protéines en lien avec les contraintes environnementales et les coûts d'achats des protéines alimentaires. Le second enjeu est de maîtriser et prédire les variations de composition du lait par l'alimentation.

2. Les enjeux de maîtrise de l'efficience et de la composition du lait

2.1. L'enjeu environnemental

La gestion des flux d'azote en agriculture pose à la fois des problèmes économiques, environnementaux (eutrophisation des eaux, acidifications des sols) et de santé humaine (problèmes respiratoires liés aux microparticules). A titre d'exemple, l'élevage des bovins contribuerait à environ 46 % des émissions d'ammoniac (NH_3) en France (Peyraud et al., 2012). Les problèmes environnementaux de gestion de l'azote ne se raisonnent pas uniquement à l'échelle de l'animal et de son alimentation. Cependant, l'alimentation est l'un des deux facteurs les plus importants ayant un impact sur les émissions d'ammoniac dans les bâtiments d'élevage (Peyraud et al., 2012 ; Wattiaux et Karg, 2004a,b ; Colmenero et Broderick, 2006). Dans un système classique d'alimentation, l'efficience d'utilisation de l'azote alimentaire dans le lait pour une vache laitière en milieu de lactation serait d'environ 27 % (Bequette, 2003 ; Peyraud et al., 2012), ce qui est très faible. Le reste de l'azote ingéré est excrété dans les déjections : environ 33 % dans les fèces et 37 % dans les urines (Cutullic et al., 2013). Or la quantité d'azote urinaire excrété est le premier facteur de l'émission d'ammoniac. Cette efficience peut cependant varier entre 20 et 35 % selon les conditions d'alimentation (Van Vuuren et al., 2014a : [O1]). L'alimentation est donc un levier important pour moduler l'efficience d'utilisation des nutriments pour la synthèse du lait.

2.2. Les critères de paiement du lait et les changements possibles

Le paiement du lait aux producteurs dépend de la qualité sanitaire du lait, du volume et de sa composition en protéines et en matières grasses. Le premier critère en lien avec la nutrition et le métabolisme est le volume total de lait produit sur l'exploitation. Les autres critères sont la quantité de matières grasses produites sur l'année qui déterminait le quota laitier, et le taux protéique (concentration en protéines des laits), un critère important du rendement fromager (Coulon et al., 1998). Ces critères qui s'appliquaient au niveau national ont disparu avec la suppression des quotas laitiers en avril 2015. Les quotas sont actuellement remplacés par un système de contractualisation entre les producteurs et les laiteries (Chatellier et al., 2013). Les critères de paiement du lait ont donc évolué. Certaines laiteries favorisent le volume de lait, d'autres l'aptitude à la transformation en beurre ou en fromage, en particulier le rendement fromager et la quantité de matières utiles constituées des matières grasses et protéiques. Les deux grands leviers pour moduler le volume et la composition du lait sont la génétique et l'alimentation qui est un levier rapide et réversible.

Les enjeux environnementaux ou économiques de coût d'achat des protéines alimentaires, de concurrence sur l'utilisation des céréales entre l'alimentation animale, humaine et l'utilisation des biocarburants ainsi que le changement de critères de paiement du lait renforcent la nécessité de progresser dans la compréhension de la prédiction de l'efficacité de l'utilisation des nutriments pour la synthèse de lait et de composition en réponse à la nutrition. Mes travaux de recherche portent sur l'effet de la nutrition et du métabolisme sur la synthèse des constituants du lait.

3. La synthèse des macro-constituants du lait et sa régulation

Le lait de vache est essentiellement composé d'eau (87,5 %), de lactose (47 g/kg), de matières azotées (35 g/kg), de matières grasses (35 g/kg), et de minéraux (8 g/kg ; Alais, 1984). La mamelle est l'organe où sont synthétisés les principaux constituants du lait : 100 % du lactose (Bickerstaffe et al., 1974), 97,5 % des protéines soit 92,6 % de l'azote du lait (Cant et al., 1993) et environ 45 % des acides gras (sur une base de carbones : 100 % des C4 à C12, 85 % des C14 et environ 50 % des C16 des triglycérides du lait) sont synthétisés dans la cellule épithéliale mammaire (Palmquist et al., 1969). Le volume d'eau du lait résulte de la régulation de la pression osmotique (Linzell et Peaker, 1971 ; Kaufmann et Hagemeister, 1987) qui s'exerce au niveau de la cellule épithéliale mammaire et qui dépend de la synthèse de lactose et de protéines et du transport des électrolytes (K^+ , Na^+ et Cl^-). La régulation du taux protéique et du taux butyreux (taux de matières grasses) dépend donc à la fois des quantités synthétisées par la mamelle et de leur dilution par le volume d'eau.

Le glucose prélevé par la glande mammaire est le principal précurseur du lactose. Les ruminants absorbent peu de glucose dans l'intestin, le glucose est principalement produit à partir de la néoglucogénèse hépatique : son principal précurseur est l'acide propionique, un AGV produit à partir des fermentations dans le rumen. Les principaux précurseurs des protéines du lait sont les acides aminés (AA) prélevés par la glande mammaire (Mephram, 1982). Les précurseurs des acides gras synthétisés dans la glande mammaire sont l'acétate et le β -hydroxybutyrate. Les acides gras longs (50 % des C16 et 100 % des C18) sont directement prélevés par la glande mammaire qui synthétise les triglycérides du lait. Il existe cependant des croisements entre les voies métaboliques : des acides aminés non indispensables (AANI) sont synthétisés dans la glande mammaire à partir des acides aminés indispensables (AAI) et des carbones provenant d'autres nutriments (Mephram, 1982). De plus, l'oxydation de nombreux nutriments (l'acétate, le glucose, le β -hydroxybutyrate et des AA) contribue à la production d'ATP nécessaire aux synthèses (Annison, 1983).

Les principaux constituants du lait sont majoritairement synthétisés dans la glande mammaire, à partir de précurseurs prélevés dans le pool artériel. Les modifications de volume et de composition du lait engendrées par l'alimentation vont dépendre de la régulation du prélèvement mammaire de ces nutriments précurseurs ainsi que de leur métabolisme intra-mammaire. Les prélèvements mammaires de nutriments dépendent de deux types de facteurs : des facteurs extrinsèques à l'organe comme la disponibilité corporelle en nutriments et des facteurs intrinsèques liés à l'activité métabolique et sécrétoire des cellules épithéliales mammaires. Ces facteurs varient entre autres en fonction de la génétique, de l'état physiologique et de l'alimentation (Mepham, 1982).

La régulation de la répartition des nutriments entre la mamelle et les autres tissus et la régulation de l'activité métabolique des cellules épithéliales mammaires sont contrôlées par les hormones et les nutriments (Chilliard et al., 1987 ; Bauman et Currie, 1980 ; Arriola Apelo et al., 2014). Au cours de la lactation, les hormones (insuline, la somatotrophine ou hormone de croissance [GH], la somatomédine-C ou Insulin Like Growth Factor I [IGF-1]) qui participent à la régulation de la répartition de l'utilisation des nutriments entre la glande mammaire et les autres tissus présentent des variations de concentrations circulantes. La sensibilité des tissus à ces hormones de l'homéostasie (insuline, IGF-I) et de l'homéorhèse (GH, IGF-1) est aussi modifiée en début de lactation pour favoriser une utilisation des nutriments par la glande mammaire (Chilliard, 1993). Par exemple, la réponse maximale du glucose à l'insuline est diminuée chez la chèvre en début de lactation, ce qui favoriserait une moindre utilisation du glucose au niveau du muscle et du tissu adipeux (Debras et al., 1989 ; Hocquette et Balage., 1996). Par ailleurs, les capacités de l'hormone à diminuer le catabolisme seraient renforcées (Tesseraud et al., 1993 ; Vernon et Sasaki, 1991). Ces hormones répondent à des variations d'apports de nutriments et certaines sont impliquées dans la lactogenèse et la galactopoïèse (GH, IGF-1). L'effet des nutriments sur les hormones de la lactogenèse (prolactine et glucocorticoïdes) était moins clair (Martinet et Houdebine, 1993).

4. Les questions de recherche

Des études ont été menées afin de pouvoir prédire la composition du lait à partir de l'alimentation en considérant l'animal comme une boîte noire (INRA, 2007 ; Brun Lafleur et al., 2010 ; Maxin et al., 2011), en particulier par mes collègues H Rulquin et C Hurtaud. La précision des prédictions obtenues peut être améliorée d'une part par une meilleure prédiction de la nature des nutriments absorbés dans le tube digestif (Nozière et al., 2010) et d'autre part par l'intégration d'une meilleure

connaissance du métabolisme. L'une des difficultés peut être que la variation de l'apport par l'alimentation d'un type de nutriment peut modifier plusieurs métabolismes via des effets directs ou via des effets médiés par les hormones. Par exemple, l'augmentation de l'apport protéique dans les rations (PDI pour Protéines Digestibles dans l'Intestin) n'augmente pas uniquement la quantité et la concentration des protéines produites dans le lait. Elle augmente également le volume de lait, la production de lactose et de matières grasses (Broderick, 2003 ; Lemosquet et al., 2008a : [C12], 2010b : [O4]). La prise en compte de la régulation de la répartition des nutriments entre la mamelle et les autres tissus et du métabolisme intra-mammaire est donc importante pour améliorer la prédiction des variations de composition du lait.

Mes questions de recherches ont donc porté sur l'effet de la nutrition sur la régulation de la répartition de l'utilisation des nutriments entre la synthèse de macronutriments du lait et d'autres utilisations métaboliques chez la vache laitière en milieu de lactation. J'ai travaillé sur les modifications des synthèses des 3 types de macronutriments du lait : la matière grasse, le lactose et les matières protéiques. Cependant mes travaux de recherche ont été en majorité centrés sur le lactose et les protéines, mes collègues ayant travaillé dans l'équipe Alimentation Génomique et Lactation (INRA, UMR Herbivores) et à UMR MoSAR (AgroParistech) restant les spécialistes de la synthèse des matières grasses et de sa régulation (Chilliard et al., 2001 ; Schmidely et Sauvant, 2001 ; Leroux et al., 2013). Les trois grandes questions de recherches que j'ai abordées portaient sur l'effet d'équilibres nutritionnels :

1. sur l'insuline et d'autres hormones impliquées dans la répartition de l'utilisation des nutriments,
2. sur le métabolisme du glucose et sa répartition entre la synthèse de lactose et d'autres utilisations,
3. sur la répartition des nutriments entre la production de protéines du lait et les voies oxydatives.

Au cours de ma thèse et de mon post-doctorat, je me suis donc particulièrement intéressée à l'effet des nutriments sur les régulations d'hormones impliquées dans l'homéostasie glucidique et le métabolisme des lipides, et en particulier par l'insuline. J'ai poursuivi ma recherche en m'intéressant à leurs effets sur le métabolisme du glucose (la production de glucose et la disponibilité corporelle en glucose, l'utilisation par la mamelle du glucose et la synthèse de lactose). J'ai enfin étudié l'effet de ces nutriments sur la synthèse de protéines et l'efficacité de l'utilisation azotée au niveau corporel et mammaire.

II. BILAN DES ACTIVITES PASSES

1. Stratégie de recherche

Aborder les trois questions de recherche sur l'effet de la nutrition sur la régulation de la répartition de l'utilisation des nutriments entre la synthèse de macronutriments du lait et d'autres utilisations est un sujet de recherche vaste. Pour préciser et ordonner les questions à aborder, ma stratégie de recherche a d'abord consisté à choisir les équilibres nutritionnels à étudier selon la question posée. Des méthodes expérimentales ont été développées afin de pouvoir moduler les équilibres nutritionnels. J'ai progressivement enrichi mon panel d'outils méthodologiques pour pouvoir étudier le métabolisme et utiliser des approches systémiques pour intégrer les résultats obtenus.

1.1. Les équilibres nutritionnels étudiés

Pour choisir les équilibres nutritionnels à étudier, je me suis intéressée aux effets zootechniques des nutriments. J'ai d'abord collaboré aux travaux de C. Hurtaud [A29] et d'H. Rulquin [S1] pour établir les lois de réponses des apports de glucose intestinal et d'acide propionique sur la composition du lait. L'acide propionique est un AGV produit par les fermentations dans le rumen. Il est le principal précurseur du glucose au niveau de la néoglucogénèse hépatique. Nos travaux ont été intégrés avec ceux de la littérature dans la méta-analyse de Rigout et al. (2003 : [A24]). Je me suis également intéressée aux effets d'apports protéiques et d'AA sur le volume et la composition du lait en termes de lactose, protéines et matières grasses et j'ai publié plusieurs méta-analyses (Lemosquet et al. 2008a : [C12] ; Lemosquet et al. 2010b : [O4] ; Lapierre et al. 2010a : [O3] ; Lapierre et al. 2012 : [A9] ; Haque et al. 2012c : [C29]).

L'établissement de ces lois de réponses m'est apparu comme un point essentiel à la fois pour quantifier l'efficacité d'utilisation des nutriments pour la synthèse de lait mais aussi pour réfléchir aux hypothèses pouvant expliquer ces variations de composition du lait. En effet, l'analyse des réponses sur la composition du lait a permis de distinguer les réponses impliquant principalement un métabolisme et sa régulation et celles impliquant différents métabolismes et différentes régulations. Par exemple, la variation de synthèse de protéines du lait en réponse à des modifications d'apports d'AA implique d'étudier la régulation du métabolisme protéique pour comprendre les variations d'efficacité. La diminution de la production de matières grasses du lait en réponse à l'augmentation

Tableau 1. Ensemble des essais d'apports de nutriments par perfusions ou par l'alimentation, mesures associées et références correspondantes.

		Réponses zoot. ¹	Hormones de l'homéostasie	Métabolisme splanchnique ²	Métabolisme Mammaire	Ref. ³
<i>Perfusions Intraveineuse de nutriments</i>						
Glucose	Niveau	1	1	1		[A25]
<i>Perfusions digestives de nutriments</i>						
Glucose	Niveau	1	1	1		[A15]
	Nature	4	4	2	1	[A21 ; A23, A24, A26, A27, A29, A31]
C3 ⁴	Niveau	2	2	2	1	[A15, A16, A18, A19]
	Nature	1	1	1		[A21, A24]
Acides Aminés (AA)	Niveau ⁵	4	1	2	3	[A3, A8, A11, A16, A18, A19]
	Nature	5		1	2	[A3, A7, A8, A15, C18]
Interactions						
Niveau AA ^{5,6} x Niveau C3 ⁴		1	1	1	1	[A16, A18, A19]
		2			1	[A3, A8]
<i>Essais d'Alimentation (rations)</i>						
Nature Energie		1		1		[A20]
Niveau AA ⁶ x Nature ou Niveau Energie des rations		3*		1	2*	[A2, A5, A6, C7, C8]
Niveau AA ⁶ x Nature AA ⁶ des rations		2*				[C4, C11]

¹ Réponses zootechniques (production du lait, ingestion) ; ² Mesure du débit d'apparition du glucose ou bilan porte-hépatique ; ³ Numéros de références dans la liste des titres et travaux ; ⁴ Acide propionique ; ⁵ Apport de Protéines Digestibles dans l'Intestin (PDI) par la ration qui augmente la quantité totale d'acides aminés ; ⁶ AA : acides aminés.

*Un essai de bilan mammaire et deux essais de zootechnie publiés sous forme de résumés.

de l'absorption de glucose intestinal ou d'acide propionique ruminal ne pouvait pas résulter d'un effet direct de ces nutriments sur le métabolisme lipidique mammaire. Comprendre cette diminution implique d'étudier la régulation par l'insuline des métabolismes du glucose et des acides gras longs au niveau corporel et la répartition de l'utilisation des acides gras longs entre les prélèvements mammaires. Selon les hypothèses émises pour expliquer les variations de volume et de composition du lait, il s'agissait d'étudier ou le métabolisme au niveau corporel (disponibilité) ou le prélèvement mammaire et la répartition de l'utilisation des nutriments entre la mamelle et les autres tissus, ou encore le métabolisme intra-mammaire.

J'ai principalement étudié des nutriments qui peuvent être utilisés dans la néoglucogénèse (glucose intestinal, acide propionique et AA). Dans le reste du manuscrit ces trois types de nutriments seront appelés sous le nom de « nutriments glucoformateurs », ce qui inclura par abus de langage le glucose absorbé dans l'intestin. Ces nutriments modulent le volume du lait qui dépend de la production de lactose dont le principal précurseur est le glucose. Cependant, ces nutriments ne sont pas seulement impliqués dans la régulation du métabolisme du glucose, ils contribuent également à réguler la production de protéines du lait (Rigout et al., 2003 : [A24] ; Lemosquet et al., 2010b : [O4]) et peuvent moduler la production de matières grasses. L'une des originalités de mon travail a été d'étudier les interactions entre types de nutriments et ainsi d'aborder les interactions entre apports de nutriments énergétiques et apports d'AA (4 essais dans le Tableau 1 ; Cantalapiedra-Hijar, 2014a,b, 2015 ; Raggio et al., 2006a,b ; Lemosquet et al., 2009b, c, d : [A2 ; A5 ; A6 ; A16 ; A18 ; A19 ; C7 ; C8]) ainsi qu'entre niveaux d'apports protéiques (quantités d'AA) et nature des AA apportés (4 essais : Haque et al., 2012a et 2015 ; [A3 ; A8] ; Lemosquet et al., 2012 et 2014 : [C4 ; C11]).

1.2. Choix des méthodes expérimentales pour moduler l'apport de nutriments

Chez les ruminants laitiers, il est difficile de prédire avec précision les nutriments absorbés dans le tube digestif du fait de la digestion ruminale microbienne ; les produits terminaux de la digestion qui en résultent sont très différents de la composition en nutriments des aliments ingérés. Les nutriments étudiés ont donc d'abord été apportés par perfusions digestives (Tableau 1) afin d'analyser séparément l'effet de chaque type de nutriments (glucose intestinal, acide propionique ruminal et AA) dans des conditions proches de leur absorption dans les rations. J'ai ainsi mené ou participé à 12 essais de perfusions digestives publiés (Tableau 1). L'augmentation de l'apport de nutriment pouvait se faire selon deux approches. Dans la première approche, les apports ne modifiaient que la nature des nutriments absorbés (Tableau 1). Le nutriment apporté était alors

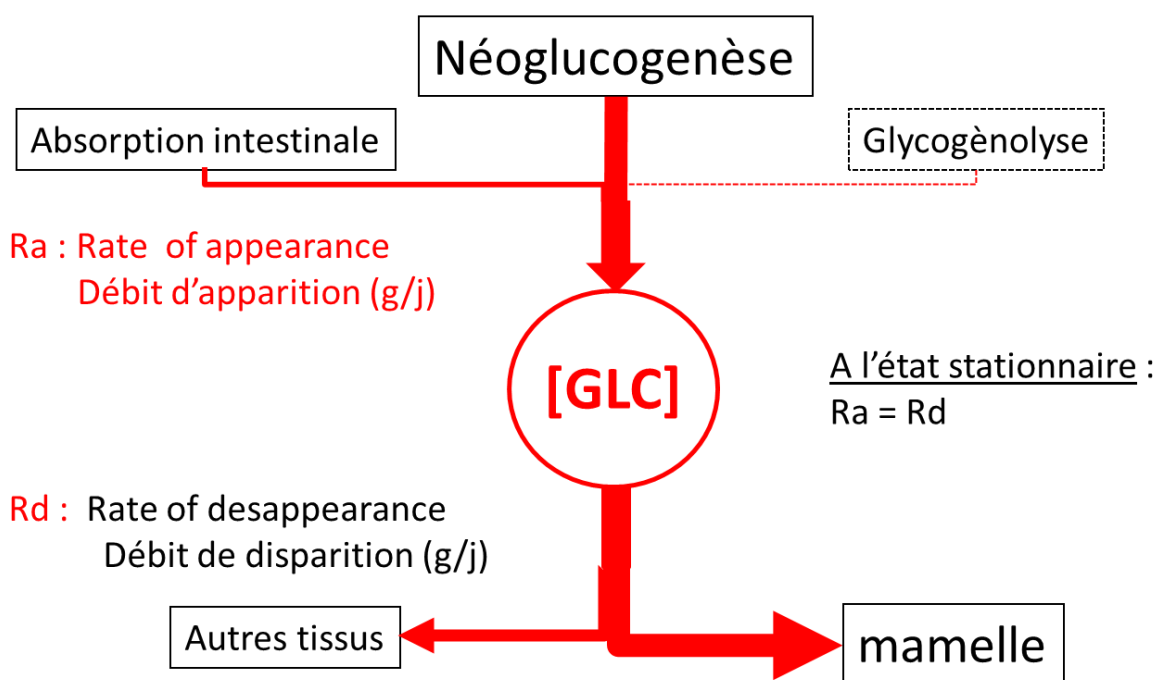


Figure 1. Débit d'apparition (Ra) et de disparition du glucose (Rd) chez un ruminant laitier.

substitué à d'autres nutriments afin de ne pas modifier la quantité totale d'énergie, d'azote ou de PDI apportée. Les apports sont alors qualifiés d'apports en substitution iso-énergétique ou iso-azotée ou iso-PDI). Dans ce type d'approche, le manque de représentativité du traitement témoin est parfois critiqué. C'est par exemple le cas quand du glutamate (Glu) est utilisé à fortes doses en substitution iso-azotée aux AAI d'intérêt étudiés. Dans une seconde approche, j'ai choisi d'augmenter la quantité d'un type de nutriments étudiés sans modifier aucun des autres apports nutritionnels (deux essais : [A15 ; A16 ; A18 ; A19]).

Chez les ruminants, le changement de ration module généralement plus d'un seul nutriment du fait des interactions digestives au niveau du rumen. J'ai donc aussi participé ou mené trois essais de métabolismes étudiant l'interaction entre apports d'énergie et de protéines au niveau des rations (Lemosquet et al., 2009c,d : [C6 ; C7]) dont l'un en collaboration avec G. Cantalapiedra-Hijar (2014a,b et 2015 ; [A2 ; A5 ; A6]). Récemment, j'ai choisi de réaliser deux essais d'alimentation pour étudier les réponses zootechniques aux apports d'AA à plus long terme et sur un plus grand nombre d'animaux. Ces essais sont en cours de valorisation ou d'analyse (Lemosquet et al., 2009c,d, 2012 et 2014 : [C4 ; C7 ; C8 ; C11]). Ils seront présentés dans mon projet de recherche.

1.3. Méthodologie d'étude du métabolisme

1.3.1. Les mesures de flux en métabolisme

Au cours de ma carrière, j'ai mise au point et utilisé un ensemble de méthodologies pour étudier la nutrition et le métabolisme.

J'ai utilisé des analyses de sensibilités (test de tolérance, clamp) à l'insuline pour étudier la régulation endocrinienne du métabolisme. Pour quantifier les flux de nutriments au niveau corporel, j'ai utilisé des isotopes stables (glucose deutéré : [6,6-²H₂]glucose, leucine[Leu] ou phénylalanine [Phe] marquées au ¹³C). J'ai en particulier développé la technique de dilution du glucose deutéré pour mesurer le débit d'apparition du glucose sur chèvres laitières (Lemosquet et al., 2002a : [A25]), puis, sur vaches laitières (Lemosquet et al., 2004b : [A22]). Le débit d'apparition du glucose représente la somme du glucose synthétisé par la néoglucogénèse hépatique et rénale, et du glucose absorbé à partir de l'intestin ; il peut aussi inclure le flux de glucose provenant de la glycogénolyse (Figure 1). Cette technique a été préférée aux bilans porte-hépatiques parce qu'elle est peu invasive pour l'animal et permet d'établir les lois de réponse du débit d'apparition dans des expériences plus longues avec des vaches à bon niveau de production (35 kg de lait /j). De plus, ce traceur, par son

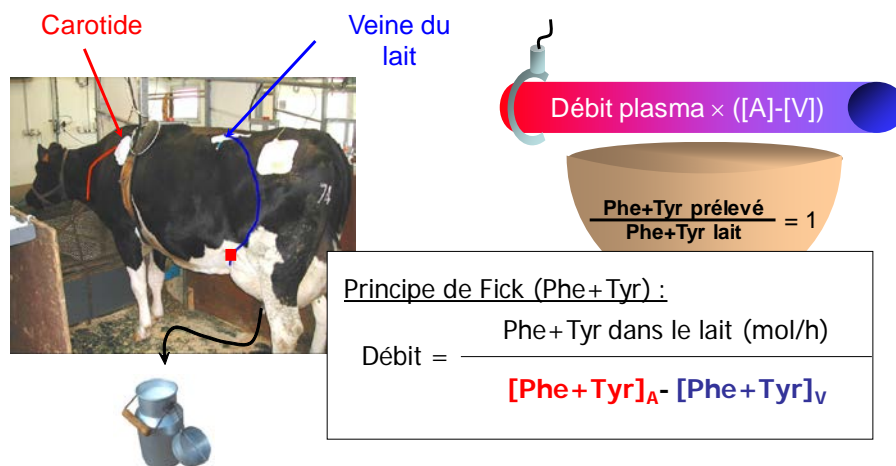


Figure 2. Mesure du prélèvement net mammaire sur une demi-mamelle selon le principe de Fick appliqué à Phe+Tyr (Cant et al., 1993).

Prélèvement Net

ou exporté dans le lait + CO₂

(mmol. C/H)

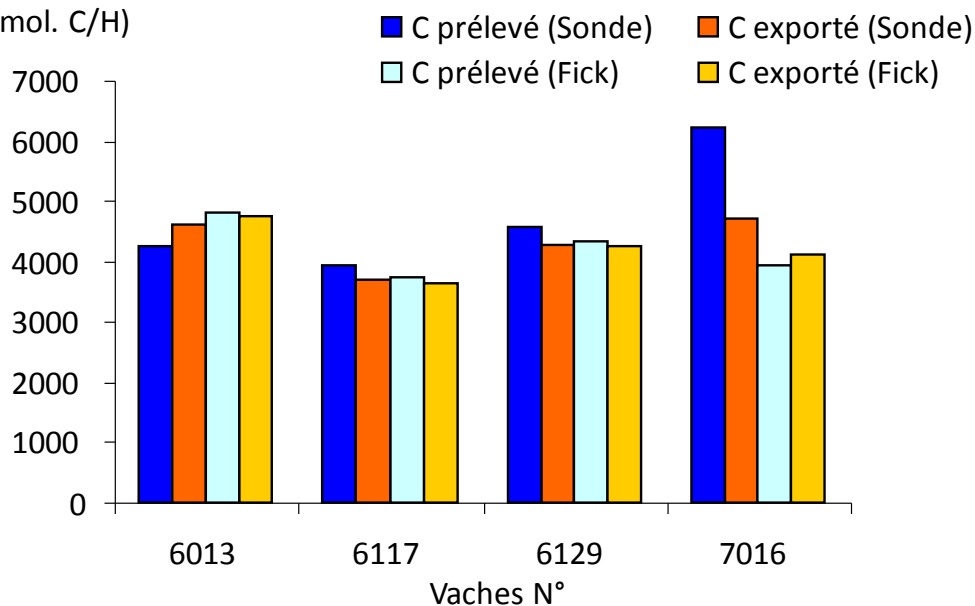


Figure 3. Comparaison (sur une base de carbone) des prélèvements nets de nutriments mesurés aux quantités de carbone exportées dans le lait et le sang veineux (CO₂) dans l'essai de Haque et al. (2015 : [A1]). Les dosages de Phe+Tyr ont été réalisés par UPLC/MS (cf. Tableau 3 ci-dessous). Les débits plasmatiques ont été soit mesurés avec une sonde débitmétrique ou calculés selon le principe de Fick (Phe+Tyr). Les bilans carbone ont été calculés selon Lemosquet et al. (2009b : [A14]). La sonde à ultrason A (Transonic) de la vache 7016 conduisait à surestimer ses prélèvements de 50% et le ratio prélèvements nets sur exportation dans le lait de (Phe+Tyr) était de 1,26 ; ce qui n'était pas le cas sur les 3 autres vaches présentant des ratios de 1.

faible taux de recyclage, permet d'estimer le débit d'apparition du glucose avec peu de biais. En effet, les contributions vraies de l'absorption de glucose en veine porte et de la production hépatique de glucose représentaient respectivement 21 % et 78 % du débit d'apparition du glucose chez la vache laitière (Galindo et al., 2011 : [A11]). Cette technique, encore très peu utilisée sur ruminants, a été validée (Lemosquet et al., 2004b : [A22]) en collaboration avec J.N. Thibault pour la partie dosage par spectrométrie de masse. La technique très complète de purification du glucose a été reprise pour étudier la production hépatique de glycogène (Luengo et al., 2009 : [A12]).

Pour mesurer la répartition de l'utilisation des nutriments entre la mamelle et les autres tissus, la mesure d'un flux corporel (Glucose deutéré, ^{13}C -Leu ou ^{13}C -Phe) a souvent été couplée à la technique des bilans mammaires (Figure 2) qui permet de mesurer les prélèvements nets mammaires à partir de la mesure du débit sanguin et les différences des concentrations artério-veineuses (DAV) :

$$\text{prélèvements nets (mmol/h)} = (A - V) \times \text{débit}$$

où A et V représentent les concentrations artérielles et veineuses (mmole/L) et où le débit correspond, soit à un débit plasmatique, soit à un débit sanguin (L/h), selon la matrice (plasma ou sang) utilisée pour le dosage du nutriment. Nous réalisons généralement des mesures de prélèvements nets mammaires sur une demi-mamelle. En effet, chaque demi-mamelle (gauche et droite) est irriguée par une artère pudique externe sur laquelle on peut poser une sonde débit-métrique. Le sang veineux est prélevé par la veine sous-cutanée abdominale correspondante appelée « veine du lait ». Les bilans mammaires doivent être réalisés sur des vaches en deuxième lactation pour que le sang prélevé dans la veine du lait provienne exclusivement de la mamelle (problème de compétences des valvules des veines du lait et pudique externe : Guinard et al., 1994 ; Thivierge et al., 2002). Mon apport méthodologique à partir de la thèse de G Raggio (2006c : [TH3]) a été de travailler sur la technique de débit sanguin pour obtenir une mesure juste et précise. En effet, il est important de réaliser des bilans mammaires où les prélèvements mammaires de tous les nutriments sont équivalents aux quantités de nutriments exportés dans le lait (et le sang veineux pour le CO_2). C'est une condition nécessaire pour émettre des hypothèses quant à l'utilisation intra-mammaire des nutriments prélevés. J'ai donc développé une méthode pour calculer les bilans mammaires en exprimant les prélèvements mammaires et les nutriments exportés sur une base d'azote et de carbone (Raggio et al., 2006a : [A18] ; Lemosquet et al., 2009b : [A16] ; Lemosquet et al., 2010b : [O4]). J'ai comparé deux techniques de mesure du débit sur l'ensemble des essais réalisés à Saint-Gilles portant sur l'effet de la nutrition sur le métabolisme mammaire. Il s'agissait du débit mesuré

Tableau 2. Comparaison de la précision du débit plasmatique d'une demi-mamelle (L/h) chez des vaches laitières recevant deux niveaux d'apports protéiques Bas (BP) et Haut (HP) croisés avec deux niveaux d'apports d'énergie (BE et HE ; tableau repris de Lemosquet et al., 2010b [O4] et 2009c ,d [C7 ; C8]).

Trois mesures du Débit Plasmatique (L/H)	Traitements				SE du model ¹	P <		
	BEBP n = 4	BEHP n = 4	HEBP n = 4	HEHP n = 3		E	P	E × P
Sonde A à Ultrason ² Principe de Fick ³	260	280	353	305	34.6	0.02	0.49	0.13
et dosage d'AA par GC-MS ⁴ ou dosage d'AA Echanges d'ion ⁵	221	254	309	279	34.3	0.03	0.95	0.15
	262	296	370	283	74.0	0.29	0.55	0.19

¹Erreur du modèle de la procédure GLM (SAS, 2004) ; ²débit plasmatique mesuré avec une sonde A ($\phi = 20$ mm ; Transonic); ³débit estimé avec le principe de Fick appliqué à Phe+Tyr ; ⁴ les concentrations de Phe+Tyr ont été mesurées par dilution isotopique (GC-MS; Calder et al., 1999). ⁵ Les concentrations de Phe+Tyr ont été mesurées avec une chromatographie liquide basse pression et une colonne échangeuse de cations (Guinard et al., 1994b).

Tableau 3. Répétabilité et reproductibilité (en intra-laboratoire) des concentrations plasmatiques d'acides aminés mesurés par UPLC/MS (« Ultra Performance Liquide Chromatography ») couplée à un Spectromètre de Masse ; repris de Haque et al., 2012a : [A8]).

AA	concentrations ¹ $\mu\text{mol/L}$	RSDr ² %	RSD _R ³ %
Ala	282	0,58	2,00
Arg	113	0,67	3,41
Asn	80,8	0,64	2,16
Asp	23,2	2,99	8,95
Cit	88,8	0,62	2,71
Cys	7,00	2,72	11,9
Cyst	3,90	2,19	5,53
Gln	253	0,57	5,02
Glu	42,8	1,36	3,97
Gly	408	1,25	2,52
His	67,7	0,52	1,54
Ile	112	0,53	1,79
Leu	102	0,58	1,82
Lys	112	0,69	2,58
Met	41,0	0,69	1,58
Orn	60,0	0,70	11,4
Phe	42,8	0,58	1,57
Pro	103	0,52	1,82
Ser	120	0,56	1,92
Tau	62,5	0,65	1,78
Thr	145	0,61	1,94
Trp	44,5	0,93	2,92
Tyr	59,6	1,77	6,01
Val	240	0,53	1,97

¹Concentrations moyennes d'un plasma jugulaire analysé 3 fois par jours, 8 jours différents, 1 jour par mois sur 8 mois.

²RSDr = Erreur résiduelle de la répétabilité.

³RSD_R = Erreur résiduelle de la reproductibilité.

avec une sonde débitmétrique à ultrason (Transonic) et de celui calculé à partir du principe de Fick appliqué à Phe+Tyr (Tyrosine). L'hypothèse sous-jacente au calcul du débit plasmatique à partir du principe de Fick est que les prélèvements nets mammaires de Phe et de son métabolite la Tyr soient égaux à leurs exportations dans les protéines du lait (Cant et al., 1993 ; Mepham, 1982). J'ai montré que le débit le plus juste était obtenu avec ce principe de Fick puisque les bilans carbone et azote étaient équilibrés (Figure 3 : exemple de l'essai de Haque et al., 2015 : [A3]). L'utilisation de ce principe requiert, cependant, d'avoir une technique de mesure des AA très précise (Tableau 2 et 3 ; Lemosquet et al., 2010b : [O4]) couplée à des prélèvements multiples avec les analyses réalisées sur les prélèvements individuels. Nous avons donc choisi d'investir avec N. Le Floc'h dans l'achat d'un UPLC MS qui nous permet de réaliser un dosage rapide et très précis des AA et de certains métabolites azotés (Haque et al., 2012a : [A8], Tableau 3). Enfin, nous avons montré en utilisant de la L[1-¹³C]Phe, qu'à des apports très élevés de Phe, ni la Phe, ni son métabolite Tyr n'étaient oxydés dans la glande mammaire (Lemosquet et al., 2010d : [C18]). Cette démonstration validait l'utilisation du principe de Fick avec des rations ayant un apport important de PDI.

1.3.2. Utilisation d'approches systémiques en métabolisme

J'utilise la méta-analyse et la modélisation pour aller plus loin dans l'interprétation des résultats de métabolisme. Ces méthodes permettent d'agrèger les résultats de plusieurs essais dans un tout plus cohérent (Sauvant et al., 2008). La méta-analyse a permis de synthétiser nos résultats de zootechnie (Rigout et al., 2003 : [A24] ; Lemosquet et al., 2008a : [C12] et 2010b : [O4] ; Quiniou, 2014 : [E6] et [CV2] ; Panzuti, 2015 ; [E1]) par exemple dans le cadre du projet « Systali » de révision du système d'alimentation des ruminants. Je l'ai également utilisée pour traiter des questions de métabolisme mammaire (Lemosquet et al., 2008a : [C12] et 2010b : [O4] ; Jay, 2013 [E2]), ce qui était assez nouveau.

J'ai également cherché à aller plus loin dans l'interprétation des résultats de métabolisme grâce à la modélisation. Avec P Faverdin, nous avons aussi construit un modèle dynamique pour estimer les quantités d'insuline sécrétées, la clairance hépatique de l'insuline, et de glucose utilisées en réponse à des tests de tolérance (Lemosquet et al., 2001 : [A28]). Je collabore avec des mathématiciens (A. Siegel, CNRS, IRISA, INRIA ; J. Bourdon, Université de Nantes) et O. Abdou Arbi ([A4 ; TH1 ; O2]) qui m'ont permis de découvrir et faire découvrir (Lemosquet et al., 2009c, 2013 : [C2 ; O2 ; C19]) d'autres approches de modélisation que l'approche par des modèles dynamiques, qui est l'approche toujours retenue dans notre communauté scientifique. Ces approches de modélisation permettant d'analyser

de manière systémique l'ensemble d'un réseau métabolique et leur flexibilité se sont développées en parallèle du développement de techniques d'analyse à haut débit telles que la protéomique, et la métabolomique. L'étude du réseau de flux de métabolites peut être envisagée par le formalisme d'analyse de flux sous hypothèse stationnaire ou « Flux Balance Analysis » (FBA ; Varma et Palsson 1994). Cette méthode paraît particulièrement bien adaptée pour étudier le métabolisme intramammaire car elle permet de tester des hypothèses de régulations de la synthèse des constituants du lait sans nécessiter de connaissances exhaustives de l'ensemble des régulations enzymatiques.

L'ensemble de ces méthodologies a été utilisé pour traiter les trois questions de recherches qui portaient sur l'effet d'équilibres nutritionnels sur 1) les régulations de l'insulinémie, 2) du métabolisme du glucose et 3) du métabolisme protéique.

2. Effet des nutriments glucoformateurs sur l'insuline et d'autres hormones impliquées dans la répartition de l'utilisation des nutriments

Au démarrage de ma thèse (fin 1993), il a fallu déterminer les équilibres endocriniens à étudier. Il a également été nécessaire de déterminer le premier modèle expérimental pour tester l'importance des changements de répartition que pouvaient induire les hormones en réponse à des changements d'alimentation chez les vaches en milieu de lactation. Je me suis intéressée à l'insuline à la fois parce que cette hormone est sensible à l'apport de nutriments puisqu'elle régule l'homéostasie glucidique (Grizard et al., 1988), et parce qu'elle intervient avec d'autres hormones telles que la GH et les IGF-I dans la régulation de la répartition de l'utilisation des nutriments entre la glande mammaire et les autres tissus (Bauman et Currie, 1980 ; Chilliard, 1993). Concernant le modèle expérimental, les premiers essais de zootechnie de C. Hurtaud (Hurtaud et al., 1993, 1998a et b) portant sur l'effet de l'apport glucose intestinal et/ou d'acide propionique ruminal aux vaches m'ont paru intéressants. En effet, ces apports de nutriments, produits lors de la digestion d'amidon, entraînaient une diminution du taux butyreux du lait. Cette diminution pouvait résulter d'un changement de répartition de l'utilisation des précurseurs des acides gras longs du lait entre le tissu adipeux et la mamelle. Selon l'hypothèse de MC Clymont et Valance (1962), ce changement de répartition, pouvait impliquer l'insuline.

2.1. Les connaissances sur la régulation du métabolisme chez les ruminants laitiers par l'insuline et l'hypothèse de Mc Clymont et Valance (1962)

2.1.1. Action de l'insuline

L'insuline, chez les ruminants comme chez les monogastriques joue un rôle majeur dans la régulation de l'homéostasie glucidique. Elle intervient dans la régulation de la néoglucogenèse hépatique (Brockman et Laarveld, 1986 ; Debras et al., 1989). L'insuline régule le transport de glucose par les transporteurs Glut-4 au niveau des tissus musculaire et adipeux (Hocquette et Balage, 1996) et son utilisation dans différentes voies du métabolisme du tissu adipeux (Vernon et al., 1981b). Elle régule le métabolisme lipidique en particulier au niveau du tissu adipeux en limitant la lipolyse et en stimulant la lipogenèse (Vernon, 1981a ; Chilliard, 1987). Elle stimule également l'accrétion protéique en limitant la protéolyse et en augmentant la protéosynthèse (Tesseraud et al., 1993, 2007).

Il a d'abord été démontré que l'insuline était nécessaire pour le fonctionnement de la glande mammaire. En effet, la production laitière et la production de lactose diminuent sur des chèvres rendues diabétiques après un traitement à l'alloxane (Hove, 1978a). Des récepteurs à l'insuline ont été mis en évidence sur les tissus mammaires des vaches (Vernon, 1989) et cette hormone est nécessaire au maintien de ce tissu en culture (Bauman et al., 1973). Cependant, il a aussi été démontré que le prélèvement net mammaire de glucose variait peu avec l'augmentation de l'insulinémie chez les petits ruminants laitiers dans le cas de clamps euglycémiques ou hyperglycémiques (Laarveld et al., 1981 ; Leenanurska et al., 1988). Le prélèvement du glucose par la glande mammaire semble donc peu dépendant de l'action directe de l'insuline sur cet organe mais dépend de la stimulation de l'utilisation du glucose par l'insuline au niveau des autres tissus. Cependant, l'insuline augmente le débit sanguin dans le cas de clamps euglycémiques longs sur 4 jours (Bequette et al., 2001). Il n'a pas été mis en évidence de transporteurs insulino-dépendants GLUT4 dans du tissu mammaire de vaches laitières ou tarées mais les transporteurs GLUT1 sont présents en plus grande quantité dans le tissu mammaires de vache en lactation que dans celui de vaches tarées (Zhao et al., 1996).

De plus, en début de lactation, la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline (Debras et al., 1989) est diminuée alors qu'en milieu de lactation l'affinité du récepteur augmente au niveau du foie (Vernon et Sasaki, 1991). La réduction maximale du débit d'apparition du glucose permise par l'insuline est également moins importante en début de lactation qu'en milieu de lactation (Debras et al., 1989). En début de lactation, la sécrétion de GH et d'IGF-I ou la sensibilité des tissus (foie, tissu adipeux) à ces

hormones est également modifiée (GH et IGF-I ; Vernon, 1989 ; Vernon et Sasaki, 1991). Ainsi lors du changement de statut homéorhétic que constitue le début de lactation, les modifications de sécrétion d'hormone de croissance (GH) et d'insuline sont interprétées comme favorisant l'augmentation de la néoglucogenèse et la partition de l'utilisation des nutriments vers la glande mammaire (Bauman et Currie, 1980 ; Vernon et Sasaki, 1991).

2.1.2. Sécrétion de l'insuline

En phase post-prandiale, l'insulinémie augmente chez le ruminant comme chez les animaux monogastriques. Cependant, l'augmentation est moins importante chez les vaches en milieu de lactation puisque les pics d'insulinémie sont de l'ordre de 2 ng/ml (Faverdin, 1985). Plusieurs hypothèses pouvaient être émises pour expliquer ces différences entre la vache et les monogastriques : une sensibilité moins grande du pancréas des vaches à la stimulation par les nutriments limitant l'augmentation de l'insulinémie, une clairance hépatique très importante limitant l'augmentation de l'insulinémie périphérique, la cinétique d'absorption postprandiale des produits terminaux de la digestion qui est très différente chez les ruminants et chez les monogastriques.

Il avait été démontré que l'injection intraveineuse d'acide propionique, le principal précurseur du glucose corporel au niveau de la néoglucogenèse hépatique, augmentait fortement l'insulinémie chez la chèvre (De Jong, 1982) et la vache laitière (Sartin et al., 1985a) ainsi que la glucagonémie. Cependant, l'utilisation de l'acide propionique dans la néoglucogenèse, le principal précurseur du glucose chez les ruminants, ne paraît pas dépendre de l'insuline (Brockman, 1993). L'insulinémie augmente également fortement à l'injection de glucose (Hove, 1978b ; Sartin et al., 1985b). La contribution des AA à la production de glucose n'est pas bien connue chez les ruminants (Aschenbach et al., 2010) et leur potentiel insulino sécréteur n'avait été que très peu décrit chez le ruminant (Hertelendly et al., 1970 ; Kuhara et al., 1992).

2.1.3. Un modèle d'étude d'effet des nutriments sur la répartition des précurseurs de la synthèse de lait : effet du glucose intestinal sur le taux butyreux

Les premiers résultats d'apports de glucose intestinal de C. Hurtaud (Hurtaud et al., 1993, 1998a et b) montraient que la chute du taux butyreux s'expliquait en partie par une diminution de la quantité d'acides gras longs en C18. Or, ces acides gras ne sont pas synthétisés dans la glande mammaire mais sont directement prélevés à partir de l'hydrolyse des triglycérides des VLDL (Moore et Christie, 1979). Ceci suggérait donc que l'apport de glucose intestinal entraînait un changement de répartition

de l'utilisation des précurseurs des acides gras longs. Cependant, l'effet de ces traitements sur les concentrations circulantes des nutriments précurseurs n'avait pas été quantifié hormis dans les premiers essais de C. Hurtaud et leur prélèvement mammaire n'avait jamais été mesuré. Cet effet pouvait être médié par l'insuline, hormone antilipolytique et lipogénique comme l'avait suggéré MC CLymont et Valance (1962). D'autres hormones impliquées (GH, IGF-1, glucagon, cortisol...) dans la régulation de l'homéostasie et du métabolisme du glucose et des lipides (Chilliard, 1993 ; Vernon et Sasaki, 1991) pouvaient également expliquer ces effets. De plus, la diminution des acides gras longs du lait pouvait aussi résulter d'un effet plus direct du glucose sur la lipogénèse. En effet, des perfusions intraveineuses de glucose ont augmenté l'activité d'enzymes de la lipogénèse dans le tissu adipeux de ruminants (Ballard et al., 1972 ; Rao et al., 1973 ; Vernon, 1989).

2.2. Questions de recherche sur l'effet des nutriments sur l'insuline et d'autres hormones impliquées dans la répartition de l'utilisation des nutriments

Au début de ma thèse (fin 1993), l'insuline était perçue comme une hormone favorisant la répartition de l'utilisation des nutriments, en particulier du glucose, au détriment de la glande mammaire. De l'analyse de la littérature, il ressortait que l'effet de nutriments glucoformateurs sur la sécrétion d'insuline avait été peu étudié alors que notre hypothèse de modifications de l'utilisation des précurseurs des acides gras longs du lait impliquait un changement de sécrétion hormonale. De plus, notre hypothèse restait à mieux étayer sachant que les prélèvements mammaires des précurseurs des acides gras longs n'avaient jamais été quantifiés en réponse à ces questions. C'est pourquoi ma première question a été d'étayer l'effet du glucose intestinal sur les précurseurs des matières grasses. Ma deuxième question a été d'analyser le potentiel insulino-sécréteur des nutriments glucoformateurs. Pour expliquer les éventuels changements de répartition des précurseurs des acides gras longs par l'insuline, il fallait aussi vérifier que la sensibilité des tissus à l'insuline n'était pas altérée lorsque l'on augmentait la disponibilité corporelle en glucose. Enfin, pour compléter cette hypothèse de changement de répartition des nutriments, j'ai étudié les variations de concentrations circulantes d'autres hormones ainsi que les relations entre les variations de débit d'apparition du glucose et celles des acides gras longs en C18 du lait.

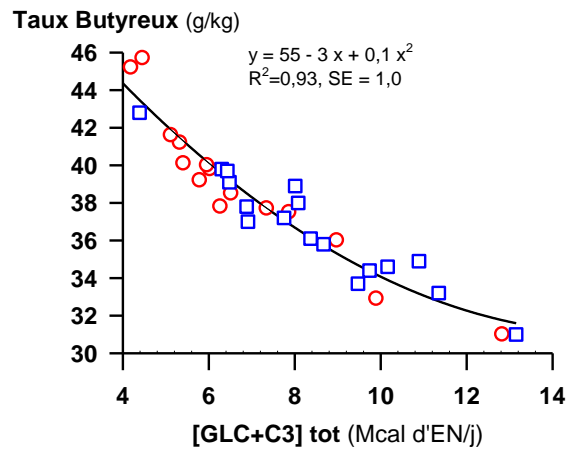


Figure 4. Diminution du taux butyreux (concentration en matières grasses) du lait en réponse à des apports d'acide propionique (C3) dans le rumen ou des apports post-rumen de glucose (GLC), exprimés en MCal d'Énergie Nette (EN) par jour (d'après Rigout et al., 2003 : [A24]).

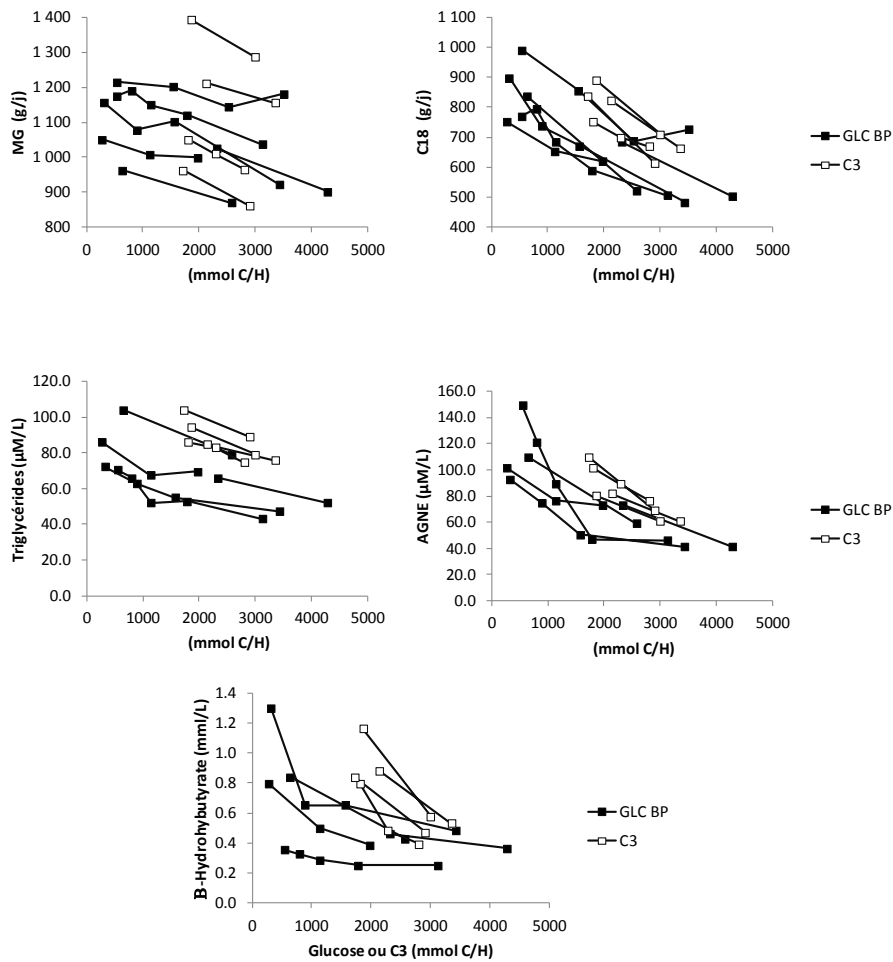


Figure 5. Diminution des matières grasses (MG) du lait, des acides gras longs en C18, des concentrations plasmatiques de leurs précurseurs (Triglycérides et Acides Gras Non Estérifiés [AGNE]) et de β -hydroxybutyrate (précurseur des acides gras courts) en réponse à des apports de glucose (GLC) By Pass (BP = post rumen) ou d'acides propionique (C3) dans le rumen (dans les essais de Lemosquet et al., 1997b [A31] ; Hurtaud et al., 2000 [A29] ; Rigout et al. 2002 a et b : [A26 ; A27] ; Lemosquet et al., 2009a [A15]).

2.3. Diminution de l'apport de précurseurs d'acide gras long du lait par l'apport de glucose intestinal

La poursuite de nos travaux sur les effets du glucose intestinal et de l'acide propionique ruminal (Hurtaud et al., 2000 : [A29] ; Lemosquet et al., 1997b : [A31] ; Rulquin et al., 2007b : [S1]) a permis de confirmer les diminutions de taux butyreux et de production de matières grasses dans le lait. Dans ces essais, les nutriments étaient apportés en substitution à d'autres nutriments énergétiques (sur une base d'énergie nette). Une première synthèse (Figure 4) de leurs effets sur la composition du lait a été rédigée dans le cadre de la thèse de Sophie Rigout (2003 : [A24], 2002c : [TH4]). Dans l'ensemble de nos essais, la diminution des matières grasses avec l'apport de glucose intestinal était bien principalement due à une diminution des acides gras longs du lait en particulier des acides gras en C18 qui expliquait de 35 % à 80 % de la diminution des matières grasses (Lemosquet et al., 1997b : [A31] ; Hurtaud et al., 2000 : [A29], Rigout et al. 2002a : [A26]). De plus, les acides gras à chaînes courtes diminuaient (C4 à C8).

Nous avons observé une diminution des concentrations plasmatiques circulantes d'AGNE, des triglycérides précurseurs des acides gras en C18 et du β -Hydroxybutyrate, précurseur des acides gras courts dans tous nos essais (Figure 5). De plus, nous avons également démontré une diminution du prélèvement net mammaire des triglycérides en réponse à des apports de glucose intestinal (Rigout et al., 2002a : [A26]) et d'acide propionique ruminal (Lemosquet et al., 2009b : [A16]).

L'ensemble de ces éléments ont permis d'étayer notre hypothèse initiale qu'une diminution de la quantité d'acides gras longs du lait pouvait provenir d'un changement de l'équilibre lipogénèse-lipolyse au niveau du tissu adipeux, diminuant ainsi la disponibilité des triglycérides dans le pool sanguin. Cet effet pouvait être médié par l'insuline, hormone anti-lipolytique et lipogénique. J'ai donc analysé l'effet des nutriments sur la sécrétion d'insuline et les conséquences de ces traitements sur la sensibilité des tissus à son action.

2.4. Quels sont les nutriments insulino-sécréteurs chez la vache laitière ?

J'ai d'abord voulu hiérarchiser l'effet de l'augmentation de l'insulinémie en réponse à des apports iso-énergétiques d'acide propionique, de glucose et d'AA au travers de tests de tolérance. Il s'agissait d'injections intraveineuses d'une quantité importante d'un nutriment provoquant une augmentation

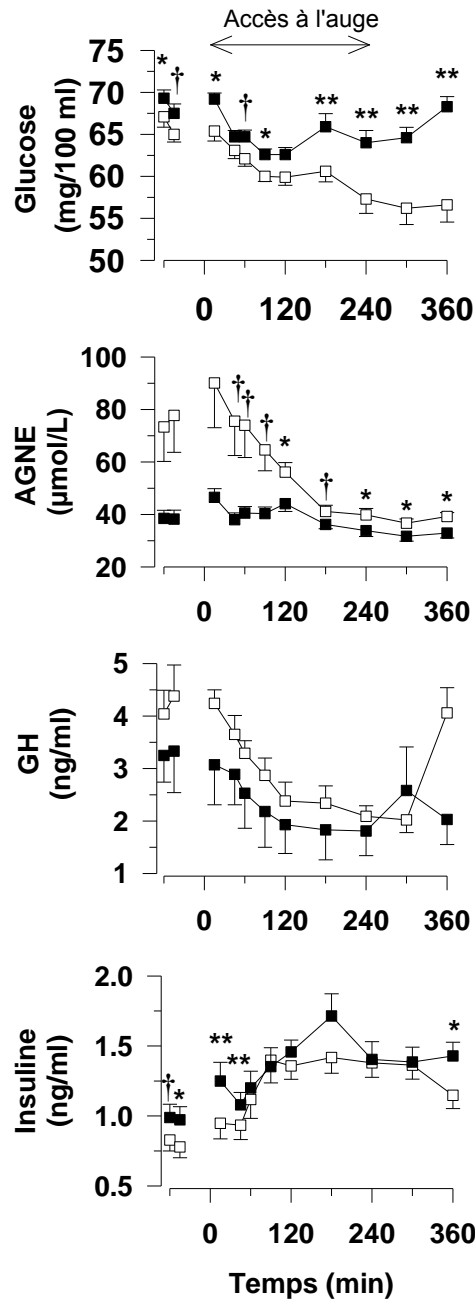


Figure 6. Variation en phase post-prandiale de la glycémie, des concentrations plasmatiques d'Acides Gras Non Estérifiés (AGNE), de l'insulinémie, de l'hormone de croissance (GH). Effets de l'apport de glucose dans le duodénum (■) en substitution iso-énergétique sur une base d'énergie nette à une partie de la ration (traitement témoin □). La ration est à base de maïs (repris de Lemosquet et al., 1997b [A31]).

importante de l'insulinémie. Je n'ai pas pu comparer l'augmentation provoquée par l'acide propionique à celle des autres nutriments car son injection entraînait un stress métabolique des animaux. J'ai pu cependant montrer que les AA tout comme le glucose injecté en intraveineux avaient la capacité d'augmenter fortement l'insulinémie. De plus, il existait, comme cela avait été démontré chez le rat, un effet d'action de synergie entre le glucose et les AA : l'augmentation de l'insulinémie était plus qu'additive lorsque ces deux types de nutriments étaient injectés ensemble (Lemosquet et al., 1997a :[A30]).

J'ai ensuite choisi d'analyser la réponse post-prandiale de l'insulinémie dans 2 situations nutritionnelles (Lemosquet et al., 1997b [A31]). Il s'agissait de comparer l'effet d'un apport de glucose dans le duodénum mimant une variation d'amidon by pass (non dégradé dans le rumen) à un régime témoin. Le glucose était apporté en substitution iso-énergétique à une partie de la ration en changeant la composition du concentré énergétique. J'ai pu illustrer qu'en phase post-prandiale l'augmentation de l'insulinémie engendrait une baisse de la glycémie (Figure 6 ; Lemosquet et al., 1997b [A31]), ce qui pouvait limiter l'amplitude de l'augmentation de l'insulinémie. La baisse de la glycémie dans le traitement témoin sans apport de glucose s'expliquait donc par le fait que l'insulinémie augmentait dès 30 min après le début du repas et restait élevée (mesure effectuée jusqu'à 4 h) alors que l'absorption de l'acide propionique et des AA est continue et présente un pic environ 3 h après le début du repas.

J'ai également montré que cet apport continu de glucose dans le duodénum limitait cette chute de glycémie (Figure 6). De plus, il augmentait bien légèrement, mais significativement, l'insulinémie basale (avant le repas du matin) de $0,82 \pm 0,1$ à $1,02 \pm 0,1$ ng/ml (Figure 6). Cette augmentation n'était pas observée au pic post-prandial d'insulinémie, peut-être du fait de la limite de précisions des dosages d'insulinémie (3,9 vs. 5,3 ng/ml, NS) entre le régime témoin et l'apport de glucose intestinal. Cependant les variations postprandiales d'insulinémie dépendent de la cinétique d'absorption des différents nutriments insulino-sécréteurs, ce qui reste difficile à mesurer in vivo dans sa globalité à moins de développer la technique invasive de mesures des bilans porte-hépatique.

Dans cet essai (Lemosquet et al. 1997b, [A31]), la diminution des acides gras longs du lait et des concentrations circulantes de triglycérides et des AGNE pouvait s'expliquer par l'augmentation de l'insulinémie basale. Cependant, ces variations étaient faibles et n'existaient pas en phase postprandiale. Les plus fortes valeurs de glycémie post-prandiale pouvaient étayer l'hypothèse d'une

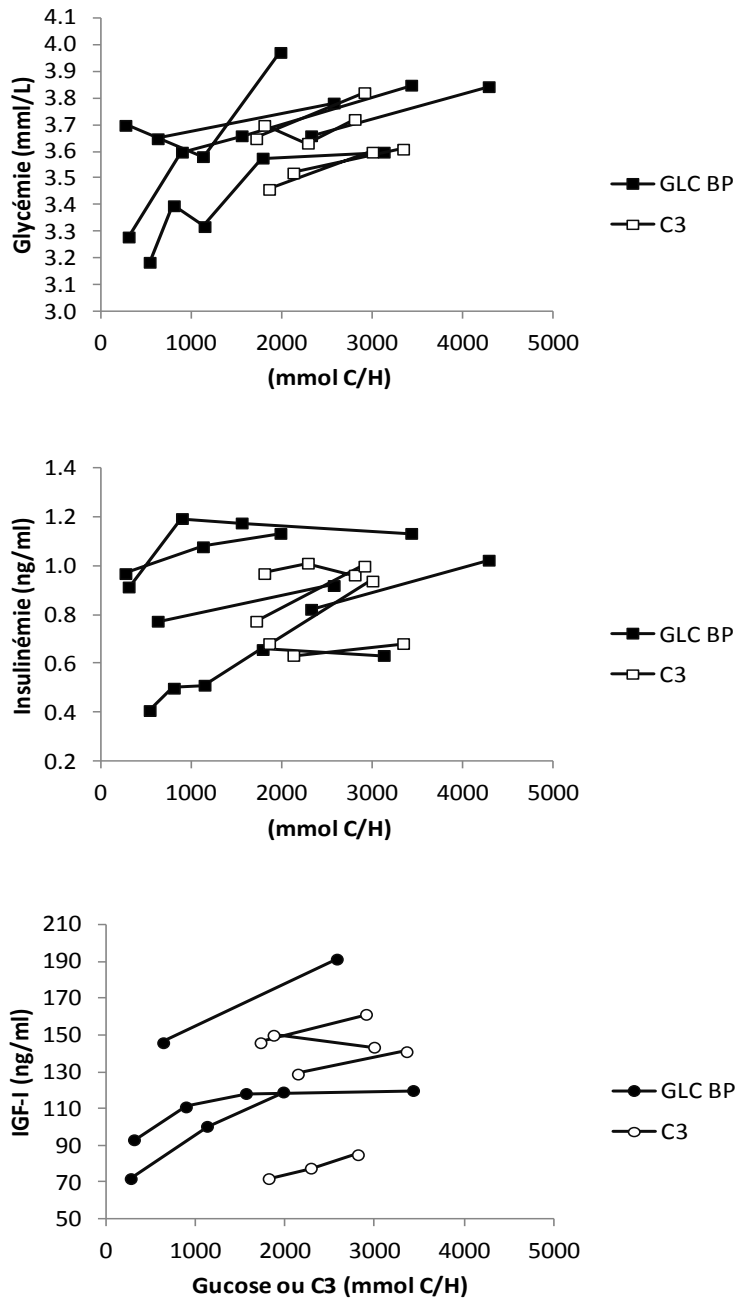


Figure 7. Variation de concentrations plasmatiques basales d'insuline et d'IGF-I. Effets de l'apport de glucose dans le duodénum (●), d'acide propionique dans le rumen (○) en substitution iso-énergétique sur une base d'énergie nette à une partie de la ration (Lemosquet et al., 1997b, 2004a, 2009a, b ; Rigout et al., 2002a,b : [A15 ; A16 ; A21 ; A26 ; A27 ; A31]).

action lipogénique directe du glucose sur le tissu adipeux (Vernon, 1989). Il fallait aussi vérifier que la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline n'était pas diminuée pour qu'un changement de répartition des triglycérides puisse expliquer la diminution des acides gras longs du lait. J'ai alors étudié la sensibilité des tissus à l'insuline.

2.5. Variations de la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline

L'application de notre modèle (Lemosquet et al., 2001 [A28]) d'analyse des tests de tolérance au glucose et à l'insuline à notre essai n'a pas démontré de changements importants de sensibilité mais suggérait bien une sécrétion d'insuline plus élevée et une utilisation du glucose accrue, confirmant les résultats précédents. J'ai ensuite montré qu'une variation importante d'apport de glucose intestinal chez la chèvre laitière en milieu de lactation n'affectait pas la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline (Lemosquet et al., 2002a [A25]). En effet, l'apport par voie intraveineuse de glucose augmentant la glycémie de 3,3 mM à 5,5 mM pendant 3 jours a augmenté la sensibilité des tissus à l'insuline en réponse à un clamp euglycémique, euamino-acidémique sans affecter la production de lait. Cependant, une diminution du nombre total de transporteurs de glucose insulino-sensibles de type GLUT-4 totaux dans le muscle Longissimus Thoracis a été observée (Lemosquet et al., 2002a : [A25]) suggérant que cette forte dose de glucose apportée pouvait affecter la sensibilité ou la réponse maximale des tissus à l'insuline à plus long terme.

La sensibilité des tissus à l'action de l'insuline des vaches laitières en milieu de lactation semblait ne pas être altérée par l'apport de glucose intestinal perfusé à des doses proches des variations d'amidon que l'on peut créer par l'alimentation. L'hypothèse d'un changement de répartition des précurseurs des acides gras longs par l'insuline semblait une hypothèse valide à l'issue de nos premiers travaux pour expliquer la diminution des gras long du lait en réponse à l'apport de glucose intestinal. Cependant, les variations d'insulinémie en réponse à de tels traitements restaient faibles. D'autres hormones et d'autres mécanismes pouvaient également contribuer à expliquer cette diminution des acides gras longs du lait.

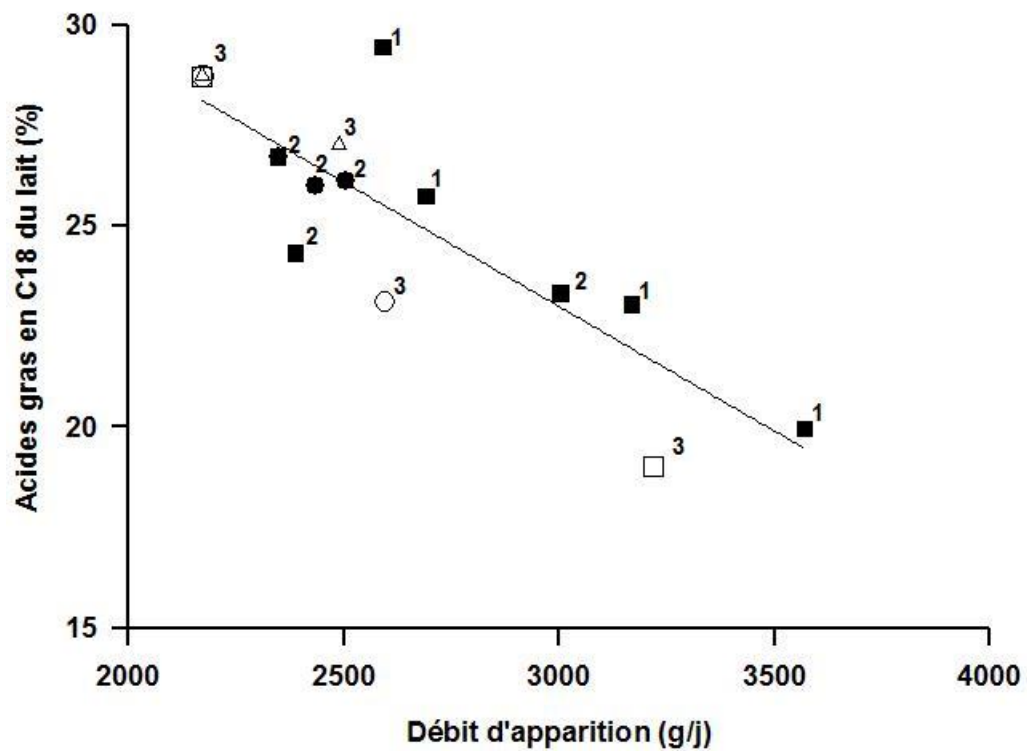


Figure 8. Réduction du pourcentage d'acides gras longs du lait (C18) en fonction de l'augmentation du débit d'apparition du glucose (exprimé en g) obtenue avec les perfusions de glucose intestinal (■, □), d'acide propionique ruminal (●, ○) ou d'acides aminés non indispensables apportés en substitution (■, ●) ou en supplément (□, ○, △) énergétique à la ration dans trois essais (Rigout et al., 2002b ; Lemosquet et al., 2004a et Lemosquet et al., 2009a [A15 ; A21 ; A27]).

2.6. Variations des concentrations circulantes d'hormones régulant l'homéostasie et du débit d'apparition du glucose

Il m'a semblé important d'analyser les variations des concentrations circulantes d'autres hormones régulant l'homéostasie glucidique (insuline, IGF-I, GH, glucagon, etc.) et la répartition de l'utilisation des nutriments (IGF-I, GH) entre la glande mammaire et les autres tissus en réponse à l'apport des différents nutriments glucoformateurs (Lemosquet et al., 1997b, 2004a, 2009a,b ; Rigout et al., 2002a,b : [A15 ; A16 ; A21 ; A26 ; A27 ; A31]). Les variations d'apports de chacun de ces types de nutriments représentaient dans la plupart des essais les variations maximales qui peuvent être créées en modifiant l'alimentation des vaches. Comme le montre la Figure 7, synthèse des résultats, la glycémie basale, l'insulinémie basale et les concentrations circulantes d'IGF-1 augmentaient en réponse à l'apport de glucose intestinal et d'acide propionique ruminal. Les concentrations de GH analysées en cinétique étaient toujours plus faibles mais cette diminution n'était pas significative (Figure 6). Ces variations de concentrations plasmatiques artérielles ou jugulaires sont cependant faibles au regard de la précision des dosages radio-immunologiques et sont beaucoup plus difficiles à mettre en évidence que les variations de concentrations circulantes de triglycérides, d'AGNE ou d'acides gras du lait en C18.

Pour étayer l'hypothèse d'une action directe du glucose sur le tissu adipeux (Vernon, 1989), j'ai simplement cherché s'il existait (ou non) une corrélation entre le débit d'apparition du glucose (mesuré avec le glucose deutéré) et les quantités d'acides gras en C18 du lait. Le pourcentage d'acides gras en C18 diminue linéairement avec l'augmentation du débit d'apparition du glucose (Figure 8) dans les trois essais examinés (Rigout et al., 2002b ; Lemosquet et al., 2004a et Lemosquet et al., 2009a [A15, A21, A25]). Cette relation linéaire montre bien le lien entre le glucose et la réduction des concentrations circulantes des triglycérides et des AGNE. Cependant, elle ne permet pas de savoir s'il s'agit d'un effet direct du glucose sur l'axe lipogénèse-lipolyse du tissu adipeux ou si cet effet est indirect et médié par les hormones. L'absence de relation aurait permis de réfuter cette hypothèse d'un effet direct.

2.7. Conclusions

L'analyse de ces résultats a montré donc que la sécrétion d'insuline chez la vache laitière en milieu de lactation est sensible aux variations d'apports de nutriments absorbés, y compris à celui d'AA. De plus, la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline n'est pas diminuée en milieu de lactation ce qui

est différent de ce qui avait été démontré en début de lactation (Debras et al., 1989). Enfin, l'apport des différents nutriments (glucose, acide propionique, AA) par voie digestive a augmenté les concentrations circulantes d'autres hormones impliquées dans l'homéostasie en particulier les IGF-1 et le glucagon. A l'issue de nos travaux, l'hypothèse d'un changement de répartition des précurseurs des acides gras longs induit par les hormones semblait une hypothèse valide pour expliquer la diminution des gras long du lait en réponse à l'apport de glucose intestinal. Depuis la fin de ma thèse, de nombreuses autres hypothèses (Griinari et al., 1998) ont été évoquées pour expliquer la diminution du taux butyreux du lait lorsque l'on augmente la proportion de concentré dans la ration. L'origine de cette diminution semble multifactorielle (Rulquin et al., 2007 [S1]; Maxin et al., 2011a,b) et peut impliquer l'exportation d'acide gras trans dans le lait (en particulier trans_{10} C18 :1 et trans_{10} , cis_{12} CLA) et l'inhibition par ces acides gras de la lipogenèse mammaire (Shingfield et al., 2010). Cette hypothèse plus récente sur l'effet des acides gras trans ne peut pas être retenue pour expliquer la diminution du taux butyreux dans les essais de perfusions d'acide propionique ruminal ou de glucose intestinal, car ces apports n'altèrent pas la proportion d'acides gras trans C18 :1 dans le lait (Rigout et al., 2003 : [24] ; Maxin, 2011a,b). L'hypothèse impliquant un changement de répartition des précurseurs des acides gras longs reste donc toujours une hypothèse robuste pour expliquer l'effet du glucose sur les diminutions des acides gras longs en C18.

Cependant, ces premiers travaux ont également montré toute la difficulté à quantifier les variations de sécrétion de ces hormones en mesurant simplement leurs variations de concentrations plasmatiques. En effet, les traitements ne faisaient varier l'apport d'un nutriment que dans une gamme proche des conditions d'alimentation des vaches laitières. Les variations de concentrations plasmiques observées étaient faibles au regard de la précision permise par leur dosage radio-immunologique. Les techniques de tests de tolérance (Efendic et al., 1974 ; Castillo et al., 1994 ; De Boer et Kennelly, 1989) ou de clamps euglycémiques hyperinsulinémiques (De Fronzo et al., 1979) permettent de décrire la sensibilité, la réponse maximum à l'insulinémie mais ne permettent pas de quantifier les changements de répartition de flux de nutriments.

A contrario, la mesure des prélèvements nets mammaires des triglycérides dans les deux essais de métabolisme mammaire a permis de démontrer et de quantifier le changement de répartition de leur utilisation entre la mamelle et les autres tissus. Il m'a semblé plus pertinent pour analyser la répartition des nutriments, de quantifier les flux de glucose produits et utilisés (Figures 1, 9) dans l'organisme et leur répartition d'utilisation entre la mamelle et les autres tissus.

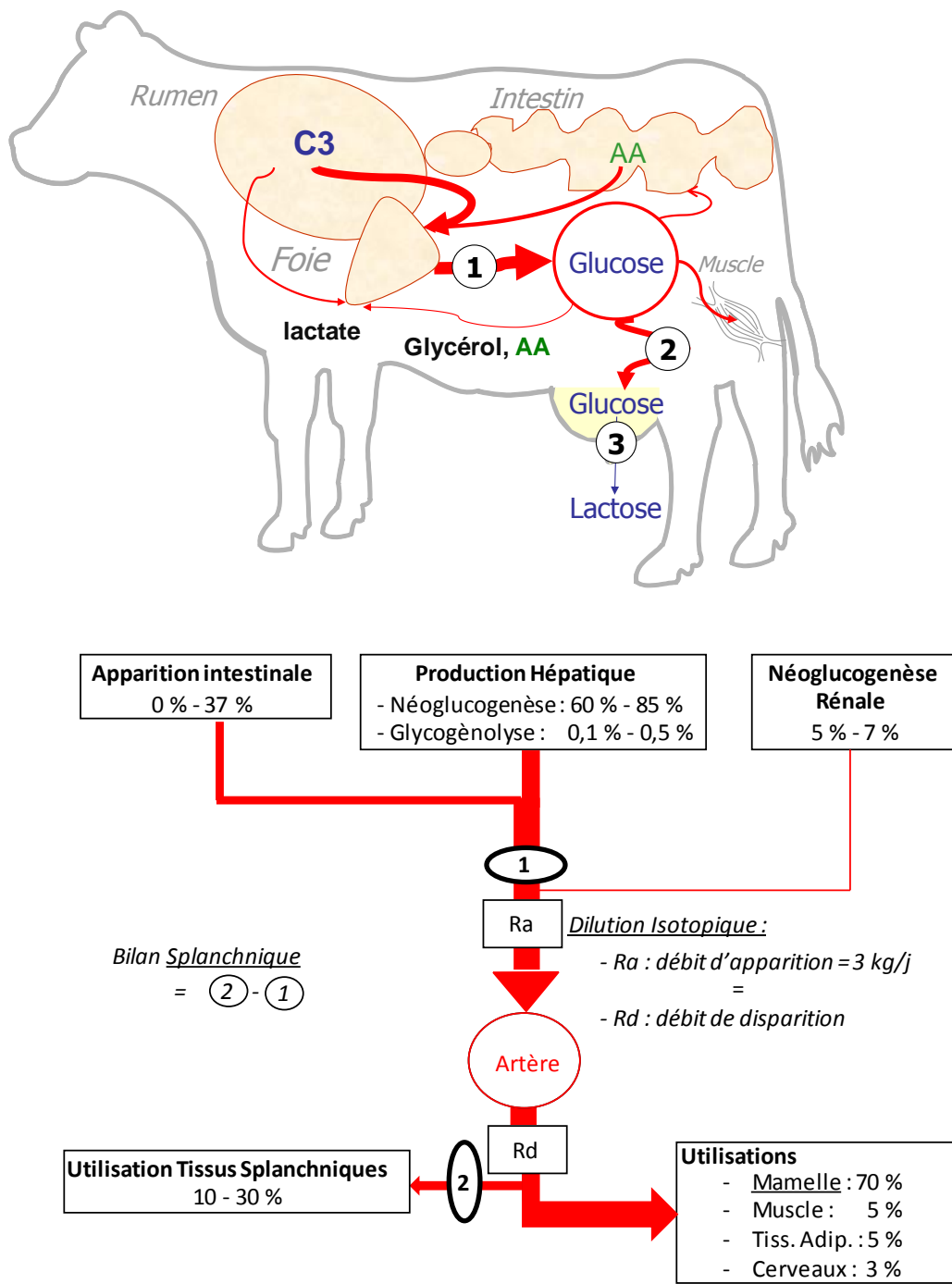


Figure 9. Le métabolisme du glucose chez la vache laitière (Lemosquet et al., 2009a [A15]). Débit d'apparition du glucose chez une vache laitière produisant 35 kg de lait et répartition de son utilisation (Lemosquet et al., 1997c : [R1] ; Rigout et al., 2002b : [A27] ; Lemosquet et al., 2009b : [A16] ; Galindo et al., 2011 : [A11]).

3. Effet des nutriments glucoformateurs sur le métabolisme du glucose et sa répartition entre la synthèse de lactose et d'autres utilisations

3.1. Rappel des connaissances sur le métabolisme du glucose des vaches laitières

Il est connu que le volume de lait varie avec l'apport d'énergie et de protéines aux vaches (cf. revue de Broster, 1973, Vérité et Delaby, 2000). Le volume de lait dépend principalement de la synthèse de lactose qui exerce une pression osmotique importante au niveau de la cellule épithéliale mammaire (Linzell et Peaker, 1971). Son principal précurseur est le glucose prélevé par la mamelle.

Les vaches utilisent des quantités très importantes de glucose pour la synthèse de lactose. Environ 1,4 kg/j de glucose est utilisé pour synthétiser le lactose d'une vache produisant 27 kg/j de lait (Lemosquet et al., 2009b : [A16]). L'utilisation mammaire de glucose représente une fraction encore plus importante du débit d'apparition du glucose puisque tout le glucose prélevé par la glande mammaire n'est pas exclusivement utilisé pour la production de lactose. Dans l'exemple de la Figure 9, le glucose prélevé représente $70 \% \pm 14 \%$ du débit d'apparition du glucose (Lemosquet et al., 2011 : CI1) et le lactose représente en moyenne 70 % du glucose prélevé (base de données d'essais de bilan mammaire avec des vaches en milieu de lactation ; Lemosquet et al., 2010b : [O4]). Les autres tissus consommateurs de glucose après la glande mammaire sont en premier l'aire splanchnique puis les tissus musculaires et adipeux. Les travaux de méta-analyse de Loncke et al. (2009) suggèrent que les ruminants utilisent de 0,4 à 1,3 g/j/kg de poids vif de glucose au niveau des tissus drainés par la veine porte, ce qui représenterait chez les vaches laitières de nos essais, de 10 à 30 % du débit d'apparition du glucose. L'utilisation par le muscle, le tissu adipeux ne représenterait que 10 % de l'utilisation totale et celle du cerveau serait de 3 % (Baird et al. 1983 ; Van der Walt cité par McRae et al., 1988).

Par ailleurs, le glucose ne serait cependant pas l'unique précurseur du lactose. Il contribuerait à 85 % des carbones du lactose (Bickerstaffe et al., 1974). Des études in vitro ont montré que les autres précurseurs du lactose pouvaient être le glycérol, ou récemment certains AA (Bequette et al., 2006). De plus, le glucose est utilisé dans la cellule épithéliale mammaire dans plusieurs voies métaboliques autres que pour la synthèse de lactose. Le glucose constituerait après l'acétate le deuxième principal nutriment oxydé pour fournir de l'ATP nécessaire aux synthèses et contribuerait à 20 % du CO₂ produit par la glande (Bickerstaffe et al., 1974). Il participe également à la synthèse de NADPH nécessaire à la synthèse des acides gras (Bauman et Davis, 1974) via la voie des pentoses phosphates

à partir du glucose-6-phosphate. Il fournirait 50 % du NADPH nécessaire à la synthèse des AG chez les vaches (Gumaa et al., 1973). Cependant, ces chiffres d'utilisation intra-mammaire ne donnent qu'un ordre de grandeur de la répartition intra-mammaire de l'utilisation du glucose. En effet, l'utilisation des nutriments dans les différentes voies du métabolisme mammaire a été quantifiée dans très peu de situations physiologiques. La majorité des études ont été réalisées dans les années 1970 sur des ruminants laitiers ne présentant pas les mêmes potentiels génétiques qu'actuellement. Il s'agit de quelques études menées in vivo combinant des techniques de bilan mammaire avec l'utilisation d'isotope du glucose, ou de mesures in vitro sur tissu mammaire.

Enfin, les ruminants absorbent peu de glucose notamment dans le cas de régimes à base d'herbe et de concentrés apportant peu d'amidon by pass (non digéré dans le rumen). Le glucose est principalement produit par la néoglucogenèse hépatique dont le principal précurseur est l'acide propionique produit par les fermentations dans le rumen. Toutefois, chez les vaches laitières hautes productrices recevant des rations à base d'ensilage de maïs, une partie non négligeable de l'amidon (jusqu'à 3 kg) peut échapper à la dégradation ruminale et augmenter la quantité de glucose absorbée. La quantité de glucose absorbée serait cependant beaucoup plus faible (Reynolds et al., 2006a ; Nozière et al., 2005 : [A20]). Ainsi, d'après notre analyse de la littérature (Lapierre et al., 2010a : [O3]) le glucose intestinal pourrait représenter de 0 à 37 % du débit d'apparition du glucose. Les AA contribuent également à la néoglucogenèse ainsi que le lactate et le glycérol. Chez le mouton, les AA contribueraient à la néoglucogenèse rénale (Bergman et Heitmann, 1978). La contribution des AA à la néoglucogenèse hépatique est encore rapportée comme faible dans une revue récente (Aschenbach et al., 2010) au regard de celle de l'acide propionique.

L'hypothèse la plus souvent avancée (Hanigan et al., 1998a) pour expliquer les augmentations de volume de lait était une augmentation de la néoglucogenèse en réponse à l'apport d'acide propionique ou d'AA. De même, l'augmentation d'apport de glucose intestinal permettrait une augmentation du débit d'apparition du glucose par un accroissement du flux de glucose absorbé apparaissant en veine porte (Reynolds et al., 1997). Cette hypothèse impliquait que les augmentations du débit d'apparition du glucose permettaient un accroissement du prélèvement mammaire de glucose et de la synthèse de lactose.

3.2. Question de recherches sur le métabolisme du glucose des vaches laitières

J'ai cherché à comprendre dans quelle mesure le glucose intestinal et les nutriments glucoformateurs pouvaient augmenter le débit d'apparition du glucose et favoriser l'utilisation du glucose par la mamelle. Avant de démarrer ces travaux, cette hypothèse n'était pas étayée dans la littérature. En effet, peu d'études avaient décrits in vivo les variations du débit d'apparition du glucose à des apports de glucose ou de nutriments précurseurs de la néoglucogenèse sur les vaches laitières. C'était principalement la régulation in vitro des voies biochimiques par les nutriments qui avaient été étudiée (Armentano, 2005). Les flux nets portes et hépatiques (Seal et Reynolds, 1993) des nutriments précurseurs et du glucose avaient été mesurés dans quelques situations alimentaires modifiant l'apport de plusieurs nutriments. Ces études ne permettaient donc pas de connaître sur les vaches laitières le rendement de transformation en glucose d'une unité d'énergie apportée, par voie digestive, sous forme d'acide propionique ou d'AA glucoformateurs, ni le débit d'apparition permis par l'absorption intestinale de glucose.

De plus, il n'était pas acquis que l'augmentation de l'apport de glucose intestinal permettait une augmentation de l'apparition de glucose en veine porte, le glucose pouvant être directement utilisé lors de l'absorption (Kreikemeier et al., 1991; Huntington, 1997). Enfin, une augmentation de l'apparition du glucose en veine porte pouvait aussi réduire la néoglucogenèse à partir d'autres substrats (Baird et al., 1980).

- Mes travaux expérimentaux et de méta-analyse ont participé à établir les lois de réponses d'augmentation du volume de lait et de la production de lactose aux apports de nutriments glucoformateurs.
- J'ai de plus cherché à quantifier le débit d'apparition du glucose en réponse aux augmentations de glucose intestinal, ou d'apports d'AA. Il s'agissait de comparer ces réponses à celles obtenues avec l'acide propionique le principal précurseur de la néoglucogenèse hépatique.
- J'ai ensuite cherché à savoir si les augmentations de disponibilités corporelles en glucose étaient corrélées à l'augmentation de la production de lait et de lactose ainsi qu'à celle de prélèvements mammaires de glucose. J'ai également évalué les modifications d'utilisation intra-mammaire de glucose entre la synthèse de lactose et les autres utilisations.

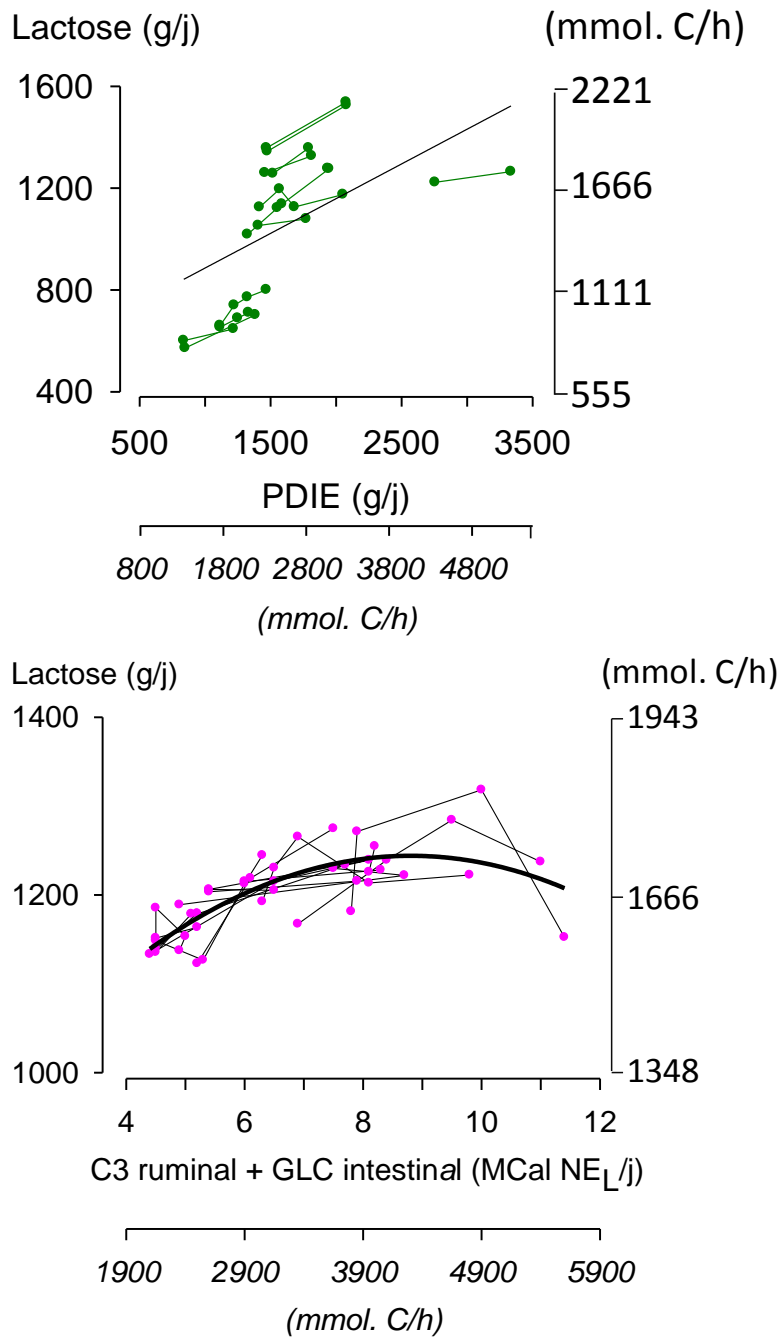


Figure 10. Augmentation de la production de lactose en réponse à l'apport de Protéines Digestibles dans l'Intestin (PDIE) ou en réponse à l'apport d'acide propionique dans le rumen (C3) ou de glucose (GLC) intestinal (méta-analyse de Lemosquet et al., 2010b [O4]).

3.3. Stratégie de recherche

J'ai exploré (Tableau 1) l'effet de la nature des nutriments glucoformateurs et des AA dans 8 essais sur le métabolisme du glucose (Rigout et al., 2002b ; Lemosquet et al., 2002a ; 2004 ; 2009a et b., Nozière et al., 2005, Galindo et al., 2011, Cantalapiedra-hijar, 2014 [A5 ; A11 ; A15 ; A16 ; A20 ; A21 ; A25 ; A27]). Dans les trois premiers essais, l'efficacité des nutriments a été comparée sur une base iso-énergétique et en termes de loi de réponse. Dans ces essais, les animaux recevaient un régime à base d'herbe conservée n'apportant quasiment pas d'amidon dans l'intestin par les concentrés. En l'absence de perfusion digestive de glucose, le débit d'apparition du glucose représentait donc principalement la néoglucogenèse (Figure 9). L'essai 3 a permis de vérifier l'effet du niveau d'énergie, les perfusions iso-énergétiques des nutriments étant données en supplément de la ration témoin. J'ai de plus réalisé deux méta-analyses rassemblant les données de la littérature. L'une portait sur l'effet des apports protéiques (PDI) sur le métabolisme du glucose (Lemosquet et al., 2008a [C12] ; Lapierre et al., 2010a [O3]) et l'autre sur l'effet d'apports protéiques et de nutriments glucoformateurs (glucose, acide propionique) sur le métabolisme mammaire (Lemosquet et al. 2010a [O4]). Ce travail a commencé dès mon post-doctorat (Lemosquet et al., 2002a : [A25]) et dans le cadre de la thèse de S. Rigout (Rigout et al., 2002c : [TH4]). J'ai ainsi développé la méthode de mesure du débit d'apparition du glucose sur vache laitière que nous avons validée avec une étudiante de M1 et J.N. Thibault (Kerlidou, 2000 [E10] ; Lemosquet et al., 2004b : [A22]). Il s'est poursuivi depuis avec des éléments analysés dans le cadre de la thèse de G. Raggio (2006 ; [TH3]) menée en cotutelle avec H. Lapierre (Agriculture et Agroalimentaire Canada) spécialiste du métabolisme hépatique. Certains de ces travaux sont toujours menés en collaboration avec H. Lapierre (Galindo et al., 2011 : [A11] ; Lapierre et al., 2013a [C1]).

3.4. Effets des nutriments sur le volume de lait et la synthèse de lactose

Nous avons retrouvé dans nos essais de métabolisme que l'apport de glucose intestinal ou d'acide propionique ruminal en substitution iso-énergétique augmentait bien le volume de lait de façon curvilinéaire (cf. méta-analyse de Rigout et al., 2003: [A24]). Cependant, j'ai progressivement constaté qu'il existait une variabilité importante de la réponse entre les essais (Figure 10 ; cf. méta-analyse de Lemosquet et al., 2010a [O4]). Ainsi, je n'ai pas retrouvé d'augmentation du volume si ces nutriments étaient apportés en supplément énergétique (Lemosquet al., 2009a,b : [A15, A16]). Les augmentations du volume de lait en réponse à l'augmentation de l'acide propionique pourraient être également moins importantes [Rigout et al., 2003 ; Lemosquet et al., 2009b : [A16, A24]) que celles

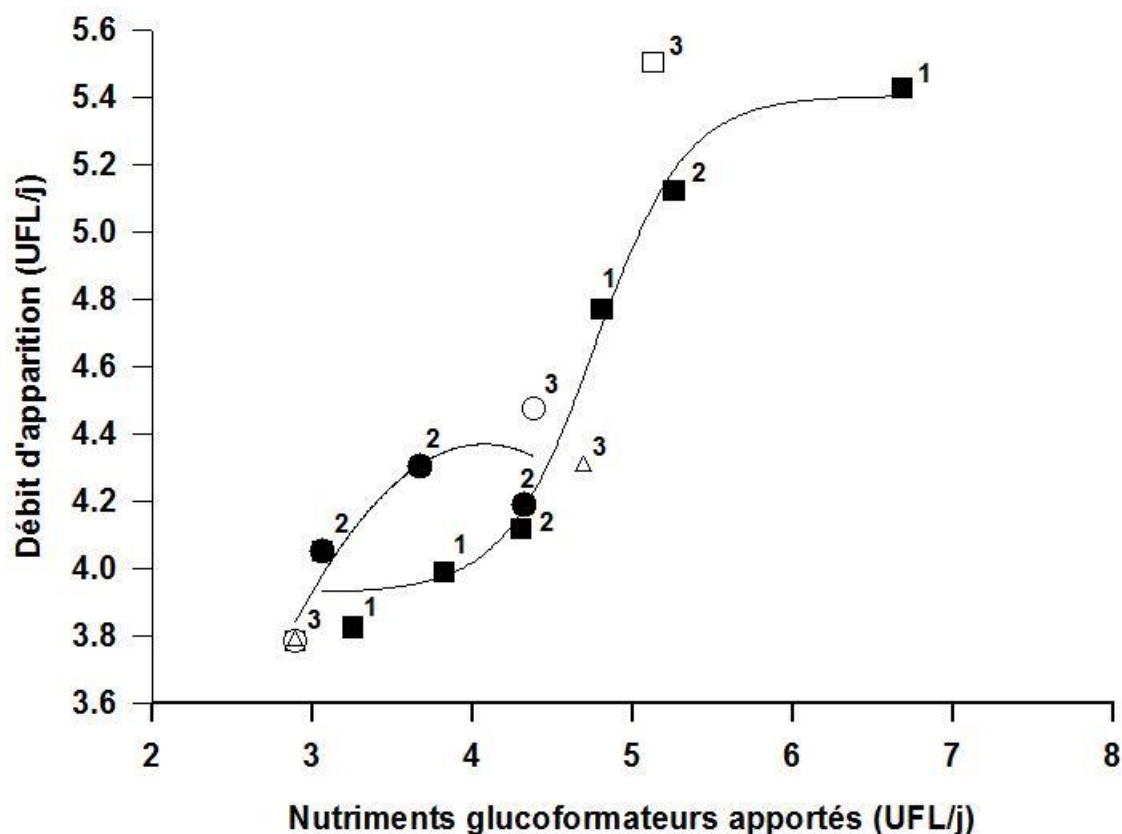


Figure 11. Lois de réponse du débit d'apparition du glucose aux nutriments glucoformateurs : glucose intestinal (■, □) acide propionique ruminal (●, ○) ou acides aminés glucoformateurs (Δ) apportés en substitution (■, ●) ou en supplément (□, ○, Δ) énergétique à la ration dans les trois essais (1,2,3 ; Rigout et al., 2002b ; Lemosquet al., 2004a et 2009a ; [A15, A21, A27]). En abscisse, est représentée la somme de l'énergie nette apportée (UFL) par les nutriments glucoformateurs par la ration et les perfusions. Pour cela le glucose issu de l'amidon digéré dans l'intestin a été estimé et additionné au glucose perfusé et l'acide propionique produit dans le rumen a été estimé et additionné à celui perfusé. En ordonnée, le débit d'apparition du glucose est également exprimé en énergie nette (1 UFL correspond à 1700 kCal [INRA, 2007] et 1 kg de glucose représente 1,64 UFL/j).

permises par un apport iso-énergétique de glucose intestinal. Par ailleurs, j'ai retrouvé que le volume de lait augmentait avec l'apport PDI qui correspond à une augmentation globale de l'apport d'AA (cf. revues de Lemosquet et al., 2008a et 2010a [C12, 04]). De plus, certains mélanges en AAI augmentent également le volume de lait (Haque et al., 2012a et 2015 [A3, A8]).

3.5. Effet des nutriments glucoformateurs sur le débit d'apparition du glucose

3.5.1. Le glucose intestinal est le nutriment le plus efficace pour accroître le débit d'apparition du glucose

Le glucose intestinal

Le glucose intestinal est le nutriment le plus efficace pour augmenter le débit d'apparition du glucose (Rigout et al., 2002b ; Lemosquet et al., 2004a, 2009a [A15, A21, A27]). Pour raisonner sur une base iso-énergétique, les apports de nutriments et les réponses du débit d'apparition du glucose ont été convertis en énergie nette (UFL avec 1 kg de glucose = 1,64 UFL, Lemosquet et al., 1997b, [A31]). L'amplitude maximale d'augmentation du débit était de 1,5 UFL (Figure 11). Cependant, la loi de réponse obtenue est de forme sigmoïde (Figure 11 ; Lemosquet et al., 2004a [A21]). Au début, la très faible augmentation du débit d'apparition du glucose pourrait résulter d'une utilisation directe du glucose par l'intestin lors de son absorption (Figure 11) comme cela a été observé chez le mouton (Piccioli Capelli et al., 1997). Dans la seconde phase, l'augmentation du débit d'apparition du glucose était quasiment équivalente à celle de la perfusion. Ceci pouvait s'expliquer par une saturation de l'utilisation directe du glucose par l'intestin lors de son absorption et par une absence de réduction de la néoglucogenèse. Enfin, le plateau correspondrait à une diminution de la digestibilité intestinale du glucose (Reynolds, 2006a) et à la réduction de la néoglucogenèse (Baird, 1980). Les perfusions de glucose dans le duodénum ne permettent pas de prendre en compte l'ensemble des phénomènes de digestion et d'absorption intestinale de l'amidon by pass (Reynolds et al., 2006a). Sur des taurillons, la comparaison d'un régime apportant plus d'amidon by pass (c'est à dire digéré dans l'intestin) de maïs à un régime témoin apportant autant d'amidon (35 %), s'est traduit par une augmentation de la quantité de glucose absorbée dans l'intestin (de 238 g/j à 531 g/j) sans augmentation du flux d'apparition du glucose dans la veine porte. Ceci suggérait un accroissement de l'utilisation intestinale de glucose lors de son absorption (Nozière et al., 2005; [A20]) qui pourrait correspondre à la première phase de la sigmoïde. Cependant, avec des vaches laitières présentant des absorptions intestinales d'amidon plus élevées que des taurillons, Reynolds

et al. (1997) a montré une augmentation du flux post-hépatique de glucose en réponse à l'augmentation de perfusion d'amidon intestinal, en accord avec nos résultats. Ces données sur l'apport d'amidon suggèrent une réponse sigmoïde du débit d'apparition du glucose comme nos données sur le glucose (Figure 11).

L'acide propionique ruminal

Les perfusions d'acide propionique dans le rumen n'ont conduit qu'à un accroissement modéré du débit d'apparition du glucose (Lemosquet et al., 2004a, 2009a : [A16, A21]). La contribution potentielle au glucose a été très faible (0,3 en moyenne), beaucoup plus faible que celle rapportée dans la littérature. Cette contribution potentielle correspond au ratio entre le débit d'apparition du glucose et l'apport du nutriment précurseur considéré (sur une base de carbones). En effet, la synthèse d'essai de mesures de bilan porte-hépatique montre que le flux post-hépatique de glucose représenterait 2 tiers du prélèvement net hépatique d'acide propionique (Kristensen et Harmon, 2006 ; Reynolds et al., 2006a). Cependant, dans la méta-analyse de Kristensen et Harmon (2006), cette relation a été établie sur des bovins de tailles différentes et reflète plus des niveaux d'ingestion très différents obtenus sur des bovins de tailles différentes. A niveau d'ingestion donné (Kristensen et Harmon, 2006), la contribution potentielle rapportée ($0,38 \pm 0,19$) est proche de celle mesurée dans nos essais (0,30). De plus, dans nos essais, la plus faible conversion potentielle de l'acide propionique en glucose ne provenait pas d'un problème méthodologique de mesure des flux corporels de glucose. En effet, nous avons montré que les mesures de débit d'apparition de glucose sont tout à fait cohérentes avec celles des bilans porte-hépatique (Galindo et al. 2011 : [A11]). En effet, le flux post-hépatique de glucose représentait 88% du débit d'apparition. Mes travaux ont donc contribué à démontrer qu'il n'existe pas une relation de cause à effet entre l'absorption d'acide propionique et la quantité de glucose produite à un niveau d'énergie ingérée donné chez les vaches laitières en milieu de lactation. La néoglucogenèse de vaches en milieu de lactation pourrait aussi être régulée en fonction de la demande mammaire en glucose selon une régulation de type « pull » (Lemosquet et al., 2011, [CI1]). L'une des hypothèses est que la néoglucogenèse à partir d'autres nutriments avait diminué. En effet, l'apport d'acide propionique tendait à augmenter les concentrations circulantes d'AANI comme le glutamate (Glu) et l'alanine (Ala ; Raggio et al., 2006a,b ; Lemosquet et al., 2009b ; Lemosquet et al., 2010b : [A16, A18, A19, O4]).

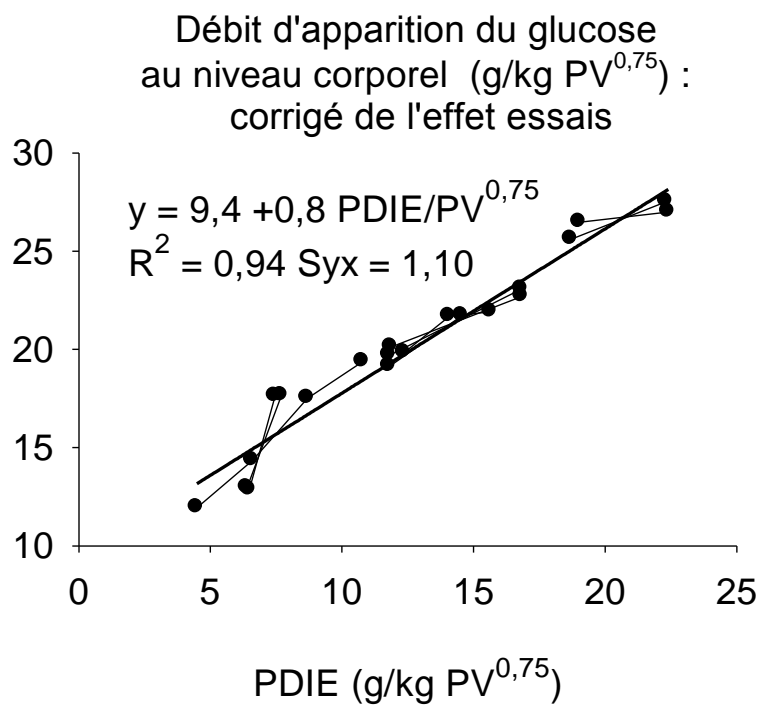


Figure 12. Loi de réponse du débit d'apparition du glucose aux apports de protéines digestibles dans l'intestin (PDIE ; Lemosquet et al., 2008a ; [C12]).

Les mélanges d'acides aminés

Le débit d'apparition du glucose a bien augmenté significativement avec les apports d'AA dans nos 3 essais (Lemosquet et al., 2009a,b ; Galindo et al., 2011 ; [A15, A16, A11]). Avant ces trois essais, aucun essai de la littérature n'avait mis en évidence une augmentation significative du débit d'apparition du glucose. L'étude par méta-analyse (Lemosquet et al., 2007 ; 2008a ; 2010b ; [C21, C12, O4]) rassemblant l'ensemble des essais a montré une augmentation linéaire du débit d'apparition du glucose avec l'augmentation de l'apport protéique (PDI) sous forme de perfusions post-ruminales de caséine (Figure 12). La contribution potentielle des AA au débit d'apparition du glucose a été différente selon la nature des AA apportés dans l'intestin : mélanges d'AANI les plus oxydables, ou caséine et mélange d'AA avec le même profil que les caséines. Le modèle biochimique de Van Milgen (2002) a été utilisé pour calculer la contribution à la néoglucogenèse maximale possible des mélanges d'AA apportés. L'augmentation du débit d'apparition avec le mélange d'AANI a représenté un tiers de l'augmentation maximale possible (Lemosquet et al., 2009a [A15]). Par contre, l'augmentation du débit d'apparition du glucose avec les apports de caséine correspond à une efficacité apparente de conversion des carbones des AA en glucose de 0,40, ce qui est très proche de l'efficacité biochimique (0,48) maximale possible de conversion de ces AA en glucose (Lemosquet et al., 2009b ; Galindo et al., 2011, [A11, A16]). Cette réponse est identique que les AA soient apportés sous forme de protéine (la caséine) ou libres (Galindo et al., 2011, [A11]). Elle dépend donc bien de la nature des AA apportés dans l'intestin. Un tel rendement potentiel biochimique de transformation des AA de la caséine en glucose pose question. Les concentrations de glucagon ont augmenté en réponse à l'apport de ces deux types de mélanges (AANI et caséines ; Lemosquet et al., 2009a,b [A15, A16]). Cependant, il semble difficile d'expliquer les différences de rendements uniquement par un effet du glucagon sur la glycogénolyse ou sur une augmentation du turnover du glycogène (Galindo et al., 2011 ; [A11]). Premièrement, l'apport combiné de caséine dans l'intestin et d'acide propionique dans le rumen a augmenté le débit d'apparition du glucose par rapport à un apport d'acide propionique dans le rumen (témoin) sans augmenter les concentrations de glucagon (Lemosquet et al., 2009b : [A16]). Cette augmentation du débit d'apparition a été identique à celle obtenue par l'apport de caséine intestinale seule qui a augmenté le glucagon par rapport à une ration témoin. Deuxièmement, l'augmentation du débit d'apparition du glucose provient principalement de l'augmentation de la production hépatique de glucose puisque ces augmentations sont parallèles (Galindo et al., 2011 ; [A11]).

3.5.2. Conclusions

Chez la vache laitière en milieu de lactation, les apports croissants par voie digestive d'acide propionique ruminal, de glucose intestinal et de mélanges AA, augmentent bien le débit d'apparition du glucose lorsque ces apports sont réalisés dans des gammes de variations correspondant aux variations maximales possibles par l'alimentation. Cependant, il faut être conscient que ces apports digestifs ne reflètent qu'imparfaitement les variations d'absorption de nutriments créées par les phénomènes de digestion ruminale des ruminants qui modifient les profils de nutriments absorbés à la fois dans le rumen et l'intestin. Par exemple, l'apport de régime riche en amidon n'a pas modifié l'apparition en veine porte d'acide propionique mais a augmenté celle d'acide butyrique qui n'est pas un précurseur du glucose au niveau hépatique (Cantalapiedra-Hijar, 2014b : [A6]).

Les rendements théoriques de transformation en glucose sont très faibles pour l'acide propionique et très élevés pour la caséine (mélanges d'AA). De plus, le mélange d'AANI, qui contenait plus d'AA potentiellement glucoformateurs, a présenté un rendement théorique de production de glucose moindre que la caséine qui apporte un mélange d'AAI et d'AANI. Ceci suggérait un changement de répartition ou une adaptation du débit d'apparition du glucose (de la néoglucogénèse) à un besoin en glucose de l'animal ou de la mamelle. On parle alors d'une régulation du métabolisme du glucose par des facteurs push (nutriments absorbés) et pull (« besoins » de la mamelle). Dans nos essais, l'utilisation mammaire de glucose pouvait représenter jusqu'à 80 % du débit d'apparition du glucose (Lemosquet et al., 2009b et 2011 [A16 ; C11]).

Pour appréhender le besoin en glucose de l'animal et de la mamelle, j'ai choisi d'explorer la répartition de l'utilisation du glucose entre la mamelle et les autres tissus ainsi que le métabolisme intra-mammaire du glucose.

3.6. Relations entre débit d'apparition du glucose, production de lactose et volume de lait : répartition du glucose entre la synthèse de lactose et les autres utilisations

J'ai donc cherché à explorer les relations entre le débit d'apparition du glucose et la production de lactose ou celles entre le débit d'apparition du glucose et les prélèvements nets mammaires de glucose chez la vache laitière en milieu de lactation. La question de recherche était de savoir si les augmentations du prélèvement mammaire de glucose et de production de lactose dans le lait étaient proportionnelles aux augmentations du débit d'apparition du glucose ou si selon les conditions

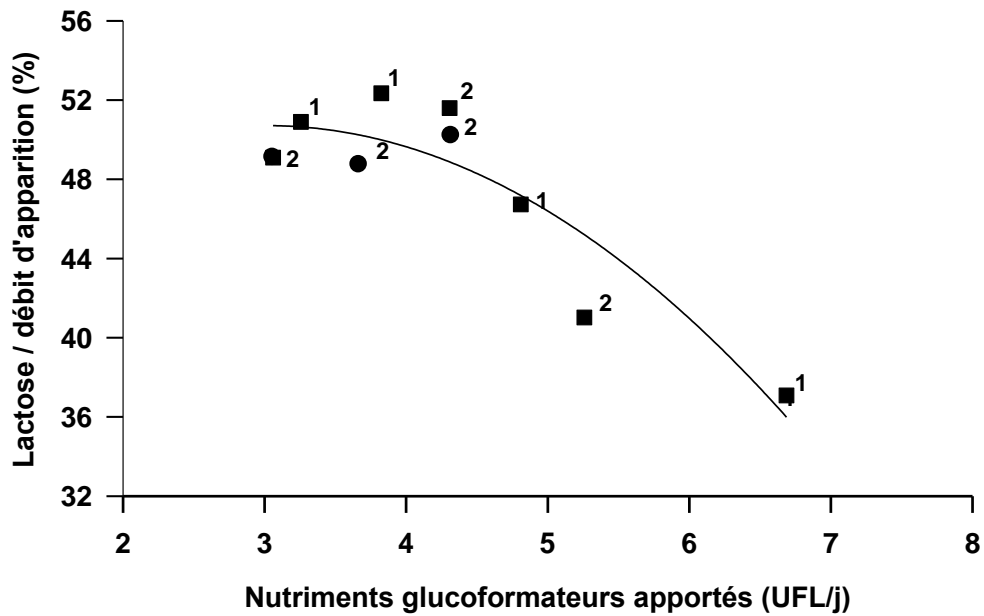


Figure 13. Modification du ratio (%) entre le lactose produit (g) et le débit d'apparition du glucose (g) en fonction des perfusions de glucose intestinal (■) et d'acide propionique ruminal (●). Les rations plus les perfusions apportent les mêmes quantités d'énergie nette (Rigout et al., 2002b ; Lemosquet al., 2004a; [A21, A27]).

d'alimentation, il y avait un changement de répartition de l'utilisation du glucose entre la mamelle et les autres tissus.

Nos essais et nos travaux de méta-analyses ont d'abord permis de montrer que les proportions de glucose prélevées par la glande mammaire et celles potentiellement utilisées pour la synthèse de lactose étaient variables. Sur une base de carbone, l'utilisation mammaire de glucose représentait de 33% à 114 % du débit d'apparition du glucose selon le stade de lactation de vaches et de chèvres (Lemosquet et al., 2011 : C11). En moyenne dans les 4 essais de mesures du débit d'apparition du glucose réalisés à Saint-Gilles sur des vaches en milieu de lactation, la production de lactose a représenté $50 \% \pm 7 \%$ du débit d'apparition du glucose mais cette proportion a varié de 34 % à 59 % (Rigout et al., 2002b : [A27]; Lemosquet et al., 2004a : [A21] ; Lemosquet et al., 2009a et b [A15, A16]). Sur la base de données d'essais de bilan mammaire (Lemosquet et al., 2010b : [O4]), qui contient essentiellement des essais avec des vaches en milieu de lactation, le ratio entre production de lactose et prélèvement mammaire de glucose variait de 40 à 91%. Ces variations inter-essais et inter-traitements des proportions de glucose corporel utilisé par la mamelle et de glucose utilisable pour le lactose ne peuvent pas seulement s'expliquer par des problèmes méthodologiques de mesure du prélèvement mammaire de glucose. Elles reflètent une adaptation de la répartition de l'utilisation du glucose entre la synthèse de lactose et d'autres utilisations (extra ou intra-mammaire). Dès les premiers essais menés, nous avons observé que le taux de conversion potentiel du glucose corporel (débit d'apparition) en lactose diminuait en réponse à l'apport de glucose intestinal et d'acide propionique ruminal (Figure 13). Ceci suggérait donc un changement de répartition de l'utilisation du glucose soit entre la mamelle et les autres tissus, soit en intra-mammaire.

Deux essais ont particulièrement bien démontré qu'il n'y avait pas nécessairement de relation de cause à effet entre l'augmentation du débit d'apparition du glucose et la production de lactose. Le premier essai comparait sur une base iso-énergétique d'énergie digestible, l'apport d'acide propionique ruminal et de glucose intestinal à un mélange d'AANI (Lemosquet et al., 2009a : [A15]). Chacun des traitements a significativement augmenté le débit d'apparition du glucose par rapport au traitement témoin mais aucun des traitements n'a augmenté ni la production de lactose, ni le volume de lait. L'apport du mélange d'AANI qui doublait l'apport PDI (traitement supra-physiologique) a même diminué significativement la production de lactose et le volume de lait de 2,5 kg/j (Figure 14). L'essai croisant deux niveaux d'apports d'acide propionique avec deux niveaux d'apports protéiques (PDI) sous forme de caséines perfusées dans le duodénum (Raggio et al., 2006a,

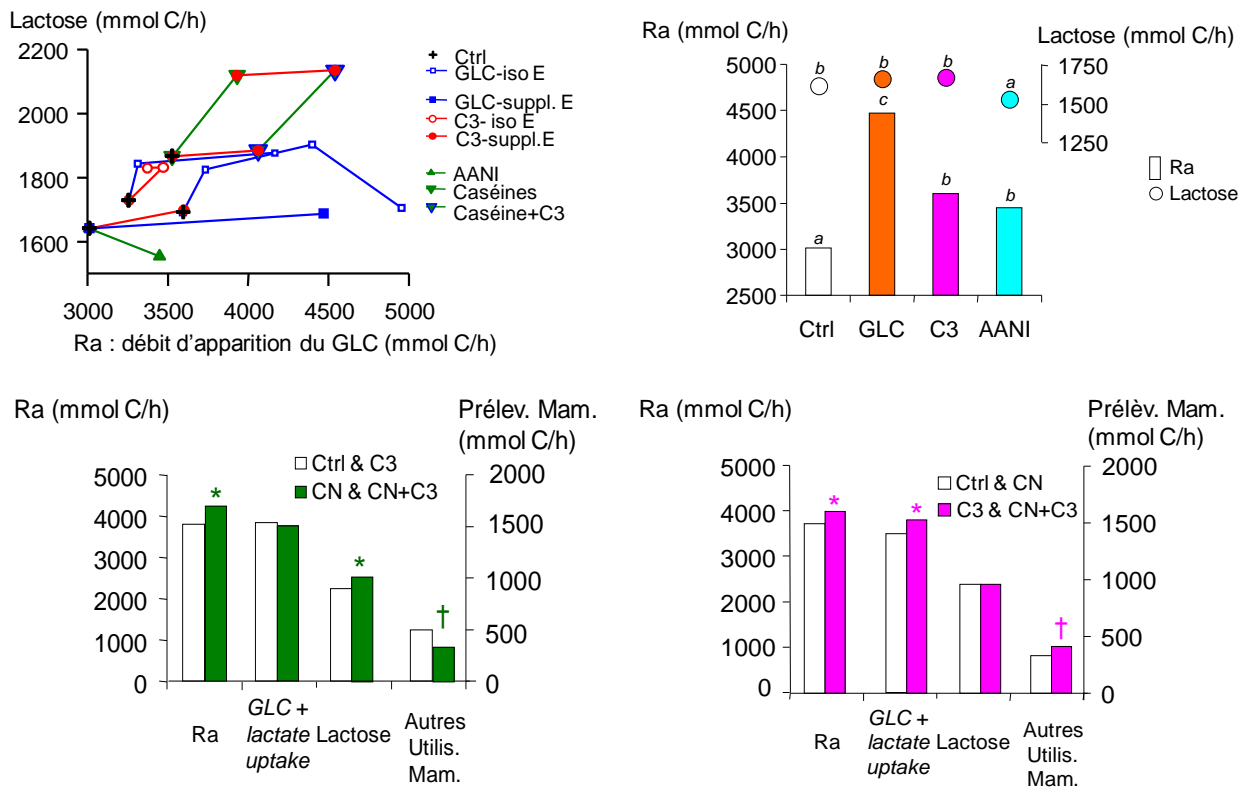


Figure 14. Absence de relation entre le débit d'apparition du glucose (Ra) et la production mammaire de lactose : prélèvement et utilisation du glucose (GLC). Réponses à l'apport de GLC dans l'intestin, d'acide propionique dans le rumen (C3), d'acides aminés non indispensables (AANI) et de protéines sous forme de caséine (CN) dans l'intestin : comparaison avec un traitement témoin appelé contrôle (Ctrl ; Rigout et al., 2002b ; Lemosquet al., 2004a et 2009a, b ; [A15, A16, A21, A27]).

b ; Lemosquet et al., 2009b [A16, A18, A19]) a également montré qu'une augmentation du débit d'apparition du glucose en réponse à l'acide propionique n'entraînait pas d'augmentation du prélèvement mammaire de glucose et de la synthèse de lactose (Figure 14). Par contre, la quantité de lactate prélevé par la glande mammaire avait bien augmenté. De plus, l'apport de caséine augmentait la synthèse de lactose et le volume de lait sans accroissement significatif du prélèvement mammaire de glucose. Cet essai suggérait donc un changement de répartition intra-mammaire du glucose pour expliquer les variations de production de lactose (Figure 14). Dans deux autres essais (apport de glucose intestinal : Rigout et al., 2002b ou apport de caséines : Galindo et al., 2011 : [A11, A27]), l'augmentation du prélèvement mammaire de glucose a été proportionnel à l'augmentation du débit d'apparition du glucose.

Nous avons alors cherché à comparer nos résultats à ceux de la littérature au travers de nos deux méta-analyses (Lemosquet et al., 2008a et 2010a [C12, 04]). Les flux de glucose post-hépatiques (ou les débits d'apparition du glucose) et les prélèvements mammaires de glucose avaient rarement été quantifiés dans un même essai sur ruminants laitiers (Clark et al., 1977 ; Ranawana and Kellaway, 1977) avant nos travaux (Lemosquet al., 2009b,[A16] ; Galindo et al., 2011 [A11]). Quel que soit le type de nutriment étudié, la méta-analyse montre bien une augmentation du volume de lait et de la production de lactose en réponse à l'apport de ces nutriments, augmentation beaucoup plus forte avec l'apport protéique (Figure 10) qu'avec la gamme de variations possibles permise lorsque l'on modifie la nature de l'apport d'acide propionique ruminal ou de glucose intestinal (Figure 10). Dans ces 2 bases de données, le prélèvement mammaire de glucose n'a pas augmenté significativement que ce soit en réponse à l'apport protéique ou en réponse au changement d'apports d'énergie. Ceci semble confirmer donc nos résultats. Cependant, le manque de précision et de justesse des mesures de prélèvements mammaires, en particulier de débit sanguin, pourrait expliquer une part de cette absence de réponse observée dans les bases de données (Figure 15). En effet, la différence artérioveineuse du glucose a très clairement augmenté avec l'apport de glucose dans l'intestin, et la réponse du débit sanguin était très variable selon les essais (Figure 15).

3.7. Conclusions

Nos travaux sur le débit d'apparition du glucose montrent que la conversion apparente de chacun des nutriments étudiés en glucose ne serait pas constante. De plus, ni le prélèvement mammaire de glucose, ni la synthèse de lactose ne dépendent exclusivement de l'augmentation du débit d'apparition du glucose. Chez la vache laitière en milieu de lactation, la disponibilité corporelle en

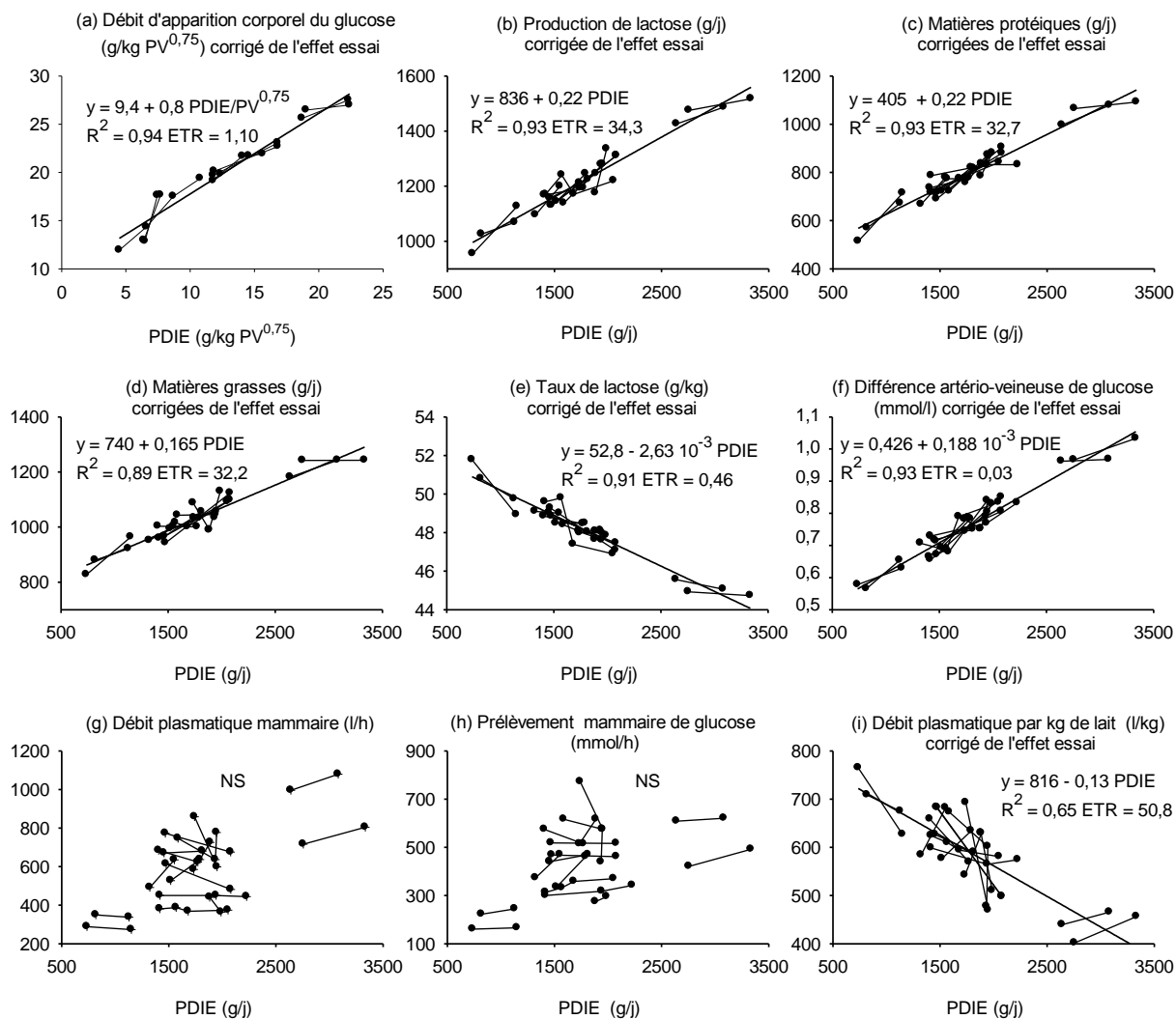


Figure 15. Effet de l'accroissement d'apport en Protéines Digestibles dans l'Intestin (PDIE) sur le débit d'apparition corporel du glucose, sur les productions de matières ainsi que sur les composantes du prélèvement mammaire de glucose ((a) : 6 essais et 21 données ; (b) à (i) : 11 essais et 36 données (Lemosquet al., 2012 : [C12])).

glucose ne semble pas être le moteur principal de l'augmentation de la synthèse de lactose et du volume de lait. De plus, les vaches en milieu de lactation semblent limiter l'augmentation de la production hépatique de glucose en réponse à l'augmentation de l'apport d'acide propionique (Lemosquet et al., 2004a, 2009a : [A15, A21]). A l'inverse, l'apport d'AANI augmente fortement le débit d'apparition du glucose mais pas la production de lactose et le volume de lait probablement parce que le prélèvement mammaire de glucose n'était pas le facteur limitant. Cette efficacité variable d'utilisation des précurseurs de glucose peut s'expliquer si la production hépatique de glucose et l'utilisation du glucose sont à la fois régulées par un effet push lié à la disponibilité en nutriments glucoformateurs et par un effet pull (Drackley et al., 2006) lié à la demande en glucose pour exprimer le potentiel de production de lait (lactose) de l'animal (Lemosquet et al., 2011 [CI1]). L'analyse de la littérature (Aschenbach et al., 2010) montre une stimulation de type pull de la production hépatique de glucose à partir de l'acide propionique chez des vaches en début de lactation. Une efficacité accrue d'utilisation des précurseurs vers la néoglucogénèse est ainsi rapportée chez les vaches en début de lactation lorsque la demande en glucose pour la synthèse de lactose augmente plus que l'ingestion (Aschenbach et al., 2010). Cette régulation de type pull varie beaucoup en fonction du stade de lactation (Aschenbach et al., 2010); elle est donc liée à l'homéorhèse, la sensibilité des tissus à l'insuline pour l'utilisation du glucose étant diminuée en début de lactation (Debras et al., 1989).

Par ailleurs, le prélèvement et l'utilisation intramammaire de glucose pouvaient être régulés par la demande en énergie pour la synthèse de protéines du lait. Cette hypothèse pouvait permettre de mettre en cohérence l'ensemble de nos résultats qui ne montraient pas de relations de cause à effet entre le prélèvement mammaire de glucose et la production de lactose. En effet, ces résultats sur le métabolisme du glucose doivent aussi être interprétés au regard des effets positifs des nutriments glucoformateurs sur la synthèse de protéines du lait et des besoins en énergie de cette synthèse.

4. Effets des nutriments glucoformateurs sur la production de protéines du lait et les voies de catabolisme ou de production d'ATP

L'ensemble de tous nos résultats, ainsi que ceux de la base de données (Lemosquet et al., 2010b : [O4]) suggéraient que la glande mammaire n'exprimait pas complètement son potentiel de

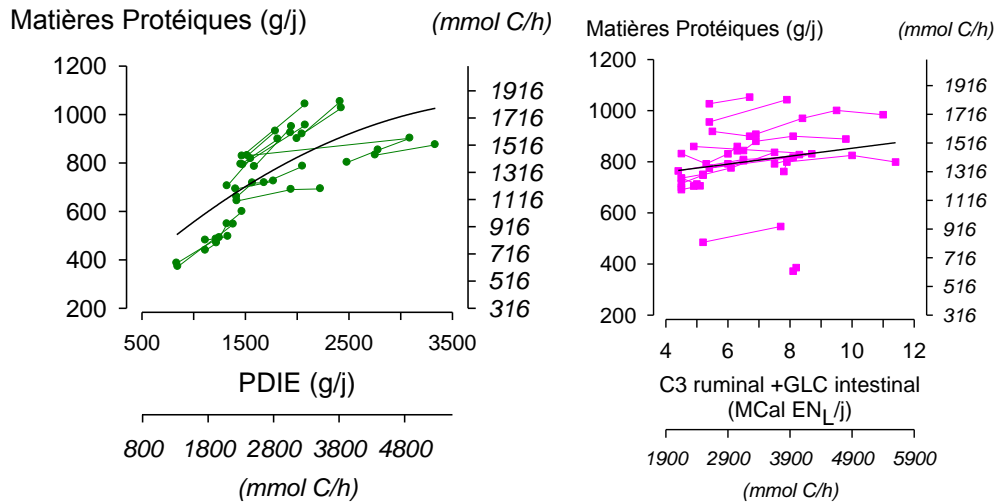


Figure 16. Augmentations des matières protéiques du lait en réponse à l'apport de protéines digestibles dans l'intestin (PDIE) ou à des apports d'acide propionique dans le rumen (C3) ou de glucose (GLC) intestinal exprimés en MCal d'énergie nette (EN ; méta-analyse de Lemosquet et al., 2010b : [O4]).

production de protéines dans le lait puisque les matières protéiques du lait augmentaient toujours en réponse à l'apport de nutriments glucoformateurs (Figure 16).

Souhaitant comprendre comment des nutriments énergétiques (glucose, acide propionique) augmentaient la production de protéines du lait, je me suis intéressée à la régulation par les nutriments de la production de protéines du lait. La synthèse protéique étant un processus coûteux en énergie, l'hypothèse était que l'apport d'énergie pouvait favoriser cette synthèse. S'intéresser à la régulation de la production de protéines du lait et à la nutrition azotée impliquait de travailler sur les enjeux d'efficacité azotée, enjeux actuellement importants pour les problèmes environnementaux liés aux excès d'azote. Ceci a conduit à réorienter et à élargir progressivement mon sujet de recherche à partir de 2003 pour m'intéresser également au métabolisme des AA lors du démarrage de la thèse de G. Raggio (2003-2006 : [TH3]) conduite en cotutelle avec H. Lapiere (Agriculture et Agroalimentaire Canada). J'ai ainsi poursuivi cette évolution par la participation (Thèse de M.N. Haque, 2012d ; [TH2]) au projet Européen REDNEX ([AO2] Reduction of Nitrogen Excretion : FP7-KBBE-2007-1" ; responsable : A.M. Van Vuuren) dont l'enjeu était à la réduction des rejets azotés des vaches laitières (Van Vuuren et al., 2014a : [O1]). J'ai étudié l'impact sur l'efficacité azotée de la correction du profil en AA dans les « work packages » 3 (responsable : C.K. Reynolds) et 7 (responsable : J.L. Peyraud) du projet. Suite à ce projet, j'ai pris en charge les recommandations en AA chez les vaches laitières en remplacement d'H. Rulquin dans le cadre du projet « Systali » de rénovation des Systèmes d'Alimentations des Ruminants (responsables : P. Nozière, J.L. Peyraud et D. Sauvant).

4.1. Rappel du métabolisme des acides aminés chez les vaches laitières et effets des facteurs nutritionnels

4.1.1. Le métabolisme de l'azote et des acides aminés chez la vache laitière

Le métabolisme de l'azote

Le métabolisme de l'azote des ruminants présente des particularités par rapport au métabolisme des monogastriques principalement du fait de la digestion microbienne ruminale. Les protéines alimentaires consommées par les vaches laitières sont dégradées en AA, en peptides et en ammoniac dans deux parties différentes du tube digestif des ruminants (le rumen et le gros intestin ; INRA,

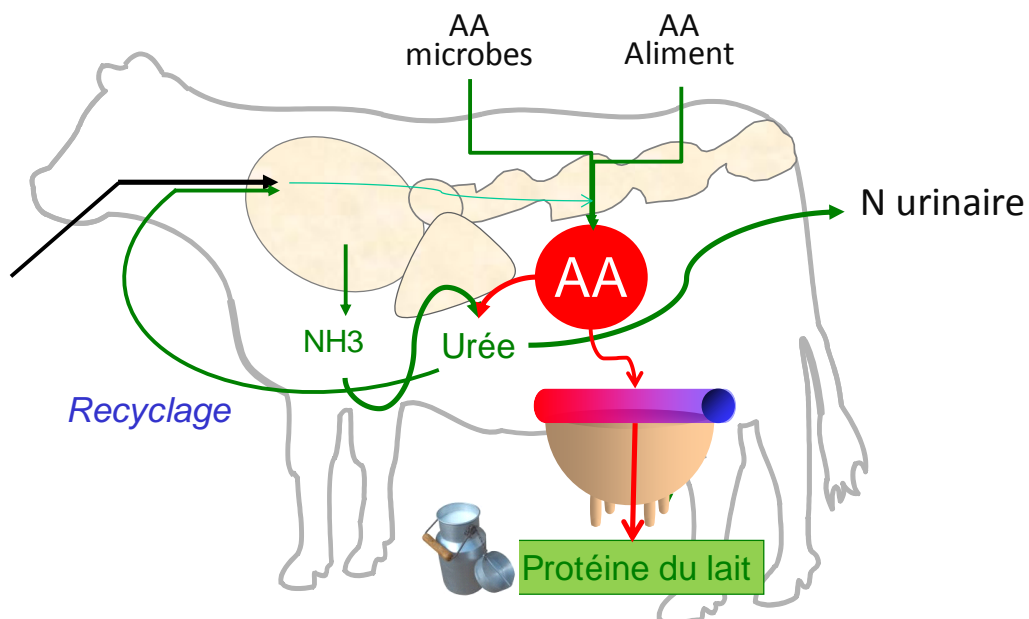


Figure 17. Le métabolisme de l'azote chez la vache laitière. NH₃ : Ammoniac.

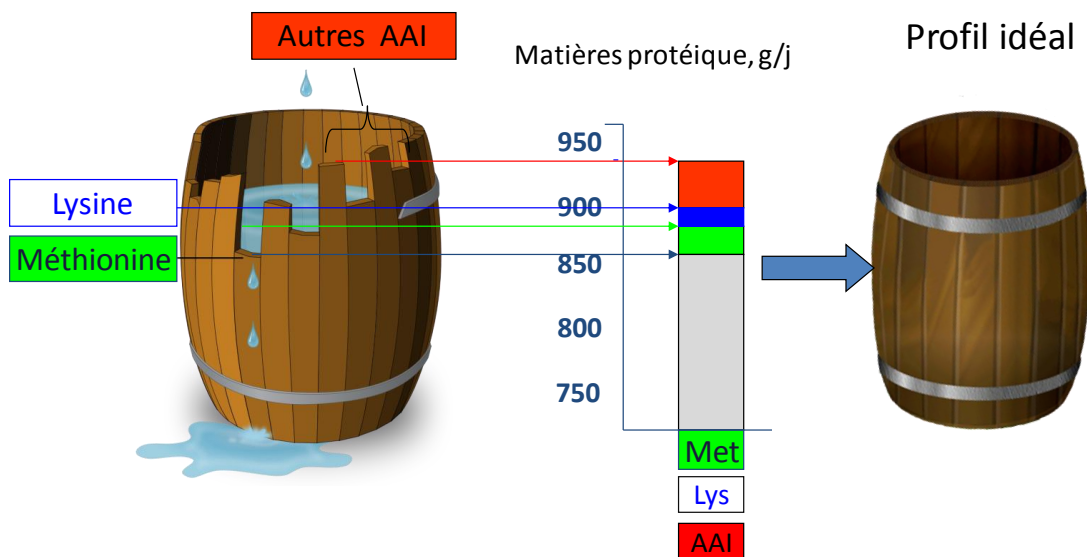


Figure 18. L'image du tonneau de Liebig (1828) pour représenter le concept du premier AA limitant (Mitchell et Block, 1946). AAI : Acides Aminés Indispensables.

1978). L'ammoniac et les AA libres sont utilisés par les micro-organismes du rumen pour synthétiser leurs protéines. L'excès d'ammoniac par rapport aux besoins des micro-organismes est en majeure partie absorbé dans le rumen, le feuillet et la caillette et est métabolisé en urée dans le foie. Une fraction résiduelle de l'ammoniac entre cependant dans l'intestin (INRA, 1978). L'efficacité de synthèse des protéines microbiennes dépend à la fois de l'énergie et de l'azote fermentescible disponibles dans le rumen. Chez les vaches laitières, les AA absorbés dans l'intestin proviennent donc soit des protéines microbiennes (appelées PDIM dans le système INRA, 2007), soit des protéines alimentaires non dégradées dans le rumen (appelées PDIA dans le système INRA, 2007) qui représentent en moyenne 50 % des apports intestinaux (de 30 % à 70 % dans la méta-analyse sur des bovins de Panzuti, 2015 : [E1]). La composition des AA absorbés dans l'intestin est donc différente de la composition des AA des aliments. Les AA absorbés sont utilisés pour différentes fonctions comme chez les monogastriques, en particulier la production de protéines du lait dans la glande mammaire (Cant et al., 2003 ; Mepham, 1982), la croissance chez les vaches laitières primipares, la croissance du conceptus (en fin de gestation), la production de phanères et les fonctions non productives que sont les pertes de protéines endogènes fécales, et la production d'azote urinaire endogène provenant du renouvellement protéique (Sauvant et al., 2016) ; l'excès d'AA est catabolisé en urée. Cependant chez les vaches laitières, l'azote urinaire uréique produit a deux origines : la production d'ammoniac dans le rumen et le catabolisme des AA. De plus, une partie de l'urée peut être recyclée dans le rumen (Figure 17). Enfin une partie de l'azote urinaire est non uréique et vient principalement des bases puriques issues de la synthèse protéique microbienne (Chen et al., 1990).

Le métabolisme des AA absorbés

Chez une vache laitière adulte (qui a fini sa croissance) en milieu de lactation, on peut considérer qu'il n'y a pas ou peu d'accrétion de protéique corporelle (sur une base nette) bien qu'il y ait un renouvellement protéique important. Sur une base nette, les AA absorbés sont principalement utilisés pour la synthèse protéique mammaire. Cette synthèse doit dépendre comme pour les monogastriques des apports d'AA Digestible dans l'Intestin (AADI) les plus limitants permis par les rations (Rulquin et al., 2001a, b). Ce concept du premier AA limitant (Henry et al., 1993) proposé par Mitchell et Block (1946) pour les monogastriques, est souvent représenté par l'image du tonneau de Von Liebig (1863 ; Figure 18). En effet, la plupart des protéines du lait (97,5 % ; Cant et al., 1993) sont synthétisées dans la glande mammaire à partir du prélèvement des AA. Elles sont composées principalement de caséines, qui représentent environ 80 % des protéines du lait (4 caséines α_{s1} , β , α_{s2} and κ), et de protéines solubles (α -lactalbumine and β -lactoglobuline, Martin et al., 2002). Il faut

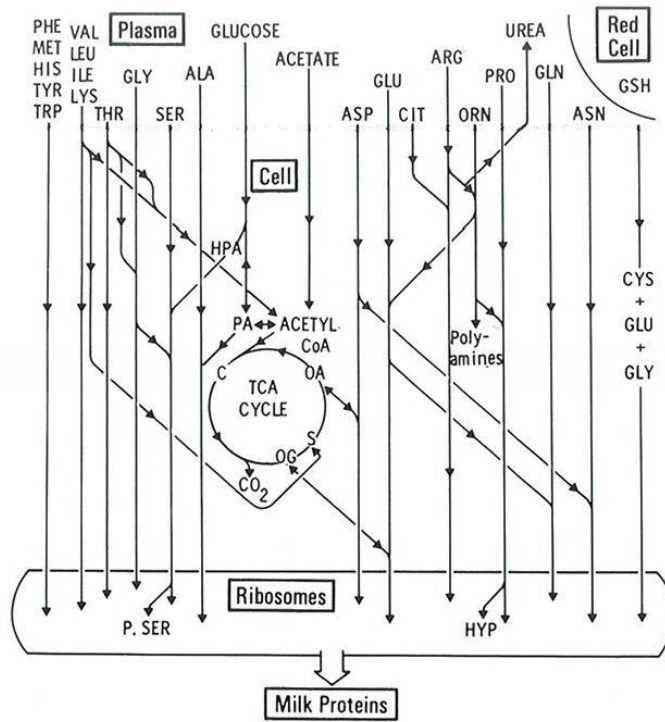


Figure 19. Le métabolisme intra-mammaire des acides aminés (source : Annison, 1983 reprise de Mephram, 1982).

savoir que la composition en AA des différentes protéines est déterminée génétiquement et que l'alimentation fait peu varier l'équilibre entre ces protéines du lait (Coulon et al., 1998). Par ailleurs, la synthèse de protéines mammaires et le renouvellement protéique corporel consomment beaucoup d'ATP puisque le coût du lien peptidique serait de 4 à 5 ATP d'après Lobley (1990), et le coût de l'hydrolyse d'un lien peptidique serait d'un ATP. Le foie est le principal organe de catabolisme des AA, en particulier des AAI chez les ruminants (Bequette et al., 2003). Cependant, le foie contribuerait peu ou pas à l'oxydation de la Leu chez les ruminants (Lobley et al., 1996 ; Lapierre et al., 2002). Cette absence de catabolisme hépatique semble se vérifier pour les AA ramifiés (Bequette et al., 2003). Les AA sont aussi oxydés dans d'autres tissus (rein, intestin, muscle, mamelle etc.) selon la présence des enzymes responsables de leur catabolisme (Lobley et Lapierre, 2003 ; Lobley et al., 2003). Ainsi, l'intestin pourrait contribuer au catabolisme de la valine [Val] et peut-être aussi de l'histidine [His] (Bequette et al., 2003). L'intestin contribue aussi au catabolisme de certains AANI (le Glu, La glutamine [Gln], et l'aspartate [Asp]), ceux-ci constituant un apport majeur d'énergie, du moins chez les monogastriques (Lobley et Lapierre, 2003). Au niveau de la glande mammaire des ruminants, c'est Mepham (1982) qui a le premier proposé une classification des AAI en deux groupes (Figure 19) selon leurs devenir intra-mammaires. Le groupe I comprendrait des AAI (l'His, la méthionine [Met], le tryptophane [Trp] ; la Phe plus la Tyr, le métabolite de la Phe) qui ne seraient pas catabolisés dans la glande mammaire mais qui sur une base nette seraient uniquement exportés dans les protéines du lait. Le groupe II comprendrait des AAI (l'isoleucine [Ile], la Leu, la Val et également la lysine [Lys]) qui peuvent être prélevés en excès par rapport à leur exportation dans les protéines du lait (Mepham et al., 1982). Leurs chaînes carbonées peuvent être utilisées pour la synthèse d'AANI et de matières grasses ou être oxydées (Annison et al., 1983 ; Roets et al., 1983). Enfin la glande mammaire peut à la fois prélever et synthétiser des AANI à partir d'autres AA prélevés (Mepham, 1982). D'après Lapierre et al. (2007 : [O6]), il y aurait une distribution de l'oxydation des AAI dans le foie inverse à celle proposée par Mepham (1982) pour la glande mammaire. En effet les AA du groupe I de Mepham (1982) seraient catabolisés dans le foie et les AA du groupe II ne le seraient pas (Lapierre et al. 2006 : [O6]). Les travaux de Mepham (1982) ont principalement porté sur la chèvre et ne portaient pas sur l'effet de l'alimentation. Lorsque nous avons commencé nos travaux avec H. Lapierre en 2003 dans le cadre de la thèse de G. Raggio (2006c, [TH3]), les modifications d'utilisation des AA du groupe I et II au niveau de la glande mammaire, n'avaient pas été analysées dans différentes situations nutritionnelles chez la vache laitière.

L'intérêt de la technique des bilans d'organe

Chez les bovins, les techniques de bilan d'organe (porte-hépatique, hépatique et mammaire) sont utilisées pour quantifier la répartition de l'utilisation des AA in vivo et expliquer les modifications de leur efficacité. Bien que le foie soit le principal organe de catabolisme des AA en urée, la technique des bilans mammaires reste cependant très intéressante pour quantifier la répartition des AA entre une utilisation mammaire et extra-mammaire tout en étant moins invasive que le bilan porte-hépatique. En effet, plusieurs paramètres peuvent être utilisés d'une part pour caractériser l'efficacité d'utilisation de chaque AA vers la production de protéines du lait, et d'autre part pour détecter les AA les plus limitants pour cette production. Si on compare l'effet de deux traitements alimentaires, à ingestion égale chez les vaches laitières multipares en milieu de lactation (adultes n'ayant plus de besoins de croissance), les différences d'efficacité PDI s'expliquent sur une base nette principalement par des différences de synthèse protéique mammaire, et de catabolisme des AA en urée. Dans ce cas, l'utilisation du bilan mammaire permet, d'apprécier la variation d'AA catabolisés en urée entre les deux traitements en calculant les différences entre l'apport d'AA dans l'intestin et le prélèvement net mammaire d'AA. La répartition de l'utilisation intra-mammaire des AA entre la production de protéines du lait et les autres voies, en particulier l'oxydation, peut également être appréhendée dans ce type d'étude en s'intéressant au ratio entre le prélèvement de chaque AA et sa quantité exportée dans les protéines du lait (Mephram, 1982). Ces ratios peuvent se raisonner sur une base d'azote pour comprendre les transaminations et la synthèse d'AANI (Raggio et al., 2006a ; [A18]) ou sur une base de carbones pour analyser l'oxydation et l'utilisation dans d'autres voies de synthèse comme la synthèse de lactose et de matières grasses (Lemosquet et al., 2009b ; [A16] ; Roets et al., 1983 ; Bequette et al., 2006). De plus, le débit sanguin mammaire et la clairance des AA sont deux paramètres qui pourraient permettre d'apprécier si l'apport en certains AAI est trop limitant. En effet, le débit sanguin mammaire a augmenté en réponse à une carence en Met (Guinard et Rulquin, 1995) et le débit et la clairance d'His ont fortement augmenté en cas d'une carence en His (Bequette et al., 2000). La clairance se calcule comme le rapport entre le prélèvement net mammaire et la concentration veineuse (considérée comme se rapprochant de la concentration intracellulaire en AA ; Hanigan et al., 1998b ; Arriola Apelo et al., 2014). Elle constituerait un paramètre intéressant pour appréhender les capacités de transport intracellulaire des AA et l'activité tissulaire (Hanigan et al., 1998b).

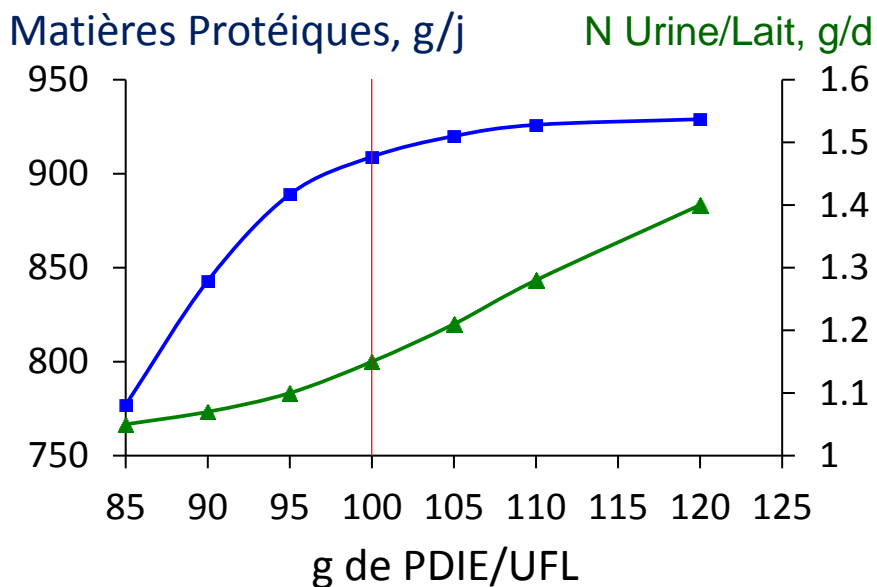


Figure 20. Augmentation curvilinéaire des matières protéiques en fonction de l'apport de Protéines Digestibles dans l'Intestin (PDIE) exprimé par unité d'énergie nette (UFL : 1 UFL 1700 Kcal ; INRA, 2007) et augmentation exponentielle du ratio entre l'azote (N) excrété dans les urines et l'azote excrété dans le lait (source : Vérité et Delaby, 2000).

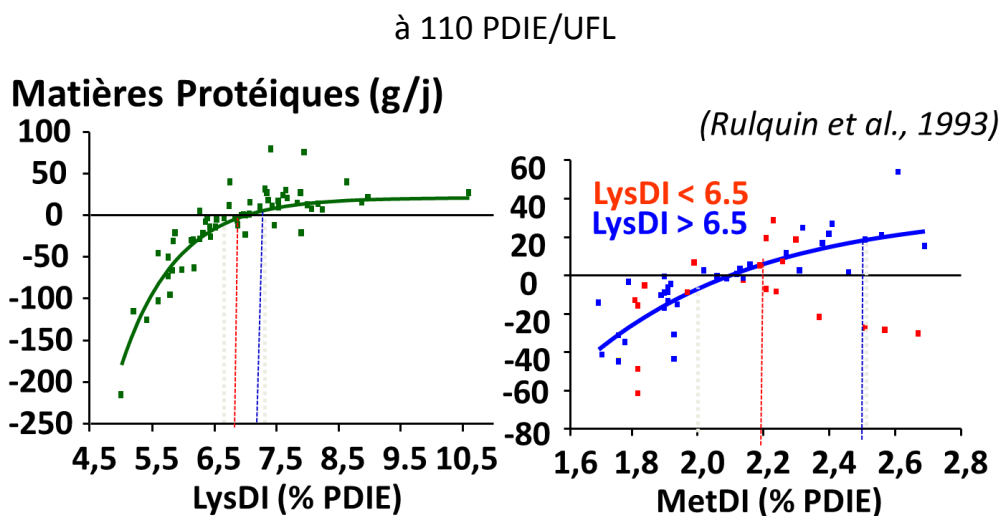


Figure 21. Loi de réponses des matières protéiques à l'apport de LysDI et MetDI établie par Rulquin et al. (1993) à partir d'une base de données où l'apport protéique (PDIE/UFL) était supérieur aux recommandations d'INRA (2007) de 100 PDIE/UFL.

4.1.2. Les facteurs alimentaires de variations de l'efficacité azotée chez les vaches laitières

Les leviers zootechniques pour moduler l'efficacité azotée

Les essais de zootechnie ont clairement démontré qu'il existe trois leviers pour améliorer l'efficacité de l'utilisation des PDI et limiter les rejets azotés urinaires chez la vache laitière en milieu de lactation. Le premier levier est lié aux particularités digestives des ruminants. Il consiste à bien équilibrer l'apport d'azote et d'énergie (matière organique fermentescible) au niveau du rumen et à favoriser ainsi la synthèse de protéines microbiennes (PDIM ; INRA, 1988 et 2007 ; Sauvart et Nozière, 2013).

Le second levier est de bien équilibrer l'apport total d'AA (de PDI) au regard de l'énergie apportée. Cependant, en deçà d'un certain seuil fixé à 100 g de PDIE (PDI permises par l'énergie disponible dans le rumen) par unité d'énergie nette (UFL), la production de protéines dans le lait et le taux protéique diminuent de façon importante (Vérité et Delaby, 2000 ; INRA, 2007). A l'opposé, au-delà de ce seuil de 100 g de PDIE/UFL (INRA, 2007), l'augmentation des matières protéiques est faible au regard de l'augmentation des pertes d'azote urinaire (Figure 20). Bien que les interactions entre apports protéiques et apports d'énergie aient été un critère zootechnique important d'optimisation des rations des vaches laitières dans le système INRA 2007, ces interactions ont été peu étudiées (Brun-Lafleur et al., 2010 ; Vérité et Delaby, 2000). De plus, les effets de la nature des nutriments énergétiques (amidon vs. fibres ; types d'amidon) sur la production de protéines du lait sont moins bien étayés dans la littérature que les effets zootechniques des niveaux d'apports PDI et d'énergie (Broderick, 2003).

Le troisième levier consiste à corriger la nature des AA apportés, c'est-à-dire le profil en AADI (% des PDIE), en particulier en Lys (LysDI) et Met (MetDI ; Rulquin et al., 1993 ; INRA, 2007) comme pour les monogastriques (Dourmad et al., 2008 ; Van Milgen et Dourmad, 2015 ; Tesseraud et al., 2014). Ce levier est basé sur le concept que la production de protéines du lait serait conditionnée par l'apport limitant d'un AA (considéré comme le premier AA limitant) dans les rations sachant que la composition en AA de protéines est déterminée génétiquement. En effet, augmenter les apports de LysDI et MetDI jusqu'à leur seuil de recommandations (7,3 % des PDIE ou 2,5 % des PDIE, respectivement) augmente les matières protéiques du lait (Figure 21) sans faire varier l'apport PDIE. Corriger l'apport en LysDI et MetDI est donc potentiellement un moyen d'augmenter l'efficacité d'utilisation des PDIE pour les matières protéiques du lait en diminuant le catabolisme des AA et les

pertes d'azote urinaire. Cependant peu d'essais de la littérature avaient abordé avant 2009 la question de la réduction de l'apport protéique par la correction du profil en AA pour répondre aux enjeux environnementaux d'efficacité d'utilisation de l'azote chez les vaches laitières (Rulquin et al., 1990 et 1994 ; Dinn et al., 1998 ; Bach et al., 2000 ; Leonardi et al., 2003 ; Socha et al., 2005). C'est cette démarche de correction du profil en AA (Gloagen, 2012) qui a permis de diminuer la MAT (Matière Azotée Totale) des rations de porcs de 23 à 15 % tout en maintenant les performances de croissance (Dourmad et al., 1993 ; Gloagen, 2002). La correction de l'apport en LysDI et MetDI n'avait été établie qu'à partir de données de rations présentant des niveaux d'apports PDIE (110 PDIE/UFL ; Rulquin et al., 1993) supérieurs aux recommandations INRA (2007) de 100 g de PDIE/UFL. A ces niveaux, le catabolisme des AA était important. Le gain d'efficacité azotée du fait de la correction du profil en LysDI et MetDI restait à démontrer lorsque l'on réduisait l'apport de PDIE/UFL chez les vaches laitières, c'est-à-dire la quantité totale d'AA potentiellement à cataboliser. Les quelques essais de correction de Lys et Met à des niveaux inférieurs à 100 g de PDIE/UFL présentaient des résultats contradictoires. De plus, très peu de données de la littérature avaient porté sur l'analyse d'autres AA que la Lys et la Met (Weekes et al., 2006 ; Broderick et al., 2009 ; Cabrita et al., 2011). Pourtant, Schwab et al. (1976) avaient clairement démontré que d'autres AAI pouvaient être secondairement limitants après la Lys et la Met ou colimitants car leur correction augmentait les matières protéiques ou le taux protéique. Il reste à l'heure actuelle encore difficile de préciser quels sont les AAI considérés comme limitants après avoir corrigé LysDI et MetDI selon l'apport d'AADI permis par les rations. Par rapport aux études menées chez les monogastriques, la difficulté expérimentale sur les ruminants réside dans le fait que pour étudier l'effet d'un nouvel AA, cela nécessite la mise en place de protocoles invasifs de perfusions post-ruminales d'AA. Si l'on souhaite respecter le concept du premier acide aminé limitant, il s'agit alors de perfuser un mélange de 10 AAI où seul l'AA à étudier doit être limitant (Rulquin et Pisulewski, 2006a). Ceci ne permet alors d'étudier l'effet de cet AA que sur des périodes courtes (1 à 2 semaines), périodes pendant lesquelles une augmentation du catabolisme protéique reste possible pour fournir un apport endogène de certains AA limitants. Rulquin en utilisant ses propres essais a toutefois présenté dans INRA (2007) des recommandations en His (HisDI : 3,0 % des PDIE ; Rulquin et Pisulewski 2000a; Rulquin et Delaby, 2006) et en Leu (LeuDI : 8,9 % des PDIE ; Rulquin et Pisulewski, 2006a). Il avait également proposé une première protéine idéale ou profil idéal (Rulquin et al., 2007a : [C22]) en complétant ses données ([C22] ; Rulquin, 1987 ; Rulquin et Pisulewski, 2000b et 2006b ; cf. revue de Rulquin et al., 2001a) par celles de Fraser (1991) pour l'arginine (Arg), l'Ile et la Val. Très peu de données étaient disponibles sur Arg (Vicini et al., 1988 ; Schwab et al., 1976 ; Doepel et Lapierre, 2011), Ile (Schwab et al., 1976 ;

Huhtanen et al., 2002 ; Korhonen et al., 2002 . Robinson et al., 1999) et Val (Schwab et al., 1976 ; Korhonen et al., 2002) hormis l'essai de Fraser (1991). Rohr (1991) et Doepel et al. (2004) ont également proposé des profils en AAI proches de celui de Rulquin et al. (2007a ; [C22]) qu'ils ont construits par méta-analyse.

Les études de métabolisme sur l'effet de ces facteurs nutritionnels

Le métabolisme mammaire et hépatique des bovins a été peu étudié (Lemosquet et al., 2010b : [O4] ; Lapiere et al., 2002 ; Reynolds et al., 2006b) en réponse à l'apport d'énergie ou de protéines (niveau ou nature) par les techniques des bilans d'organe. La méta-analyse nous a permis de montrer, qu'en 2010 (Lemosquet et al., 2010b : [O4]), le métabolisme mammaire des AA en réponse à ce type de facteurs nutritionnels n'avait été étudié que dans 20 essais de bilan mammaire sur vaches laitières. Parmi les facteurs nutritionnels (Lemosquet et al., 2010b : [O4]), l'effet du niveau d'apport protéique sur le prélèvement mammaire des AA avait été beaucoup plus étudié (10 publications) que les effets du niveau ou de la nature de l'énergie (5 publications si on exclut nos travaux). Les interactions entre apport d'énergie et apport de protéines n'avaient été étudiées que dans 3 essais. Enfin, l'effet de certains des AAI (10 AA distincts) sur le métabolisme mammaire n'avait été étudié que dans 6 essais publiés (Lemosquet et al., 2010b : [O4]). Dans l'ensemble de ces essais, la quantification du métabolisme mammaire se limitait souvent à la mesure du prélèvement mammaire des AAI. Ceci ne permettait pas d'appréhender le métabolisme intra-mammaire des nutriments, les croisements de voies métaboliques (synthèse de lactose et de matières grasses) et l'oxydation des nutriments (Annison, 1983 ; Bequette et al. 2006).

4.1.3. Bilan de l'analyse de la littérature

En résumé, parmi les trois leviers zootechniques identifiés comme pouvant moduler l'efficacité azotée, deux leviers semblaient s'expliquer par des modifications du métabolisme des AA. En effet, jouer sur l'équilibre entre apport d'énergie et de protéines (quantités d'AA) tout comme jouer sur le profil en AAI absorbé dans l'intestin devaient moduler la partition des AA entre la production de protéines du lait et le catabolisme en urée. L'analyse de la littérature sur le métabolisme des AA suggérait que l'effet positif de l'énergie sur les matières protéiques n'était pas un effet direct mais pouvait s'expliquer si l'apport d'énergie contribuait à couvrir le coût énergétique en ATP de la synthèse protéique. Cependant, il fallait vérifier cette hypothèse en analysant le métabolisme des AA. On ne savait pas en particulier si le niveau et la nature de l'énergie pouvaient réellement moduler le catabolisme des AA, ni quelle était l'ampleur possible du gain d'efficacité azotée. C'est

pourquoi il paraissait important de comprendre les interactions entre les niveaux d'apports d'AA et d'énergie. L'analyse de la littérature montrait également que le second levier pouvait être, comme pour les monogastriques, la recherche d'un profil idéal en AAI absorbé dans l'intestin qui permettrait d'augmenter la production de protéines du lait et de minimiser la synthèse d'urée à partir de ces AA. Cependant, lorsque nous avons démarré le projet européen REDNEX, on ne savait pas si la correction du profil en AAI augmentait les matières protéiques et l'efficacité azotée à bas niveau d'apport PDI comme cela était possible à haut niveau d'apport PDI par la correction de la Lys et la Met. De plus, il y avait de nombreuses incertitudes sur la composition en AAI du profil idéal au-delà de la Lys et la Met. L'effet global sur l'efficacité d'utilisation des AA d'un profil complet en AAI, comme celui proposé par Rulquin et al. (2007a ; [C22]), n'avait pas été testé, pas plus que la combinaison des 4 AAI (Lys, Met, His, Leu) recommandés dans INRA (2007). Enfin très peu de données étaient disponibles sur l'Ile, la Val et l'Arg.

4.2. Hypothèses, questions et stratégies de recherche sur la régulation de la synthèse protéique par la nutrition

Mon hypothèse était donc que la répartition de l'utilisation des AA entre les voies de catabolisme et la production de protéines du lait dépendait à la fois de l'apport des AA les plus limitants pour la production de protéines au niveau de la glande mammaire et de la quantité totale de nutriments pouvant être utilisés à des fins énergétiques. Comme les chaînes carbonées des AA peuvent aussi être utilisées comme nutriments énergétiques et oxydées, on pouvait donc s'attendre à observer des interactions selon la quantité totale d'AA apportée (niveau d'apport PDI). Par exemple, à bas niveau d'apport PDI, on pouvait supposer qu'une quantité plus faible d'AA serait disponible pour le catabolisme. Dans ces conditions, l'augmentation de l'apport d'énergie (niveau ou nature) ou la correction du profil en AA pourrait avoir de plus faibles effets de stimulation de la production de protéines du lait. Les questions de recherche étaient donc d'analyser :

- Quels sont les effets sur la production de matières protéiques du lait et l'efficacité azotée d'un changement de la nature de l'énergie ou du profil en AA au regard des effets de l'augmentation du niveau d'apport protéique ?
- Comment les prélèvements et le métabolisme mammaire des AA sont-ils modifiés dans ces situations nutritionnelles ?

- Quelles sont les conséquences sur la répartition de l'utilisation des AA entre la synthèse protéique mammaire et les voies cataboliques (aux niveaux mammaire et corporel) ?
- Comment est modulée l'utilisation intra-mammaire des nutriments pour fournir de l'énergie (l'ATP) pour les synthèses ?

Nous avons d'abord analysé avec S. Rigout ([TH4]), l'effet de la nature de l'énergie (moins étudié que le niveau d'apport PDI). Cependant, l'originalité de mon approche expérimentale a surtout été d'engager à partir de 2003 des recherches croisant niveaux d'apports protéiques et niveaux d'apports d'énergie (niveau et nature : glucoformateurs) dans le cadre de la thèse de G. Raggio (2006 : [TH3]), en cotutelle avec H. Lapiere. Ces travaux se sont poursuivis en collaboration avec G. Cantalapiedra-Hijar (INRA, UMR H) dans le cadre du projet européen REDNEX [AO2]. La question de l'utilisation intra-mammaire des nutriments et de leur partition entre la synthèse de lait et les voies oxydatives productrices d'ATP, a été analysée au travers d'un travail de modélisation des réseaux métaboliques réalisé en collaboration avec deux mathématiciens, A. Siegel (CNRS, UMR IRISA à l'INRIA) et J. Bourdon (Université de Nantes). Ce travail a été conduit par O. Abdou Arbi (2013 ; Thèse en informatique : [TH1]). C'est dans le cadre du projet européen REDNEX et de la thèse de M.N. Haque (2012d ; [TH2]) que l'étude du métabolisme des AA a été réellement pensée sous l'angle de l'efficacité azotée. Initialement, nous devions dans ce projet travailler exclusivement sur la construction du profil idéal en étudiant uniquement les effets de la correction du profil en Ile, Val et Arg. En prenant en charge le projet, j'ai proposé de le modifier pour mieux répondre à cette question d'efficacité. Il semblait important de savoir si on pouvait avoir une démarche comparable à celle adoptée sur le porc en croissance, c'est-à-dire si, en corrigeant le profil en AA, on pouvait diminuer l'apport PDI tout en maintenant une bonne exportation des protéines dans le lait.

Autour de cette thématique de l'efficacité azotée, j'ai fait le choix de réaliser à la fois des essais de zootechnies (Haque et al., 2012a , [A8] ; Lemosquet et al., 2014 [C11]) pour établir les réponses de modifications d'efficacités, et des essais de métabolismes corporels et mammaires (Haque et al., 2015 ; [A3]) pour en comprendre les mécanismes. Deux essais de zootechnie ont permis d'étudier les effets des apports de Lys, Met et Leu sur des périodes longues (3 à 6 semaines) et sur un nombre conséquent de vaches (16 à 32). Ces essais de zootechnie sont en cours de dépouillement et de valorisation (Lemosquet et al., 2012 ; Lemosquet et al., 2014 ; [C4 ; C11]). Ils alimenteront mon projet. Au niveau des études de métabolismes, j'ai pu combiner l'utilisation des traceurs et la technique des bilans mammaires. Ces études du métabolisme mammaire ont parfois été combinées avec l'étude du métabolisme hépatique grâce aux collaborations avec H. Lapiere et G.

Cantalapiedra-Hijar. Enfin, la méta-analyse et la modélisation en collaboration avec les mathématiciens ont enrichi les conclusions tirées des expérimentations.

4.3. Réponses des matières protéiques et de l'efficacité azotée

4.3.1. Effets de l'apport d'énergie

Nous avons commencé à établir les lois de réponses du TP et des matières protéiques à la nature des nutriments énergétiques (glucose post-ruminal et acide propionique ruminal) dans la thèse de Rigout [TH2] (Rigout et al., 2003). J'ai ensuite complété ces lois et les ai comparées à celles obtenues en réponse à des apports d'AA à partir des bases de données de métabolisme mammaire (Lemosquet et al., 2010b : [O4]). Ce travail m'a permis de démontrer que l'effet sur les matières protéiques de la nature des nutriments énergétiques est très faible au regard de celui de l'apport protéique (PDI) ou d'un AA limitant (Figure 16). Par exemple, la concentration d'acide propionique dans les AGV du rumen peut au maximum varier de 15 à 30 %, ce qui correspond à la plage de variation représentée sur l'axe des ordonnées de la Figure 16 ; or, cette variation correspond à une augmentation maximale de 40 g/j de matières protéiques (Figure 16). L'augmentation permise par la correction du profil d'un seul AA, la LysDI entre 6,6 % des PDIE et 7,3 % est identique à celle obtenue par l'apport d'énergie alors que potentiellement plusieurs AAI autres que LysDI et MetDI pourraient être limitants (Schwab et al., 1976).

4.3.2. L'apport PDI et la correction du profil en acides aminés

Si l'accroissement de l'apport PDI/UFL augmente les matières protéiques de façon conséquente selon une loi curvilinéaire (Figure 20), elle conduit à une diminution de l'efficacité azotée (Vérité et Delaby, 2000). La synthèse des résultats zootechniques (Lemosquet et al., 2014 [C11]) des 5 essais de REDNEX a d'abord permis de retrouver cet effet négatif du niveau d'apports PDI sur l'efficacité. Dans ces 5 essais, les vaches produisaient en moyenne en début d'essai entre 30 et 40 kg/j. Sur ces vaches, un accroissement de 20 % de l'apport PDIE/UFL augmentait en moyenne les matières protéiques de 8,6 % (soit de 87 g/j) et diminuait l'efficacité d'utilisation des PDIE pour la production de protéines du lait en moyenne de 16,7 % (de 0,704 à 0,586). La correction d'un profil idéal en AAI augmentait

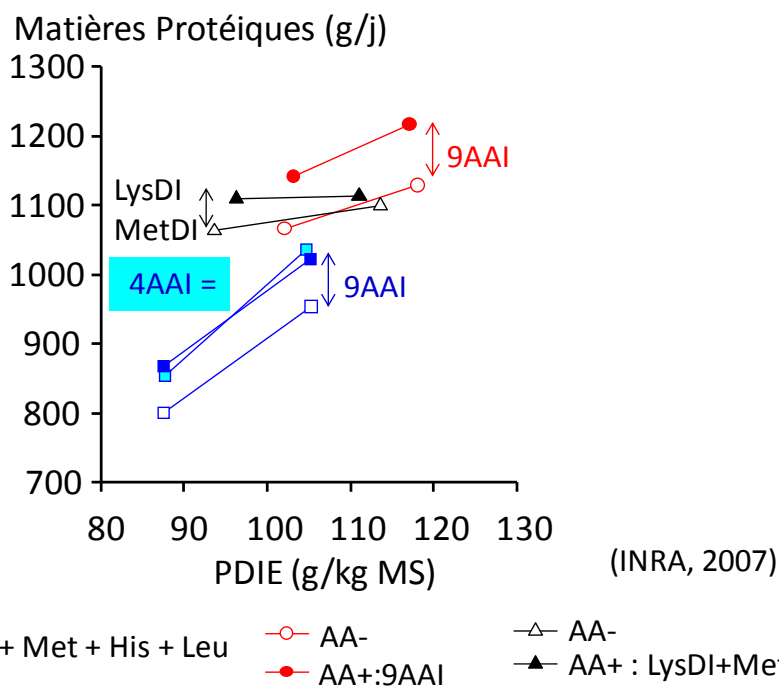
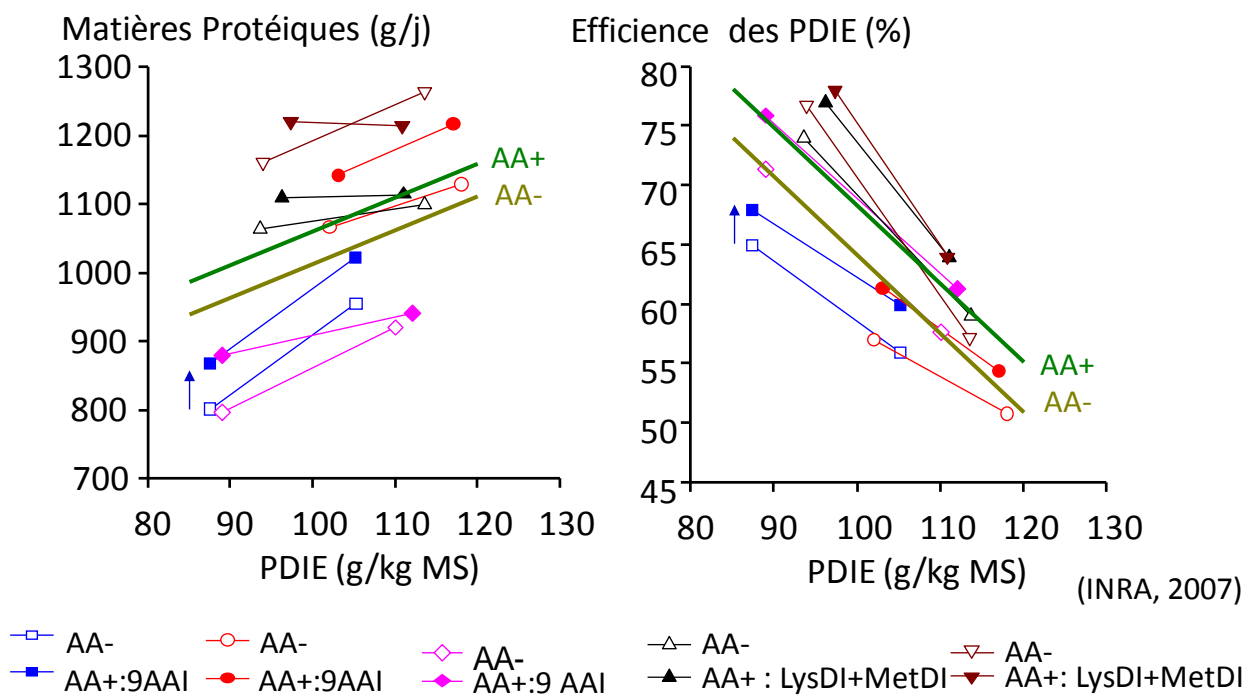


Figure 22. Augmentation des matières protéiques en réponse à la correction du profil en acides aminés indispensables (AAI) digestibles dans l'intestin quel que soit le niveau d'apport de protéines digestibles dans l'intestin (PDIE). Les profils apportés corrigeaient de 2, 4 ou 9 AAI - Gain d'efficacité PDI sans interaction. On constate que l'augmentation est plus importante si l'His et la Leu sont corrigées avec la Lys et la Met (Lemosquet et al., 2014 [C11]) : synthèse des résultats zootechniques du projet européen REDNEX.

bien les matières protéiques du lait à bas (BP) comme à haut niveau d'apport PDI (HP ; Figure 22). Cette augmentation des matières protéiques était deux fois plus faible (de 4,7 % soit 48 g/j) que celle observée par l'augmentation de 20 % de l'apport PDI/UFL (8,6 % soit 87 g/j). Cependant avec la correction du profil en AAI, l'efficacité d'utilisation des PDIE augmentait de 6,4 % (de 0,625 à 0,665). L'efficacité d'utilisation de l'azote a varié comme celle des PDIE (Lemosquet et al., 2014 [C11]). En l'absence d'interaction PDI × AA significative, ces résultats confirment l'effet positif d'une correction du profil en AA sur les synthèses de matières protéiques, le taux protéique et l'efficacité d'utilisation des PDIE, quel que soit le niveau d'apport PDIE/UFL. D'un point de vue pratique, réduire l'apport PDIE/UFL en corrigeant le profil en AADI, et dans un premier temps les teneurs en LysDI et MetDI de la ration, peut donc être un moyen d'obtenir une bonne efficacité d'utilisation des PDIE au niveau de l'animal tout en maintenant une bonne exportation des protéines dans le lait. Il semble donc important de travailler sur le profil en AA des PDI pour définir les AA les plus limitants.

4.3.3. Le profil en acides aminés indispensables

En comparant les résultats de nos différents essais (Haque et al., 2012d : [TH2] et Lemosquet et al., 2014 : [C11]), nous avons également montré que l'augmentation des matières protéiques a été deux fois plus élevée dans les essais où d'autres AAI que la Lys et la Met ont été corrigés (Figure 22). Ces essais montrent comme celui de Schwab et al. (1976) que d'autres AAI sont potentiellement limitants. De plus, dans un essai où les vaches recevaient un régime à base d'ensilage de maïs, la correction du profil pour 4 AAI (LysDI, MetDI, HisDI et LeuDI) a permis d'augmenter les matières protéiques autant que la correction complète des 10 AAI (Figure 22 ; Haque et al., 2012a : [A8]). Ceci a confirmé l'importance de préciser les recommandations en HisDI et LeuDI comme le suggérait Rulquin (INRA, 2007).

Concernant l'His, plusieurs éléments nous ont cependant suggéré que la recommandation proposée dans INRA (2007) de 3 % des PDIE était trop élevée. Ainsi, l'analyse de notre essai de métabolisme mammaire (Haque et al., 2015 : [A3]) a bien montré que le prélèvement mammaire d'His n'augmentait pas alors que l'apport intestinal augmentait suggérant un catabolisme plus important de l'His lorsqu'elle est apportée à 3 % des PDIE. La clairance mammaire a également été utilisée pour apprécier la couverture des besoins en His (Figure 23). La clairance de l'His n'a été élevée que dans le traitement Bas Protéique (BP) associé au profil déficitaire en AAI (AA-), ce qui suggère bien un apport excessif en His dans les traitements BPAA+, HPAA- et HPAA+. La méta-analyse sur l'His (Haque et al.,

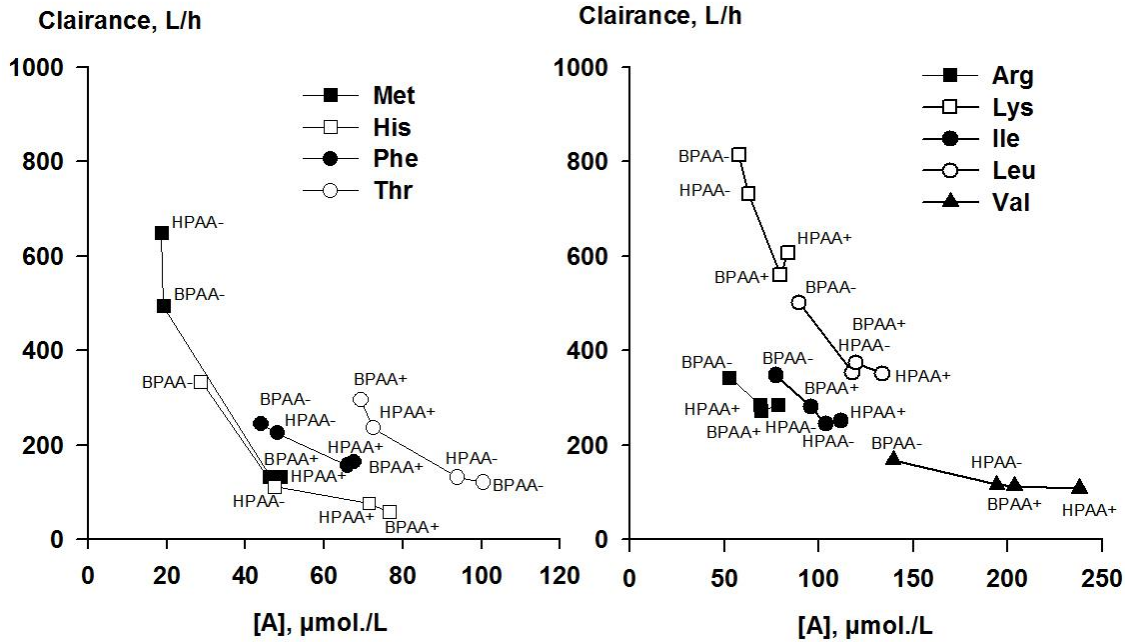


Figure 23. Relation entre la clairance mammaire des acides aminés calculée selon Hanigan et al. (1998b) et leur concentration artérielle dans l'essai de Haque et al. (2015: [A3]) : BP, HP représentent respectivement les niveaux d'apports protéiques (PDI) ; AA- correspond au profil en acides aminés déséquilibré et AA+ au profil idéal proposé par Rulquin et al. (2007a, [C22]).

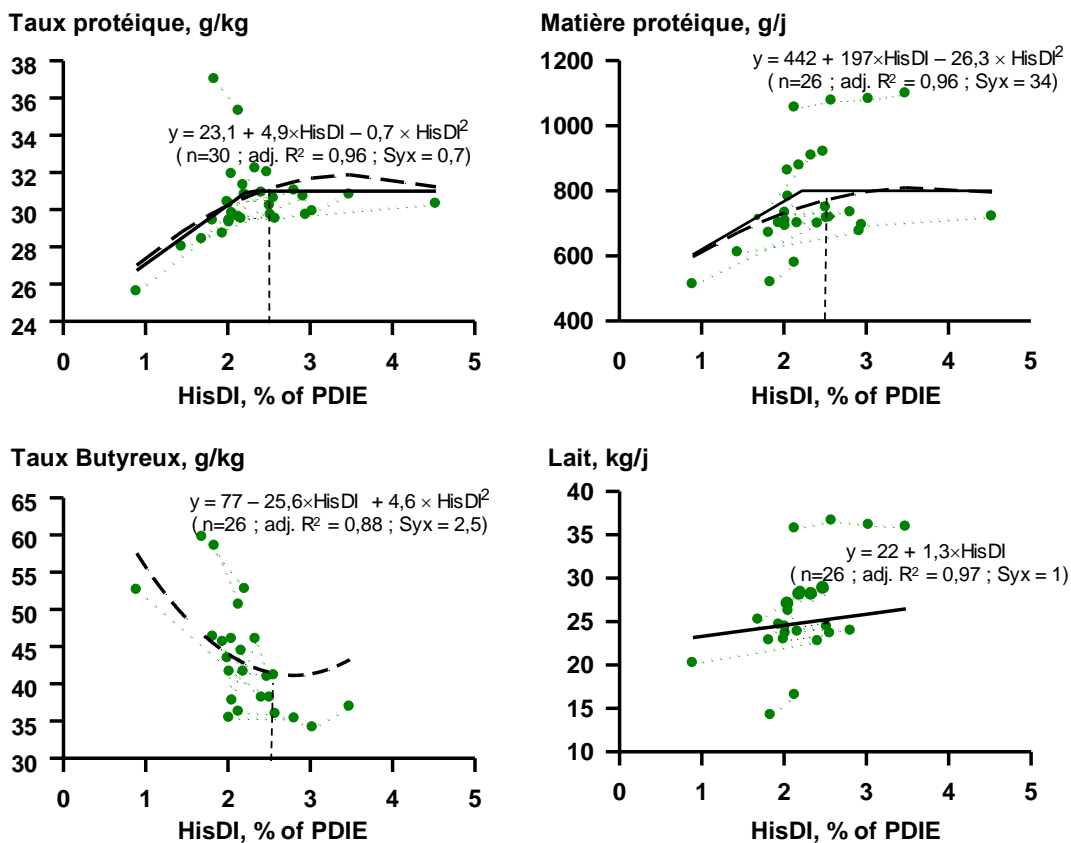


Figure 24. Lois de réponses des productions de lait aux apports d'HisDI (Méta-analyse de Haque et al. 2012c, 2013 : [A7, C29]).

2012c : [C29]) confirme également l'hypothèse qu'une recommandation en His à 3,0 % des PDIE est trop élevée (Figure 24).

Pour compléter les recommandations en AAI, nous avons également étudié l'effet d'une carence en ValDI, IleDI ou ArgDI (Haque et al., 2013 : [A7]) dans une situation où l'apport PDIE n'était pas limitant à 112 g de PDIE/UFL. Il s'est avéré que le régime était très déficitaire en LeuDI (Tableau 4). La diminution du taux protéique avec ce traitement « -Val » peut être interprétée soit comme l'effet de la carence en Val, soit comme l'effet d'un excès d'Ile au regard de la Val et la Leu. En effet, ces 3 AA sont catabolisés via les mêmes enzymes et chez les monogastriques un excès de l'un entraîne le catabolisme des 3 autres (cf. revue de Harper et al., 1984 ; Gloagen, 2012). Ceci suggère qu'il faudrait raisonner conjointement les recommandations en LeuDI, IleDI et ValDI comme chez le porc en croissance (Gloagen et al., 2011 ; Van Milgen et al., 2012). Mieux appréhender l'équilibre entre les 3 AA ramifiés (Leu, Val et Ile) pourrait également permettre des gains d'efficacité dans l'avenir. On peut, par exemple, penser au problème de l'utilisation du corn gluten meal très carencé en Lys mais très riche en Leu.

De plus, l'augmentation de la clairance en Thréonine (Thr) dans les traitements AA+ correspondant au profil corrigé en AAI (Haque et al., 2015 : [A3]) suggère un déficit en Thr (Figure 23). Enfin, dans notre essai de métabolisme mammaire (Haque et al., 2015 : [A3]), un catabolisme plus important des AAI dans les traitements AA+ (d'apport du profil idéal) serait observé par rapport aux traitements AA- puisque l'augmentation des prélèvements mammaires de ces AA était moins importante que celle de leurs apports dans l'intestin (Tableau 5).

En conclusion, l'ensemble de ces résultats zootechniques suggère que le premier profil idéal proposé par Rulquin et al. (2007) permet d'augmenter l'efficacité d'utilisation des PDI plus que la simple correction de Lys et Met, ceci à bas comme à haut niveau d'apport PDI. Cependant ce profil en 10 AAI est perfectible. Il semble important dans l'avenir de mieux définir les recommandations en His, Leu par rapport à Ile et Val ainsi qu'en Thr des vaches laitières. L'apport d'énergie a également permis d'augmenter les matières protéiques. Nous n'avons pas pour l'instant dans ce travail croisé l'impact de la nature des AA avec la disponibilité en énergie.

Tableau 4. Baisse du TP en réponse à un déséquilibre dans l'apport des trois acides aminés Val, Leu et Ile (Haque et al., 2013 ; [A7]).

	Témoin	« -Val »
ValDI (%PDIE)	5,7%	4,5%
LeuDI (%PDIE) ¹	8,4%	8,4%
IleDI (%PDIE)	5,2%	5,2%
TP (g/kg)	30,7	29,1*

¹recommandation à 8,9 % des PDIE (INRA, 2007) ; * $P = 0,05$

Tableau 5. Effet de deux niveaux d'apports protéiques (PDIE : BP et HP) croisés avec deux profils en AA (AA- et AA+) sur la répartition de l'azote des acides aminés (Haque et al., 2015 : [A3]).

Mol./j de N	Traitements ¹				ETM ²	P^3		
	BPAA-	BPAA+	HPAA-	HPAA+		PDIE	AA	PDIE×AA
Intestin, AADI								
AAI DI-N ⁴	9,70	11,61	11,50	13,52				
AANI DI-N ⁴	10,95	9,42	12,52	10,95				
AATDI-N ⁴	20,65	21,03	24,02	24,47				
Prélèvements par la mamelle entière								
AAI-N ⁴	7,17	7,90	7,93	8,68	0,193	0,11	<0,01	0,72
AANI-N ⁴	5,14	4,54	4,43	4,98	0,387	0,83	0,85	0,03
AAT-N ⁴	12,31	12,44	12,36	13,66	0,570	0,51	0,03	0,05
Groupe 1 AA-N ⁵	1,40	1,44	1,47	1,58	0,049	0,26	0,02	0,08
Groupe 2 AA-N ⁵	3,81	4,25	4,15	4,65	0,163	0,19	0,02	0,69
ratio NEAA : TAA-N	0,46	0,40	0,40	0,40	0,015	0,28	0,08	0,09
Intestin - Mammaire								
AAI-N ⁴	2,53	3,71	3,57	4,84	0,193	0,06	<0,01	0,41
AANI-N ⁴	5,81	4,88	8,10	5,97	5,648	0,09	0,01	0,06
AAT-N ⁴	8,34	8,59	11,66	10,81	0,599	0,08	0,14	0,04
Ratios Prélèvements mammaires : Intestin (P : I)								
AAI-N P : I	0,74	0,68	0,69	0,64	0,02	0,20	<0,01	0,20
AANI-N P : I	0,47	0,48	0,36	0,45	0,04	0,29	0,04	0,06
Ratios prélèvements mammaires : Lait (P : L)								
AAI-N	1,34*	1,38*	1,40*	1,34*	0,028	0,19	0,51	0,96
AANI-N	1,06	0,85	0,88	0,88	0,064	0,48	0,06	0,07
AAT-N	1,19†	1,09	1,12	1,13	0,041	0,83	0,10	0,07
Groupe 1 AA ⁵	1,00	0,95	0,99	0,99	0,028	0,64	0,46	0,51
Groupe 2 AA ⁵	1,26*	1,29*	1,29*	1,34*	0,035	0,52	0,04	0,36

¹ BP : Bas niveau d'apport Protéique, HP : Haut Niveau d'apport Protéique, AA- : profil déséquilibré en acide aminés (AA), AA+ : profil idéal en AA proposé par Rulquin et al. (2007b ; [C22]) ; ² Ecart-type de la moyenne ; ³ seuil de probabilité. ⁴ AA DI-N : azote des acides aminés digestibles dans l'intestin, AAI-N : azote des acides aminés indispensables, AANI-N : azote des acides aminés non indispensables, AAT-N : azote de la somme de tous les acides aminés. ⁵ Groupes d'acides aminés définis par Mephram (1982) : Groupe 1 (His, Met, Phe+Tyr sans Trp qui n'est pas mesuré dans les AADI), groupe 2 (Lys, Ile, Leu, Val). *, † Ratios, respectivement différents de 1 à $P < 0,05$ ou $P < 0,1$.

4.4. Prélèvements et métabolisme mammaire des acides aminés

De nos études portant sur l'effet de la nature de l'énergie (glucose ou acide propionique) ou du niveau d'énergie sur le métabolisme mammaire (Rulquin et al., 2004 ; Raggio et al., 2006a ; Lemosquet et al., 2009b et 2009c,d [A16, A18, A23, C7, C8]), il ressort que l'augmentation de la synthèse protéique mammaire est permise par une augmentation du débit sanguin mammaire. Cette augmentation pourrait être interprétée comme un mécanisme favorisant une utilisation mammaire accrue des AA changeant ainsi la répartition de l'utilisation des AA absorbés au profit de la production de protéines du lait. Cependant, il est connu depuis longtemps que l'augmentation du niveau d'énergie accroît également la fréquence cardiaque et le débit porte-hépatique (Wieghart et al., 1986). A contrario, l'augmentation de l'apport protéique n'a pas modifié le débit sanguin (Raggio et al., 2006a [A18] ; Lemosquet et al., 2010b : [O4]). De plus, la correction d'un profil complet en 9 AAI (Haque et al., 2015, [A3]) n'a pas diminué le débit sanguin alors que la correction d'un apport en Met ou His avait diminué ce débit (Guinard et Rulquin, 1995 ; Bequette et al., 2000). Notre traitement témoin semblait cependant plus limitant en Lys qu'en Met et His (Haque et al., 2015 : [A3]). Or la Lys n'appartiendrait pas au même groupe d'AA que la Met et l'His au niveau de son comportement métabolique mammaire (Mephram et al., 1982) et n'agirait peut-être pas sur la régulation du débit sanguin contrairement à His et Met (Guinard et Rulquin, 1995 ; Bequette et al., 2000).

Il y a eu une régulation au niveau mammaire autre que celle du débit sanguin. En effet, Il faut d'abord noter que dans l'ensemble de nos essais (Rulquin et al., 2004 ; Lemosquet et al., 2009b et 2009d. ; Haque et al., 2015, [A3, A16, A23, C8]) le bilan azoté des AA (AA-N) de la mamelle (AA prélevés moins protéines synthétisées) a été nul ou proche de zéro. Un bilan azoté des AA-N quasiment nul implique premièrement que le prélèvement ou la production de peptides par la mamelle de vache seraient peu importants. Ainsi nous n'avons pas mis en évidence de prélèvement de peptides, ni de production de peptides dans la veine mammaire contenant de la ¹³C-Leu (Raggio et al., 2006a : [A18]). Un bilan azoté des AA-N nul implique deuxièmement que, sur une base nette, quasiment tout l'azote des AA prélevés est exporté dans les protéines du lait. Dans ce cas, s'il y a oxydation des chaînes carbonées de certains AA, alors il y a nécessairement une transamination de leur groupement azoté vers les AANI synthétisés dans la glande. On peut alors émettre l'hypothèse d'une régulation conjointe des prélèvements de AA et de la synthèse d'AANI, en particulier des prélèvements mammaires d'AA oxydables (AAI du groupe II de Mephram (1982) et AANI).

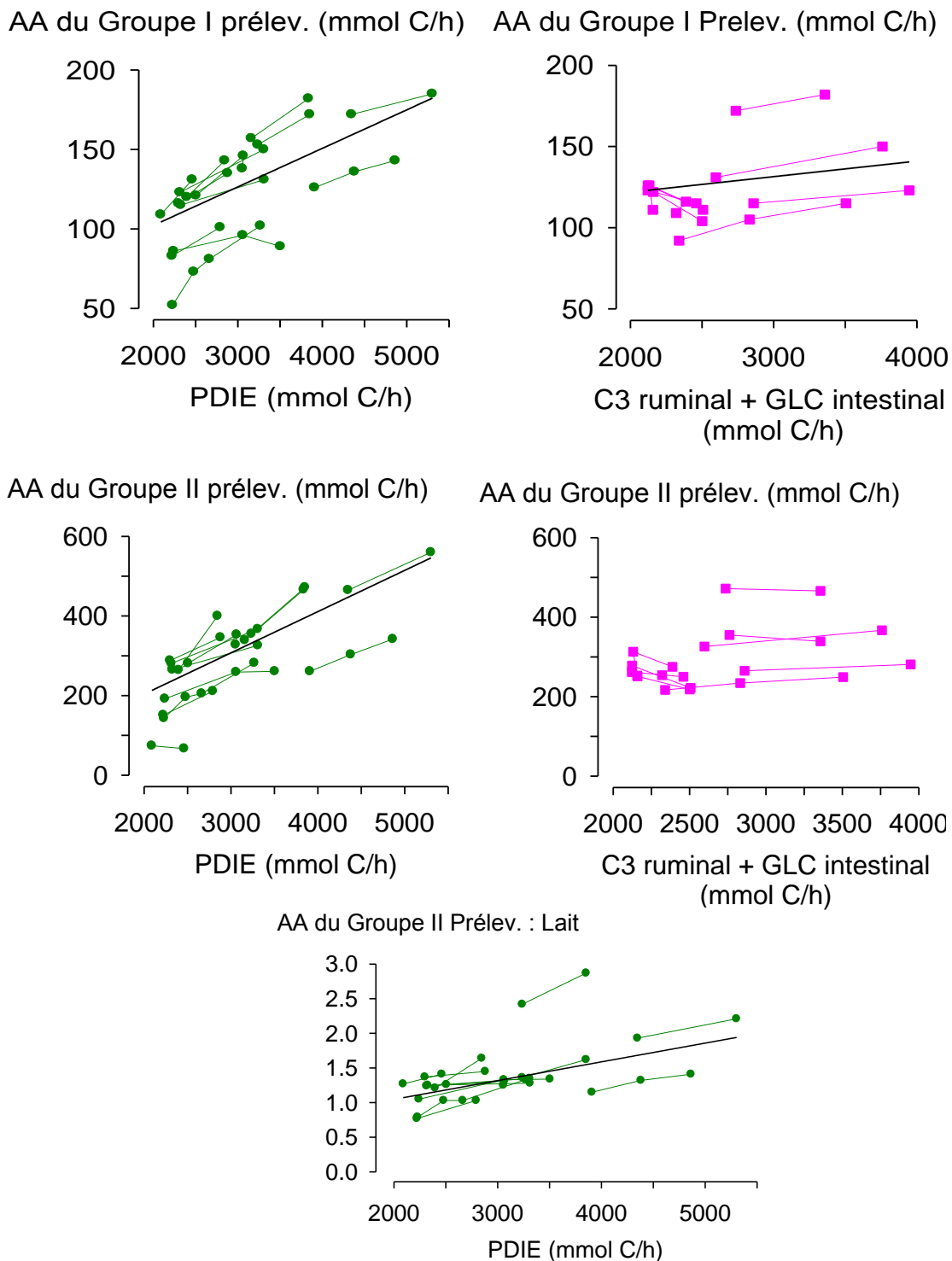


Figure 25. Prélèvements mammaires des acides aminés du groupe I (His, Met, Phe+Tyr, Trp) et II (Lys, Ile, Leu, Val) de Mephram (1982) en réponse à l'apport de protéines digestibles dans l'intestin (PDIE), d'acide propionique (C3) ruminal ou de glucose (GLC) intestinal (Lemosquet et al., 2010b : [O4]) et ratio entre prélèvements et exportations dans les protéines du lait.

Dans toutes les situations nutritionnelles étudiées (niveaux de PDI, nature de l'énergie ou le profil en AA indispensables ; Figure 25), les prélèvements mammaires d'AA du groupe I (His, Met, Phe+Tyr, Trp) défini par Mepham (1982) ont augmenté autant que leur exportation dans les protéines du lait (Lemosquet et al., 2010b : [O4] ; Lapierre et al., 2012 : [A9] ; Figure 25). Leur ratio « prélèvement net sur exportation dans les protéines du lait » est resté de 1 quels que soient les traitements nutritionnels (niveaux d'apports protéiques, d'apports d'énergie, type d'AA ou nature de l'énergie). Nous avons aussi réalisé un essai apportant une dose très importante de ¹³C-Phe et nous n'avons pas constaté d'oxydation de cette Phe ni de son métabolite la Tyr au niveau mammaire (Lemosquet et al., 2010d : [C18]).

A contrario, les prélèvements nets mammaires des AAI du groupe II de Mepham (Lys + Leu + Ile + Val) ainsi que leur métabolisme intra-mammaire ont été modifiés différemment selon la situation nutritionnelle. De même, les prélèvements d'AANI ont varié en fonction du type de nutriments apportés. En effet, dans la plupart des essais augmentant l'apport d'énergie sous forme d'acide propionique ou de glucose intestinal, le prélèvement net mammaire des AANI a augmenté en parallèle à l'augmentation des AA du groupe I. Parmi les AANI, le prélèvement net mammaire d'Ala et de Glu augmentait (Cf. méta-analyse : Lemosquet et 2010a : [O15]). Par contre, les prélèvements mammaires d'AA du groupe II ne variaient pas (Cf. méta-analyse de Lemosquet et al., 2010b : [O4]) à l'exception de l'essai de Rulquin et al. (2004 : [A23]). Le prélèvement net mammaire des AANI a également augmenté comme celui des AA du groupe I en réponse à l'apport d'énergie sous forme d'acide propionique ou de glucose intestinal. Parmi les AANI, le prélèvement net mammaire d'Ala et de Glu augmentait (Cf. méta-analyse : Lemosquet et 2010a : [O15]). En réponse à l'augmentation de l'apport total d'AA (niveau d'apport protéique), les prélèvements d'AAI du groupe II (Figure 25) ont augmenté, et ceci de façon plus importante que leurs exportations dans les protéines du lait avec le niveau d'apport protéique (ratio prélèvement : lait \geq 1). Ainsi l'oxydation mammaire de la ¹³C-Leu a significativement augmenté avec l'apport protéique (Raggio et al., 2006a : [A18]). Ces AA (du moins leurs groupements azotés) ont été utilisés pour la synthèse d'AANI. En effet, la glande mammaire a prélevé de moins en moins d'AANI avec l'augmentation du niveau d'apport protéique. Ce résultat a pu être généralisé après constitution d'une base de données d'essais mesurant les prélèvements nets mammaires (Lemosquet et al., 2010b : [O4]; Lapierre et al., 2012 : [A9]).

Nos résultats récents (Haque et al., 2015 : [A3]) sur l'effet du profil en AA à deux niveaux d'apports protéiques nous apportent un éclairage un peu différent. Selon la stimulation de la production de protéines du lait permise par l'apport d'AAI limitants, la mamelle adapte les prélèvements et le

métabolisme des AANI pour permettre l'augmentation de la synthèse protéique mammaire (Tableau 5). Le prélèvement d'AANI a diminué en réponse à la correction du profil à bas niveau d'apport PDI (BPAA+ vs. BPAA-) et a augmenté en réponse à la correction du profil à haut niveau d'apports PDI (HPAA+ vs. HPAA-) quand l'apport d'énergie était limitant. En fait en réponse à la correction du profil en AA, le ratio entre les prélèvements mammaires des AA du groupe II et leur exportation dans les protéines du lait a augmenté de façon identique à bas et à haut niveau d'apports PDI (BP et HP ; Tableau 5) alors que la production de protéines du lait et les besoins en AANI étaient plus élevés à haut niveau d'apport PDI qu'à bas niveau (HP vs. BP ; Tableau 5). Ces derniers résultats confortent bien mon hypothèse d'une régulation conjointe des prélèvements nets d'AA du groupe II et d'AANI et de la synthèse d'AANI.

4.5. Répartition de l'utilisation des AA entre la production de protéines du lait et le catabolisme

D'après nos essais (Raggio et al., 2006a ; Haque et al., 2015 ; [A3 ; A18]) et la synthèse de la littérature (Lemosquet et al., 2010b, [O4]), la diminution de l'efficacité d'utilisation des AA lorsque l'on augmente l'apport PDI s'expliquerait au niveau mammaire par une diminution des prélèvements mammaires d'AANI alors que leurs apports intestinaux augmentent conduisant à une quantité plus importante d'AANI non utilisée par la mamelle et pouvant être oxydée (Tableau 5). Nous avons également observé des modifications de métabolisme au niveau corporel et porte hépatique. Lors de la thèse de G. Raggio, nous avons ainsi analysé l'oxydation de la Leu au niveau corporel et mammaire. L'augmentation de l'apport protéique a accéléré le renouvellement protéique corporel (synthèse et dégradation) et l'oxydation de la Leu au niveau corporel comme au niveau mammaire. Ceci suggérerait un catabolisme accru d'autres AA (dont la Leu) que les AANI (Raggio et al., 2006b : [A19]). De plus, les résultats récents obtenus en collaboration avec G. Cantalapiedra-Hijar (2014a, [A5]) montrent une utilisation nette de la Lys au niveau du foie qui augmente avec l'apport PDI. Cette utilisation nette est également rapportée par Reynold (2006b) sans que l'on sache si dans cette fraction, il y a une partie de la Lys oxydée. Ce dernier résultat montre d'ailleurs que considérer deux catégories d'AAI (groupe I et groupe II) en termes de métabolisme a ses limites.

Il ressort aussi que le gain d'efficacité permis par le changement de nature d'énergie à même niveau d'apport protéique pourrait être permis par une utilisation accrue des AA du groupe I et des AANI par

la glande mammaire ainsi que par une augmentation du prélèvement de nutriments énergétiques (glucose plus lactate) pouvant être utilisés pour favoriser la production d'ATP pour la synthèse protéique (Raggio et al., 2006a ; Lemosquet et al., 2009b et 2009d, Lemosquet et al., 2010b [A16 ; A18 ; C1 ; O4]). Il y aurait donc un véritable changement de répartition de l'utilisation des AA qui pourrait être lié à une stimulation de la synthèse protéique par les hormones (Cantalapiedra-Hijar et al., 2015). En collaboration avec G. Cantalapiedra - Hijar et H. Lapierre, nous avons aussi observé des changements de métabolisme aux niveaux digestif, corporel et mammaire en réponse à la nature de l'énergie. En effet, nous avons trouvé que les régimes riches en amidon avaient des effets plus complexes que l'apport de nutriments énergétiques par perfusion digestive. Ils augmentaient les flux intestinaux de protéines (PDI) et les flux nets d'AA en veine porte (Cantalapiedra-Hijar et al., 2014a,b). L'augmentation des flux en veine porte d'AA serait due à la fois à un accroissement du flux d'azote microbien dans le duodénum (Cantalapiedra-Hijar et al., 2014b) et à un besoin en énergie moins élevé des tissus drainés par la veine porte (Cantalapiedra-Hijar, 2014a). Par ailleurs, l'augmentation de l'apport d'acide propionique en parallèle à l'augmentation de l'apport de protéines a permis de réduire l'oxydation de la ¹³C-Leu au niveau corporel (Raggio et al., 2006b ; [A19]). Cette interaction montrait l'effet au niveau du métabolisme d'un rééquilibrage entre apport de protéines et d'énergie (PDI/UFL). Ces effets au niveau du métabolisme corporel contribuent avec les modifications de prélèvements mammaires, à expliquer l'augmentation d'efficacité azotée au niveau de l'animal.

En réponse à la correction du profil en AA, l'efficacité d'utilisation des PDI a toujours augmenté sans interaction PDI × AA significative (Lemosquet et al., 2014, [C11] ; Figure 22). L'absence d'interaction PDI × AA significative sur l'efficacité γ compris dans les deux essais de zootechnie sur un grand nombre d'animaux pose question par rapport à mon hypothèse initiale de diminution de la quantité d'AA à cataboliser avec celle de l'apport PDI. L'analyse du premier essai de métabolisme mammaire permet de mieux comprendre comment cette absence d'interaction est possible (Haque et al., 2015 : [A1]). Trois hypothèses sont possibles pour expliquer cette absence d'interaction :

Premièrement à haut niveau d'apport PDI, l'apport d'énergie était limitant pour bien valoriser l'utilisation de tous les AA vers la production de protéines du lait. En effet, dans nos 5 essais sur le profil en AA à deux niveaux d'apport PDI, l'apport d'énergie était fixé à une même valeur (0.93 UFL/kg de MS) à bas et à haut niveaux d'apports PDI et à haut niveau d'apport PDI les ratio PDIE/UFL variaient de 105 à 117 g/UFL (Vérité et Delaby, 2000). L'absence d'interaction s'expliquerait alors par

le fait que la réponse à la correction du profil à haut niveau de PDIE/UFL a été limitée par l'apport insuffisant d'énergie.

Deuxièmement, le profil idéal requis n'est pas le même à bas et à haut niveaux d'apport PDI. C'est ce que suggère l'analyse de la clairance (Figure 23) où l'His semble limitante à bas PDI (Lee et al., 2012a, b) et la Thr plus limitante à haut PDI.

Troisièmement, le mécanisme permettant de gagner en efficacité azotée et PDI pourrait être dépendant de la capacité de certains AAI (tel que la Met) à stimuler la synthèse de protéines mammaires. L'augmentation de la production de protéines du lait entraînerait alors un ajustement du prélèvement de l'ensemble des autres AA puisque la composition en AA des protéines du lait est génétiquement déterminée. Ceci favoriserait alors un changement de répartition de l'utilisation des autres AA au profit de la glande mammaire. La réduction du catabolisme serait alors plutôt une conséquence de la stimulation de la synthèse protéique. Certains éléments de notre essai (Haque et al., 2015, [A3]) permettent d'étayer cette seconde hypothèse. Corriger le profil en AA revenait en effet à augmenter la proportion d'AAI dans les PDI et à diminuer celle d'AANI puisque l'apport PDI n'augmentait pas (Tableau 5). Curieusement les prélèvements mammaires des AAI ont moins augmenté que leur apport intestinal conduisant à une baisse de leur efficacité d'utilisation observée à bas comme à haut niveaux d'apports protéiques (Tableau 5 : différences intestin - mamelle). A contrario, le gain d'efficacité des PDI observé lorsque l'on corrigeait le profil en AA (AA+ vs. AA-) s'expliquait par le fait que la différence entre la quantité d'AANI prélevée par la glande mammaire et l'apport intestinal de ces AANI diminuait (Tableau 5 : différences intestin – mamelle). Ce résultat qu'il faudra confirmer n'était pas attendu. Il rejoint cependant ceux récemment obtenus in vitro par l'équipe d'Hanigan (Arriola Apelo et al., 2014). De nombreux AAI autres que la Leu (Met, His la Thr) auraient des effets similaires à des hormones telles que l'insuline et stimuleraient directement les voies de signalisation de la synthèse protéique mammaire (revue d'Arriola Apelo et al., 2014) en particulier les voies impliquant les MAP kinase. Bequette et al. (2003) suggèrent également que les enzymes d'acylation des ARN de transfert ne sont pas saturées dans le tissu mammaire contrairement aux autres tissus. Les effets des AA seraient additifs, ce qui pour Hanigan remet (Arriola Apelo et al., 2014) en cause le principe que la production de protéines du lait est dépendante de l'apport du premier AA limitant.

Nos derniers résultats (Haque et al., 2015), ne remettent pas en cause ce principe du premier AA limitant puisque la glande mammaire ajuste l'ensemble de ses prélèvements d'AA pour que l'azote

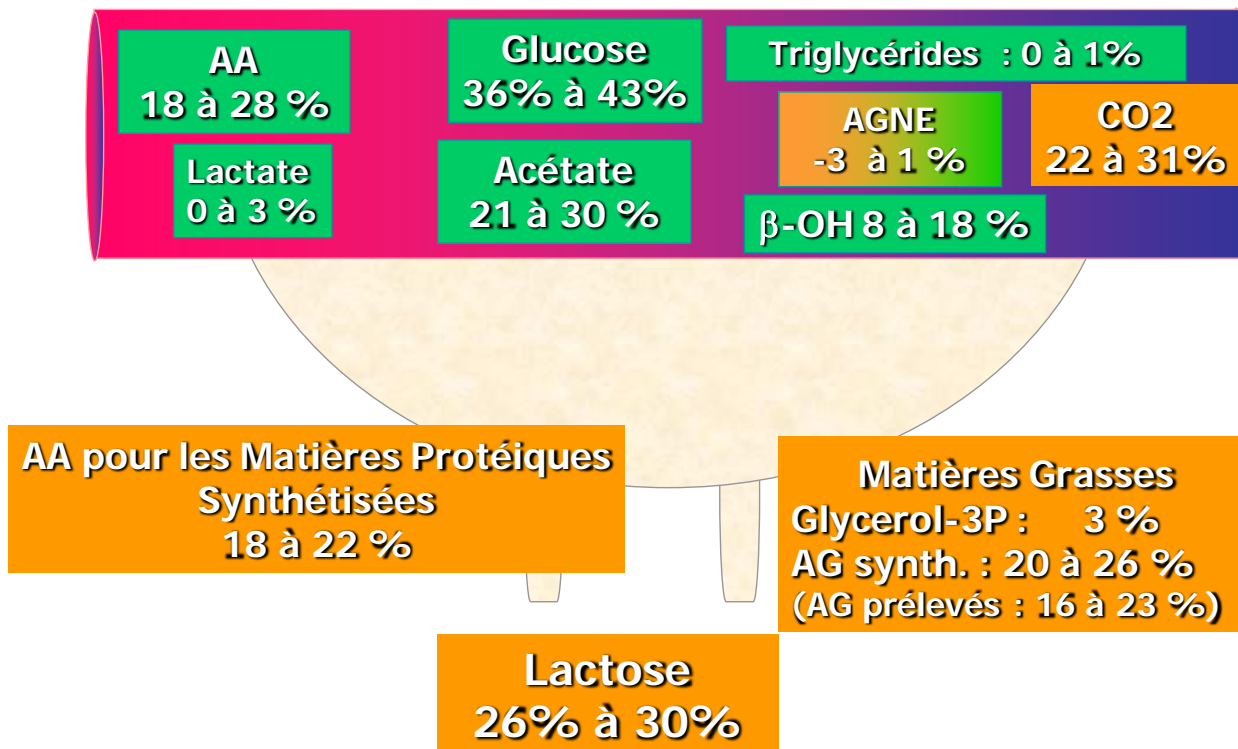


Figure 26. Carbones prélevés sur une base nette (en vert) ou produits par la glande mammaire (orange ; Lemosquet et al., 2010b : [O4]). AA : Acides Aminés ; AGNE : Acides gras Non Estérifiés ; β-OH : β-hydroxybutyrate.

des AA prélevés soit quasiment égal à l'azote exporté sous forme d'AA dans le lait. Cependant, le mode d'expression en % des PDI a montré ses limites dans nos essais (Haque et al., 2015 ; [A3]). En effet, des quantités quasiment identiques de chaque AAI ont été apportées dans les traitements BPAA+ (bas apport PDI et profil non corrigé) et HPAA+ (Haut PDI et profil corrigé). Or, ces traitements ont conduit à la même quantité de protéines produite dans le lait avec les mêmes prélèvements mammaires individuels d'AA (Tableau 5). Dans ces deux traitements, les concentrations en % des PDI des AAI étaient beaucoup plus faibles dans le traitement HPAA- du fait de l'apport beaucoup plus important d'AANI dans les PDI. Ce mode d'expression des AADI en % des PDI a donc l'avantage d'être compatible avec l'amélioration de l'efficacité azotée puisque les concentrations en AAI (% PDI) étaient plus fortes dans le traitement BPAA+ que dans le traitement HPAA- d'AANI avec HPAA- (Haque et al., 2015 ; [A3]). Cependant, avec ce mode d'expression en % des PDI, le besoin de chaque animal en chaque AAI est la combinaison du besoin PDI et du besoin AADI (g/j), ce qui peut constituer une première limite. De plus, ce mode d'expression est également indépendant de l'apport d'énergie. Or, comme nous venons de le discuter l'apport d'énergie a probablement limité la synthèse protéique à haut niveau d'apport PDI. Ceci constitue une seconde limite importante.

4.6. Comment est modulée l'utilisation intra-mammaire des nutriments pour fournir de l'énergie (l'ATP) pour les synthèses ?

A l'issue de l'ensemble de nos travaux sur le métabolisme mammaire, il semblait important de chercher à approfondir nos connaissances sur les mécanismes de régulation de la répartition de l'utilisation intra-mammaire des nutriments entre la synthèse des macro-constituants du lait et les voies d'oxydation. Il faut savoir que la production de CO₂ par la glande mammaire représente une quantité importante (30 %) des carbones prélevés (Figure 26).

De plus, nos résultats de métabolisme mammaire (Rigout et al., 2002b ; Raggio et al., 2006a ; Lemosquet et al., 2009b, Haque et al., 2015, [A3, A16, A18, A27]) permettaient d'appuyer l'hypothèse émise par Lobley (2007) d'une grande flexibilité de la glande mammaire à utiliser différents nutriments à des fins énergétiques. C'est ce que suggérait l'analyse des bilans carbone dans l'essai de Raggio (Lemosquet et al., 2009b : [A16]) où, en l'absence de l'augmentation du prélèvement mammaire de glucose, un prélèvement mammaire accru de β -hydroxybutyrate ainsi qu'un catabolisme accru des AA du groupe II avaient pu contribuer à la fourniture d'énergie nécessaire à l'augmentation des synthèses de protéines, d'acides gras et de lactose observée lors de l'augmentation de l'apport protéique. A contrario, l'augmentation de synthèses protéiques du lait

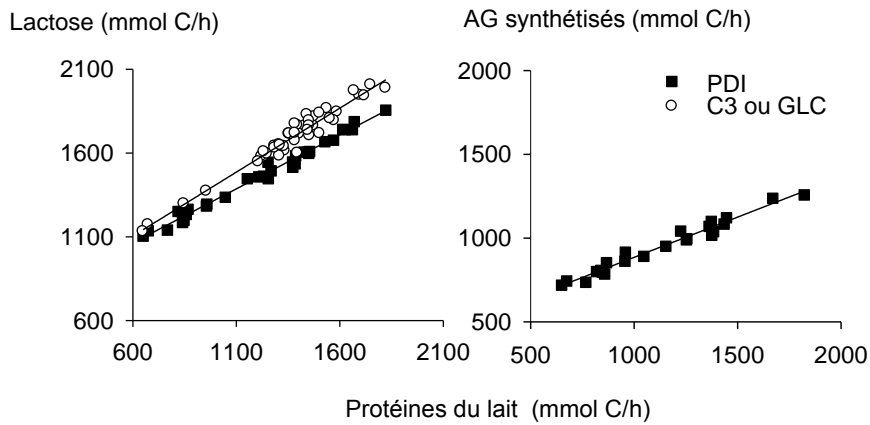


Figure 27. Relation entre la production de protéines du lait et celles de lactose et d'acides gras synthétisés dans la glande mammaire (C4 à 50 % des C16) sur une base de carbone (Lemosquet et al., 2010b : [O4]).

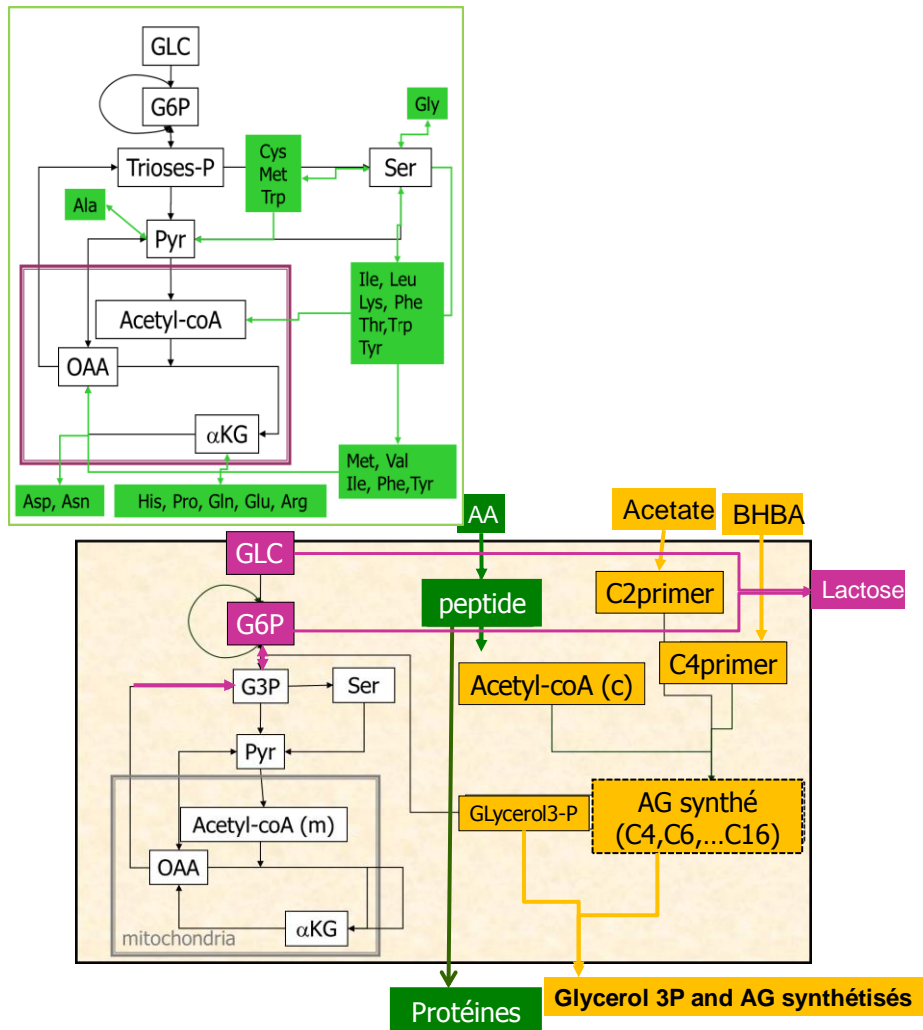


Figure 28. Représentation du modèle d'O. Abdou Arbi (2014 : [A4]).

dans les traitements d'apports d'acide propionique pourrait être permise par un accroissement du prélèvement de lactate. Cette hypothèse est également soutenue dans l'étude par méta-analyse des essais d'effets des nutriments sur le métabolisme mammaire (Lemosquet et al., 2010b : [O4]). C'est aussi ce que suggèrent nos résultats plus récents, où parfois l'énergie supplémentaire nécessaire aux augmentations de synthèses de protéines et de lactose du lait, serait permise par l'accroissement du prélèvement du β -hydroxybutyrate (Lemosquet et al., 2009b), ou de l'acétate (essai correspondant à Lemosquet et al., 2009c,d [C7, C8]), ou encore par celui du glucose (Haque et al., 2015 [A3]) ainsi que par le catabolisme des AA du groupe II (Raggio et al., 2006a, [A18]). Récemment avec H. Lapière, nous avons montré in vivo qu'une partie du lactose ne provenait pas du glucose (Lapière et al., 2013 : [C1]) mais des AA, ce qui souligne l'étendue possible des échanges de carbones.

Comme la glande mammaire semble présenter une grande flexibilité à utiliser de nombreux nutriments à des fins énergétiques et que la synthèse de lait est coûteuse en énergie, il semblait intéressant d'explorer des hypothèses de répartition de l'utilisation des nutriments régulée par le besoin en ATP.

La technique des bilans mammaires (prélèvements nets moins productions de nutriments dans le lait) permet seulement de faire des hypothèses quant à l'utilisation des chaînes carbonées dans les différentes voies métaboliques mammaires. Pour étudier le métabolisme intra-mammaire, il faut combiner les bilans d'organe avec l'utilisation d'isotopes comme nous l'avons fait avec H. Lapière dans la thèse de G. Raggio ([TH2]) ou pour la Phe en collaboration avec des médecins (Lemosquet et al., 2010b : [O4]). C'est extrêmement coûteux, invasif et des problèmes de précisions peuvent limiter les conclusions. Une meilleure compréhension de cette régulation de la répartition permettrait probablement de mieux prédire les variations de composition du lait en particulier de savoir pourquoi lorsque l'apport protéique augmente, les trois synthèses (Figure 27) augmentent (protéines, lactose, acides gras). De plus ces travaux in vivo ne permettent pas de quantifier la production ou l'utilisation d'ATP, mais simplement la production de CO_2 et la consommation d' O_2 .

La stratégie de recherche a donc été de mener un travail de modélisation biochimique de la glande mammaire pour analyser plus finement la répartition de l'utilisation intra-mammaire des nutriments. Ce travail a été réalisé grâce à la collaboration très importante avec les mathématiciens A. Siegel (CNRS, UMR IRISA basée l'INRIA) et J. Bourdon (Université de Nantes) de 2008 à 2013 et grâce à la thèse d'O. Abdou Arbi (2013 ; [TH1]). Nous avons pris appui sur la stœchiométrie de Van Milgen (2002) en l'adaptant au métabolisme mammaire (Figure 28).

Mon hypothèse restait que la répartition de l'utilisation des nutriments dans la glande mammaire pouvait dépendre à la fois du potentiel de production de lait des vaches et du besoin en ATP de ces synthèses. Les deux questions de recherche posées dans le travail de modélisation sur le métabolisme mammaire étaient :

- Peut-on connaître les règles de répartition des nutriments dans la mamelle à partir d'un modèle stœchiométrique, de données de prélèvements nets mammaires et de production et de composition du lait et de règles générales sur la conservation intracellulaire de l'ATP ?
- Peut-on observer des changements de répartition des nutriments entre les voies oxydatives et les voies de synthèse des macro-constituants du lait ?

Il faut souligner que dans ce travail, la question réellement étudiée était plus restrictive que mon hypothèse puisqu'il ne s'agissait pas de prédire le volume et la composition du lait mais de tester des règles de répartition de l'utilisation des carbones des nutriments liés à l'ATP, à volume et composition du lait connus. En effet, les données renseignées dans le modèle étaient à la fois les prélèvements mammaires et la production de lait et de matières (lactose, protéines, acides gras et triglycérides) ainsi que la stœchiométrie. Les sorties du modèle étaient la répartition des nutriments (flux) dans les voies métaboliques de synthèses et d'oxydation.

Pour analyser cette question, les mathématiciens ont proposé d'utiliser le formalisme de modélisation appelé analyse de flux sous hypothèse stationnaire ou « Flux Balance Analysis » (FBA). Le réseau métabolique étudié par ce formalisme est défini comme l'ensemble des flux de métabolites (quantités par unité de temps) de toutes les voies métaboliques empruntées. L'utilisation de ce formalisme de modélisation ne nécessitait pas de connaître avec précision les régulations d'activité enzymatique. Il semblait donc particulièrement bien adapté aux données disponibles sur le métabolisme mammaire. Cette approche est basée sur l'hypothèse que le réseau métabolique se comporte de manière optimale à l'état stationnaire (Varna et Pallson, 1994 ; Goelzer et Fromion, 2011). Elle a ainsi été largement utilisée pour décrire la réponse métabolique des organismes simples comme les procaryotes ou les levures, où la croissance peut être dans de nombreux cas modélisée en utilisant une fonction d'optimisation de maximisation de la biomasse ou de l'ATP (Varna et Palsson, 1994 ; Goelzer et Fromion, 2011 ; Lemosquet et al., 2009b : [A16]). Ainsi il nous a semblé très intéressant de tester par cette méthode des règles de répartition des nutriments dans la cellule épithéliale mammaire basée sur l'optimisation des flux l'ATP.

4.6.1. Règles de répartition liées à l'ATP

Ce travail a montré que l'intuition des biologistes utilisant les techniques des bilans d'organes consistait à considérer comme règle de répartition de l'utilisation des nutriments intra-organe une règle de maximisation de l'ATP (Lemosquet et al., 2010a : [O2]). Cette règle de maximisation de l'ATP donne bien une solution de répartition unique. Ainsi, implicitement, nous faisons fonctionner l'organe étudié selon une règle de maximisation de l'ATP à chaque fois que nous calculons des contributions potentielles telles que le ratio lactose sur glucose prélevé, puis, nous affectons le reste du glucose prélevé à la production de CO₂ (cf. l'analyse des bilans carbone dans Lemosquet et al., 2009b : [A16]). C'est également ce que font les chercheurs qui calculent les contributions potentielles des différents nutriments à la production hépatique de glucose (Seal et Reynolds, 1993). Au niveau de la glande mammaire, maximiser l'ATP revient à synthétiser les constituants du lait le plus efficacement possible sans cycle futile en catabolisant de façon efficace les nutriments non utilisés par la synthèse de lait. Curieusement le modèle biochimique dynamique d'Hanigan et al. (1994) donnerait une répartition proche de celle obtenue selon cette règle. Or cette maximisation n'est pas possible puisque nous avons mesuré du renouvellement protéique mammaire (Raggio et al., 2006a : [A18]).

La mamelle pourrait synthétiser selon cette règle d'optimisation un flux d'ATP double de celui nécessaire à la synthèse de lait, ATP qui s'accumule dans la cellule épithéliale mammaire dans ce modèle. Une telle accumulation d'ATP est impossible dans une cellule. Pour utiliser ce surplus d'ATP très important, il existerait alors des cycles futiles très actifs. Par exemple, consommer tout cet ATP dans le renouvellement protéique reviendrait à considérer que la synthèse protéique mammaire représente 5 fois la quantité de protéines exportée dans le lait. Dans notre essai (Raggio et al., 2006a, b : [A18, A19]) nous avons mesuré une synthèse protéique mammaire représentant 1,3 fois la quantité de protéines exportées. De telles valeurs de renouvellement ont cependant été mesurées par Hanigan et al. (2009) chez la chèvre mais on ne sait si elles se rapportent aux protéines constitutives de la glande ou aux protéines laitières et constitutives sachant que très peu de dégradation des caséines est observée dans la cellule épithéliale mammaire (Chanat, communication personnelle).

Nous avons alors appliqué une règle de minimisation de l'ATP qui maintenait un flux d'ATP résiduel minimum constant afin de couvrir des besoins en ATP pour d'autres fonctions que les voies biochimiques prises en compte dans le modèle (transport intracellulaire ATP dépendant etc.). Cette

autre règle ne conduit cependant pas à une solution unique de répartition (Abdou Arbi et al., 2014 : [A4] mais à un espace de solutions de répartition. Ce nouveau résultat suggère qu'il existe donc d'autres contraintes sur la répartition des nutriments qu'une règle générale basée sur le flux d'ATP total. Il nous manque bien des données d'activité ou de vitesses maximales pour réduire l'espace des solutions. Les données sur les régulations enzymatiques portent essentiellement sur la synthèse d'acide gras et triglycérides (Bauman et Davis, 1974 ; Bernard et al., 2005) et pour les autres voies métaboliques, ces activités n'ont pas été obtenues dans des situations nutritionnelles diverses (Scott et al., 1976 ; Faulkner et Peaker, 1987). Il n'est cependant pas sûr qu'il existe une solution unique de répartition, ce qui peut traduire la flexibilité métabolique.

Ce travail a permis de s'interroger sur l'importance du renouvellement des protéines constitutives de la glande mammaire et son coût ATP, et plus généralement, sur le coût du renouvellement tissulaire permanent de la glande mammaire. Ce coût énergétique me semble très sous-évalué dans la publication d'Hanigan et al. (2009) et pose la question du besoin en énergie non productif de la glande mammaire. Il inclut le coût des transporteurs de nutriments ATP dépendants mais aussi de renouvellement du tissu sécréteur pour maintenir la production de lait. La mesure du renouvellement protéique in vivo n'est pas facile, elle requiert l'utilisation de traceurs (isotopes tels que des AA marqués) ce qui est très onéreux. De plus il ne s'agit que d'une valeur relative qui peut aller de 1.3 à 5 fois la synthèse protéique mammaire dépendant de l'AA utilisé, et du pool précurseur choisi pour la synthèse protéique (Hanigan et al., 2009 ; Raggio et al., 2006a, b, [A,16 ; A19]).

4.6.2. Répartition des nutriments dans l'essai d'apport de protéines et d'acide propionique

Ce travail de modélisation a cependant apporté des premiers éléments intéressants pour étudier les hypothèses de flexibilité métabolique. Une interface, développée par O. Abdou Arbi et J. Bourdon, est disponible sur le site WEB (<http://nutritionanalyzer.genouest.org/SupplementaryMaterial>) ainsi que des tutoriels. Elle permet de créer des modèles biochimiques pour toute cellule ou tissu, de tester des hypothèses de règles de fonctions de répartitions selon des fonctions objectives définies. Elle permet également de calculer la répartition de chacun des nutriments en termes de carbone selon une condition d'optimisation (comme par exemple la maximisation de l'ATP, la minimisation de l'ATP, la maximisation du renouvellement protéique).

En l'absence de règles d'optimisation sur l'ATP (maximisation ou minimisation à une valeur résiduelle), une méthode a été développée (Abdou Arbi et al., 2014 : [A4]) pour calculer la plage de répartition de chaque nutriment prélevé dans les nutriments produits (incluant le CO₂). Appliquée à nos données (Lemosquet et al., 2009b [A16] ; Raggio et al., 2006a : [A18]), elle permet de valider notre hypothèse d'une utilisation plus importante du glucose vers la synthèse de lactose et des AA du groupe II (Lys, Leu, Ile et Val) pour la production de CO₂ lorsque l'apport de protéines est augmenté par la perfusion digestive de caséines.

Ces premiers résultats issus de ce calcul de plages de répartition confortent bien l'hypothèse d'une grande flexibilité de la glande mammaire à utiliser des nutriments énergétiques soit vers des voies de synthèses de macro-constituants du lait, soit dans les voies métaboliques permettant de fournir de l'ATP.

4.7. Conclusions

Nos travaux de recherche semblent appuyer mon hypothèse initiale qui était que la répartition de l'utilisation des AA entre les voies de catabolisme et la production de protéines du lait dépendait à la fois de l'apport des AA les plus limitants pour la production de protéines au niveau de la glande mammaire et de la quantité totale de nutriments pouvant être utilisée à des fins énergétiques.

En effet, nous avons bien constaté que de modifier la nature de l'énergie apportée au profit d'une énergie glucoformatrice ainsi que d'améliorer le profil en AA permettent bien d'augmenter un peu à la fois les matières protéiques du lait et l'efficacité d'utilisation des PDI. A contrario, nous avons retrouvé qu'augmenter l'apport PDI augmente les matières protéiques mais diminue fortement l'efficacité d'utilisation des PDI.

L'ampleur des gains d'efficacité semblent s'expliquer en partie par une double contrainte au niveau du métabolisme mammaire. En effet d'une part, le bilan azoté en AA de la mamelle serait proche de zéro, d'autre part l'augmentation de la synthèse de protéines du lait demande une augmentation de l'utilisation mammaire de tous les AA vers cette synthèse. Ainsi de l'ensemble de nos essais (Raggio et al. 2006a : [A18] ; Haque et al., 2015 [A3]) et de notre travail de méta-analyse (Lemosquet et al., 2010b : [O4]; Lapiere et al., 2012 : [A9]) croisant différentes situations nutritionnelles, il ressort l'idée qu'en réponse à un stimulus nutritionnel de la synthèse protéique, la mamelle augmente nécessairement le prélèvement mammaire des AA du groupe I de Mepham (1982) et adapte les prélèvements d'AA du groupe II et des AANI pour permettre l'augmentation de la synthèse protéique

et avoir un bilan azoté nul. Ceci module la répartition de l'utilisation des AA, entre la production des protéines du lait et d'autres voies dont le catabolisme. Ces changements de répartition touchent à la fois la répartition de l'utilisation des AA entre la mamelle et les autres tissus ainsi que l'utilisation intra-mammaire des AA entre la production de protéines, l'oxydation et probablement l'utilisation pour les synthèses de lactose et de matières grasses. Pour l'instant, il semble difficile de prédire les variations de prélèvements des AA du groupe II et des AANI dans les différentes situations nutritionnelles, les prélèvements d'AANI ayant été peu rapportés dans les essais publiés. Mon hypothèse serait que l'équilibre de ces prélèvements pourrait dépendre de l'apport d'énergie (niveau et nature). Nos essais ont cependant plus porté sur la nature de l'énergie que sur le niveau d'énergie : ils avaient donc comme limite de peu augmenter les matières protéiques du lait alors qu'un déficit en énergie diminue beaucoup la production de protéines du lait.

Nos résultats confortent aussi l'hypothèse d'une grande flexibilité de la glande mammaire à utiliser les chaînes carbonées de différents nutriments à des fins énergétiques (incluant tous les nutriments énergétiques ainsi que l'utilisation des AA du groupe II et les AANI). C'est également ce que suggèrent nos travaux de modélisation du métabolisme de la glande mammaire. Cependant, nos travaux plus récents de modélisation ne confortent pas complètement cette hypothèse d'une demande énergétique très forte de la synthèse des constituants du lait, les nutriments prélevés permettant largement de couvrir les besoins en ATP à la synthèse de lait.

Contrairement à notre hypothèse initiale nous avons constaté que corriger le profil en AAI augmentait l'efficacité d'utilisation des PDI à bas comme à haut niveaux d'apport PDI. Dans le cadre de la rénovation du système d'alimentation des ruminants (projet « Systali »), ce résultat est très important. En effet, l'efficacité d'utilisation des PDI va être variable en fonction du niveau d'apport et la réponse des matières protéiques va être curvilinéaire (Sauvant et al., 2016). D'après nos travaux dans REDNEX (Lemosquet et al., 2014, [C11]) cette efficacité va pouvoir être également corrigée dans « Systali » en fonction de l'apport en LysDI et MetDI quel que soit le niveau d'apport PDI (Lemosquet et al., 2014, [CV2]). Ceci ouvre des perspectives pour réduire l'apport PDI aux vaches et limiter l'excrétion azotée urinaire. Cependant, de nombreux travaux semblent encore nécessaires pour mieux cerner les recommandations en AA des vaches laitières. Les gains d'efficacité obtenus avec la correction du profil en AA seraient plus forts si dans nos systèmes on corrigeait d'autres AA que Lys et Met, en particulier His et Leu. Dans ce cadre, le profil en 8 AAI proposé par Rulquin et al. (2007a : [C22]) ne serait pas le profil idéal. Il semble important de préciser les recommandations en

His et Thr et celles en Leu au regard de celles en Ile et Val. Le prolongement du travail sur les recommandations en AA ouvre donc de nombreuses perspectives.

5. Conclusions du bilan et perspectives

De mon bilan, il ressort que la variation d'apports de nutriments par des perfusions dans des plages de variations proches de celles de l'alimentation module bien les concentrations circulantes d'hormones (insuline, IGF-I, glucagon) impliquées dans la régulation de la répartition des nutriments entre la synthèse de lait et d'autres utilisations. Cependant ces variations sont faibles et difficilement quantifiables. De plus, la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline ne semble pas affectée. A l'époque de ma thèse et de mon post-doctorat, peu d'informations étaient disponibles sur l'effet de l'alimentation sur les hormones de la lactogenèse et de la galactopoïèse (hormis la GH), en particulier de la prolactine. Or il vient d'être démontré in vivo un effet de l'alimentation sur la sécrétion de cette hormone (Lacasse et al., 2012 ; Ollier et al., 2014). De plus, il a été bien démontré des effets de l'insuline sur la régulation de la synthèse protéique mammaire (Bequette et al., 2002 ; Burgos et al., 2010b). L'insuline intervient dans la régulation post-traductionnelle de la synthèse protéique (Rhoads et Grudzien-Nogalska, 2007) et dans le transport des AA et dans la voie de signalisation impliquant mTor (Bionaz et Looor, 2011). De nombreux travaux sont en cours par les équipes d'Hanigan (Rius et al., 2010 ; Arriola Apelo et al., 2014), de Doelman et al. (2015) de Cant (Burgos, 2010a, b ; Toerien et al., 2010) en Amérique du Nord pour étudier la régulation des voies de signalisation de la synthèse protéique au niveau de la glande mammaire de vache. Ces travaux portent à la fois sur l'effet des AA de l'apport d'énergie mais également de l'insuline et les IGF-1. Ceci ouvre des perspectives intéressantes pour mes collègues V. Lollivier et M. Boutinaud qui étudient l'effet des hormones de la lactogenèse.

Par ailleurs, l'ensemble de mes travaux montre également que la production de lactose ne dépend pas directement ou uniquement de la néoglucogenèse et du prélèvement mammaire de glucose chez la vache en milieu de lactation mais dépend aussi de l'utilisation intra-mammaire du glucose et d'autres nutriments contribuant à la synthèse de lactose. La vision d'une régulation de type push (Drackley et al., 2006) c'est-à-dire « plus d'apports de précurseurs donnent plus de produits » ne suffit pas pour expliquer les variations de disponibilités corporelles en glucose et de synthèse de lactose chez la vache en milieu de lactation dans des conditions où l'apport de nutriments glucoformateurs était limité. Nos résultats ainsi que l'analyse de la littérature en début de lactation montrent bien que la régulation de la production de glucose et de son utilisation mammaire dépend à la fois d'un effet push des nutriments précurseurs de glucose et d'une régulation de type pull (Drackley et al., 2006) par la glande mammaire (Lemosquet et al., 2011 [CI1] ; Guinard-Flament et al., 2006 [A17] ; Aschenbach et al., 2010).

Dans ce bilan de mes activités, j'ai avancé l'idée que les glandes mammaires des vaches sur lesquelles nous avons expérimenté n'exprimaient pas complètement leur potentiel de production de protéines du lait puisque les matières protéiques du lait augmentaient toujours en réponse à la correction du profil en nutriments, que ce soit des nutriments énergétiques glucoformateurs (glucose intestinale, acide propionique ruminal) ou des AAI limitants. De plus, nos travaux semblent bien étayer l'hypothèse que la régulation des matières protéiques dépend à la fois de l'apport des AA les plus limitants pour la production de protéines au niveau de la glande mammaire et de la quantité totale de nutriments pouvant être utilisée à des fins énergétiques. L'ensemble de mes travaux pourrait également suggérer que la synthèse de lactose et peut être aussi celle de matières grasses dépendraient de l'utilisation oxydative des précurseurs (glucose, acétate et β -hydroxybutyrate) pour soutenir la demande en énergie (ATP, CO_2) de la synthèse protéique. C'est du moins cette hypothèse qui permettrait de mettre en cohérence le plus de résultats de modification de composition du lait et de prélèvements mammaires de nutriments obtenus en réponse aux apports de nutriments étudiés (nature de l'énergie glucoformatrice, quantité de PDI et profil en AAI) chez la vache Holstein en milieu de lactation (Lemosquet et al., 2010a, [O4]). D'ailleurs dans le programme « Systali », la variation de production de lait pourrait être modélisée comme une fonction de la variation de la production de protéine et non l'inverse. Cependant, nos travaux de modélisation montrent que contrairement à la modélisation du fonctionnement métabolique des bactéries, il n'est pas évident de trouver une règle générale de répartition des nutriments dans la glande mammaire uniquement basée sur l'ATP. D'autres composantes vont être à prendre en compte si on veut améliorer la prédiction de la variation de composition du lait.

Enfin, nos résultats ont bien contribué à montrer qu'une alimentation simplement basée sur les concepts d'apport d'énergie et de PDI ne permet pas complètement d'exprimer le potentiel de production de protéines des vaches. Dans un contexte de contraintes environnementales sur l'azote, il semble important de réduire l'apport PDI pour gagner en efficacité azotée, ce qui, en deçà d'un seuil de 100 g/kg de PDI réduit beaucoup la production de protéines du lait. Dans ce cadre, travailler sur le profil des 9 AAI est une voie intéressante pour maintenir une bonne exportation des protéines du lait. De nombreuses questions se posent sur le profil en AAI ainsi que sur la définition des AA limitants et le mode d'expression des recommandations sachant que certains travaux remettent en cause le concept du premier AA limitant (Arriola Apelo et al., 2014). Nos travaux ouvrent des questions sur l'unicité du profil idéal, dit autrement sur les équilibres en AA à apporter en fonction de l'apport d'énergie et du niveau azoté global des rations. De plus les effets des AA ont trop souvent été quantifiés à court terme et en milieu de lactation sans tenir compte des régulations de

l'ingestion. Ces questions sont d'actualité puisque les 3 systèmes d'alimentation des ruminants incluant un système AA sont en cours de révision (en Amérique du Nord : CNPCS et NRC aux USA, ; « Systali » ; Van Amburg et al., 2015 ; Lapierre et al., 2014a,b), et que les modes d'expression des AA dans les 2 systèmes américains sont en cours d'évolution.

III. PROJET

Mon projet comprend deux volets. Le premier volet porte sur les recommandations en AA des vaches laitières. Il constituera la thématique que je mènerai en propre. Le second volet porte sur la compréhension des interactions entre les productions de lactose, de protéines et de matières grasses. Dans ce deuxième volet, je m'intéresserai particulièrement à la compréhension des variations de volume de lait et des taux de protéines et de lactose via les effets de dilution en lien avec les effets des AA. Avec mes collègues des équipes Lactation et Alinut, nous réfléchissons au montage d'un sujet de recherche pour une demande de profil d'un chargé de recherche actuellement positionné pour 2018 qui porterait sur l'étude systémique des voies de synthèse des constituants du lait par modélisation et approche métabolomique du lait.

1. Les enjeux sociétaux et scientifiques

Les enjeux sociétaux auxquels peuvent contribuer ces recherches sont actuellement l'efficacité azotée, l'autonomie protéique et plus largement l'efficacité globale de la synthèse de lait et de ses macro-constituants puisque nous avons bien démontré que les trois synthèses pouvaient être affectées (Lemosquet et al., 2010b ; [O4]). De plus depuis mars 2015, le remplacement du système des quotas laitiers par les contrats de contractualisation avec les agriculteurs offre la possibilité aux laiteries de demander des laits avec des caractéristiques différentes selon leurs utilisations. Certaines laiteries pourraient privilégier la livraison par l'agriculteur de gros volumes de lait pour le lait de consommation ou la livraison de volumes moins importants d'un lait riche en matières utiles (protéines et matières grasses) en cas de transformation fromagère et/ou beurrière. Il est très important de décrire les lois de réponses de différents paramètres zootechniques (volume et composition du lait, ingestion) aux variations d'apports des AAI. Mes travaux devraient contribuer à deux enjeux scientifiques :

Premièrement, la prise en charge des recommandations en AA chez les vaches laitières implique de pouvoir continuer à améliorer ce système AADI suite au programme de « Systali », ce qui constitue un enjeu important pour le système INRA d'alimentation des ruminants. La révision d'un système nécessite de travailler à la fois sur les apports et sur les recommandations pour que le système reste cohérent. Proposer un système de rationnement plus complet sur les AA implique également de travailler à l'échelle d'une lactation ou de la carrière de production de la vache en intégrant progressivement les besoins de croissance des vaches primipares. Il faut savoir que les deux autres

grands systèmes d'alimentation des vaches laitières ayant un volet AA sont en cours de révision. Il s'agit des systèmes américains CNCPS et NRC (NRC, 2001 ; Van Amburgh et al., 2015). Les membres du système NRC en charge des AA (H. Lapière et M. Hanigan) envisagent de proposer un système AA en remplacement de leur système d'apport de protéines métabolisables (équivalents des PDI). Dans « Systali », j'ai considéré qu'il était trop prématuré de changer le système AADI qui est issu du système PDI et cohérent avec ce dernier. L'une des raisons majeures pour conserver un mode d'expression des AADI en % des PDI est que le système d'apport PDI est plus robuste (Sauvant et Nozière, 2013) car il est basé sur beaucoup plus de données (496 publications, Sauvant et Nozière, 2013) que le système d'apport AADI (30 publications : Rulquin et al., 1998). La somme des AADI étant égale à 100 % des PDI, le système d'apport protéique (niveau et type d'AA) garde ainsi une cohérence globale. La prise en charge du volet AADI dans « Systali » m'a permis de bien mettre en évidence les différentes questions à aborder sur les apports et les recommandations pour parvenir à une évolution du système AADI.

Deuxièmement, l'amélioration de la prédiction des matières et des taux reste un enjeu pour la filière laitière. Les travaux passés et en cours ont permis ou vont permettre d'améliorer la prédiction de l'effet des produits terminaux de la digestion (PDI, énergie, nutriments glucose formateurs, AAI) sur la synthèse des macro-constituants du lait (Rulquin et al. 2001a, Rigout et al., 2003 : [A24] ; Glasser et al., 2008 ; Schmidely et al., 2008 ; Maxin et al., 2011a ; Lemosquet et al., 2014 : [C11] ; Daniel et al., 2016). Cependant, le projet « Systali » montre que, malgré une avancée majeure dans la prédiction des variations de matières (protéiques, grasses), de volume et des taux (Daniel et al., 2016) en réponse à l'apport protéique et d'énergie, il existe encore des marges de progrès importantes quant à la précision de la prédiction (Sauvant et al., 2016 ; Daniel et al., 2016). Il semble important d'aller plus loin dans la description des effets des AAI pour mieux prédire les variations de taux protéique qui s'ajuste moins bien en ne prenant en compte que l'effet des apports d'énergie et de PDI. Il semble aussi qu'une part importante de la variabilité résiduelle puisse s'expliquer par de la variabilité individuelle. En effet, les travaux de L. Delaby (Delaby et al., 2012 ; Bédère et al., 2016), ont parfaitement démontré des différences entre individus sur ce volet de régulation des matières et des taux puisque des vaches sont capables de produire les mêmes quantités de matières utiles (protéines et matières grasses) avec des volumes et des taux différents. L'étude de mécanismes de régulation osmotique du volume d'eau au niveau de la cellule épithéliale mammaire par les synthèses de protéines, et de lactose, et l'excrétion des électrolytes (Na^+ , K^+ et Cl^-) pourrait permettre également d'améliorer la prédiction des taux protéiques, et du volume de lait. La prise en compte de la variabilité individuelle de synthèse des constituants du lait me semble un point important pour

améliorer les prédictions et répondre à un enjeu de nutrition de précision. Une meilleure connaissance des prédicteurs de cette variabilité peut aussi permettre de contribuer à améliorer la sélection génétique des femelles.

Je compte donc développer des recherches qui participent à répondre progressivement à ces enjeux. Je souhaiterai plutôt confier les questions de recherches ayant trait à la variabilité individuelle, à un jeune recruté que nous encadrerions en collaboration avec J. Guinard-Flament (enseignante Chercheure, Agrocampus Ouest, Lactation). Je vais personnellement aborder les effets des AA sur les réponses zootechniques selon une approche multicritère pour établir les recommandations.

2. Les questions et la stratégie de recherche sur les AA

2.1. Les questions de recherche sur les AA

Pour répondre à l'enjeu d'améliorer le système AADI, et éventuellement choisir de faire évoluer le mode d'expression, il faut tenir compte de plusieurs contraintes qui vont orienter la stratégie de recherche. Ces contraintes sont liées à l'état des connaissances mais aussi aux particularités digestives des ruminants. Trois contraintes ont été identifiées. Premièrement, il est compliqué et invasif d'estimer le profil et les quantités d'AA absorbés dans l'intestin grêle qui restent moins précis chez les ruminants que chez les monogastriques. La précision d'une valeur AADI est de 0,3 % des PDI (Rulquin et al., 1998). Deuxièmement, l'impact de la correction du profil en AADI sera moins important que chez les monogastriques parce que seul l'apport de PDIA peut amener un profil déséquilibré en AA (NRC, 2001). En effet, le profil en AA microbiens est considéré comme idéal (sauf pour l'His) et cette fraction représente de 30 % à 70 % de l'apport PDI (Panzuti, 2015 : [E1]). Les possibilités de faire évoluer le système AADI au-delà des recommandations en LysDI et MetDI, calibrées pour les vaches laitières en milieu de Lactation (Rulquin et al., 1993), dépendent des possibilités d'améliorer la précision de nos recommandations en chaque AAi. Nos travaux de recherche semblent cependant confirmer l'intérêt de corriger les 4 AAi (Lys, Met, His et Leu) recommandés dans INRA (2007), puisque la correction de ces 4 AAi augmenterait plus l'efficacité PDI que la simple correction de LysDI et MetDI (Lemosquet al., 2014 ; [C11]). Troisièmement, une contrainte forte est qu'il reste encore difficile de corriger les apports d'His et de Lys pour pouvoir couvrir leurs recommandations et étudier l'impact de ces AA autrement que par perfusions digestives, à long terme ou sur des vaches à différents stades de lactation. En effet, aucun ingrédient

de l'alimentation en Europe ne permet de couvrir les besoins en Met et His (à 2,5 % des PDI ; INRA, 2007 ; Haque et al., 2012a ; [A8]) mais il existe plusieurs Met protégées de la dégradation du rumen fonctionnelles (Patton et al., 2010 ; Zanton et al., 2014). Aux Etats Unis la farine de sang est utilisée comme apport d'His, ce qui ne sera pas le cas en Europe. L'apport de Lys et de Leu peut être modulé par l'alimentation. De plus, il existe des Lys protégées de la dégradation du rumen qui font l'objet actuellement de recherches importantes par les partenaires privés pour améliorer leurs biodisponibilités. L'existence de Met protégées de la dégradation du rumen a permis de réaliser de nombreux essais, comprenant des apports à plus long terme que ce qui est permis par des perfusions digestives avec des vaches à différents stades de lactation (Zanton et al., 2014), c'est également le cas pour les Lys protégées (Robinson et al. 1999). Les résultats de ces essais devraient permettre de revoir les recommandations en ces deux AA avant de poursuivre pour affiner les recommandations pour les autres AA et réfléchir au mode d'expression le plus adéquat pour les AADI.

Concernant les apports, le calcul des apports des 16 AADI a été établi à partir d'une base de données comprenant 30 essais (133 rations de 1977 à 1990) où étaient mesurés les flux duodénaux en AA (Rulquin et al., 1998). Le principe des calculs d'apports AADI (en % des PDI) consiste à considérer deux fractions protéiques et leurs profils en AA respectifs : les protéines microbiennes associées au profil en AA microbiens, et les protéines digestibles dans l'intestin d'origine alimentaire (PDIA) associées au profil en AA de chaque aliment. Le profil en AA microbien est considéré comme invariant avec l'alimentation dans le système INRA (méta-analyse de Le Henaff, 1991 ; Rulquin et al., 2001b) comme dans le système NRC (2001). Ce calcul factoriel d'apport d'AA dans l'intestin avait été confronté sur ces 133 rations à des mesures de flux d'AA dans l'intestin. Ces mesures de flux intégraient l'apport de protéines endogènes au duodénum, apport qu'il a fallu inclure au calcul pour réaliser la comparaison entre les flux calculés et mesurés. La composition en AA des protéines endogènes au duodénum repose actuellement quasiment exclusivement sur un essai (Orskov et al., 1986). Des biais ont été constatés et des équations de corrections ont été introduites pour chacun des 16 calculs d'apports des 16 AA du système (Rulquin et al., 1998 ; 2001b). Dans le cadre de « Systali », les apports en PDI ont évolué du fait du modèle dynamique de digestion ruminale modifiant alors les proportions d'apports de protéines d'origines microbiennes (PDIM), alimentaires (PDIA) ainsi que l'estimation de l'apport de protéines endogènes au duodénum (Sauvant et Nozière, 2013). Au vu des nouvelles estimations des fractions de protéines intestinales calculées selon « Systali », il va donc être important de réviser les apports.

La première question sera donc de savoir si on peut améliorer la précision des apports en AADI en revoyant le mode de calcul.

Concernant les recommandations, dans le cadre de « Systali », l'avancée majeure concernant l'alimentation protéique est de proposer une efficacité variable d'utilisation des PDI pour les matières protéiques qui s'appliquera aux vaches à différents stades de lactation (Sauvant et al., 2016). Nos travaux dans REDNEX (Lemosquet et al. 2014 ; [C11]) montrent qu'il est possible de moduler cette efficacité en fonction de l'apport de LysDI et MetDI à différents niveaux d'apport PDI compris entre 90 g/kg à 120 g/kg de MS.

La première question sur les recommandations est donc de voir si les résultats acquis dans REDNEX pour Lys et Met sont généralisables sur une gamme d'apports de PDI plus large ou s'il faut borner ou moduler ce résultat.

Par ailleurs, la littérature suggère des effets plus importants sur la synthèse de lait de la correction du profil en LysDI en début de lactation ou sur des vaches hautes productrices (Patton et al., 2014). Il semble intéressant de voir dans quelle mesure l'apport de ces deux AA ne peut pas affecter le potentiel de production de lait, chez les primipares ou en début de lactation. Les lois de réponses à LysDI et MetDI de Rulquin et al. (1993), n'avaient été établies qu'à partir de perfusions post-ruminales de Lys et Met appliquées à des vaches en milieu de lactation. Des données de la littérature sont disponibles pour revoir ces lois de réponses à différents stades de lactation et à plus long terme.

La seconde question est donc d'analyser les réponses zootechniques à la correction du profil en LysDI et MetDI en fonction du stade de lactation.

L'effet des AA sur l'ingestion est très peu décrit dans la littérature (Lemosquet et al., 2012 : [C4] ; Lee et al., 2012 a, b) alors que la réduction de l'apport PDI (quantité totale d'AA) diminue fortement l'ingestion des animaux (Faverdin et al., 2003a,b). Cette réduction de l'ingestion peut s'expliquer par un mécanisme au niveau du rumen, comme par un déficit en Lys (Faverdin et al., 2003a,b) et en His (Lee et al., 2012 a, b). Cet effet de l'apport protéique est pris en compte dans le volet PDI du système de rationnement des vaches laitières. Connaître les effets des AA sur l'ingestion constitue donc une question de recherche importante à analyser pour pouvoir améliorer les recommandations en AA et imaginer un autre mode d'expression des apports d'AA en g/kg de MS.

Ma troisième question portera donc sur l'effet de Lys puis de l'His sur l'ingestion

Des travaux engagés dans REDNEX et de l'analyse de la littérature, il ressort qu'il est à la fois important de se reposer la question du mode d'expression des recommandations en AA et d'améliorer nos recommandations en Leu vis-à-vis d'Ile et Val, et en Thr. Cependant, nous avons également montré qu'apporter les 4 AA recommandés dans le système INRA (Lys, Met, His, Leu) augmentait autant l'efficacité protéique que l'apport des 9 AAI (Haque et al ; 2012a ; [A8]). Sachant la difficulté de manipuler par l'alimentation le profil en AA des rations chez les ruminants, j'ai priorisé d'aborder en premier une réflexion sur le mode d'expression. Le mode d'expression actuel des AADI repose sur le concept du premier AA limitant. Ce mode d'expression en % des PDI a cependant montré ses limites dans notre dernier essai (Haque et al., 2015 ; [A3]) car il ne reflète pas directement le besoin de l'animal en chaque AAI (g/kg MS) en particulier au regard de l'énergie apportée. De mes travaux antérieurs, il ressort une grande flexibilité de la glande mammaire à utiliser différents nutriments à des fins énergétiques incluant les AA du groupe II (Mephram et al., 1982) et des AANI (Lemosquet et al., 2009b ; Haque et al., 2015 ; [A3, A16]). Nous manquons encore de connaissances pour prédire les équilibres optimaux à apporter entre les AA du groupe I (dont font partie la Met et l'His), du groupe II (dont font partie la Lys et la Leu) et l'apport d'énergie. Les systèmes d'alimentation des monogastriques (Dourmad et al., 2008 ; Tesseraud et al., 2014 ; Van Milgen et Dourmad, 2015) comme le système CNCPS (Van Amburg et al., 2015) pour vaches laitières reposent sur des recommandations du premier AA limitant en fonction de l'apport d'énergie métabolisable ou nette (ex : g de Lys ou Met/unité d'énergie), et sur des ratios entre AA.

Ma quatrième question porte donc sur quelles recommandations en AAI proposer en fonction de l'apport d'énergie ?

Ces quatre questions seront abordées dans les 5 ans à venir par des projets dont nous avons obtenu un financement ou une promesse de financement. Ces données nous aideront à compléter mes bases de données pour continuer de traiter la question de la construction des recommandations et du choix du mode d'expression des AA.

La cinquième question est de connaître plus finement les recommandations dans d'autres AAI qu'His, Met, Lys et Leu.

La sixième question est de savoir comment combiner les AA pour pouvoir améliorer le système de recommandations. Il s'agit de la question finale.

Concernant, les effets des autres AAI que Lys, Met et His, mes travaux futurs ainsi que les publications à venir d'autres équipes de recherche vont nous fournir des éléments pour améliorer leurs recommandations. Il y a premièrement, la question des équilibres entre Leu, Ile et Val et des éventuels effets antagonistes (Haque et al., 2013 ; [A7]). En effet, ces 3 AA seraient catabolisés par les mêmes systèmes enzymatiques. Cette hypothèse est également soutenue par les travaux récents de Doelman et Cant (Doelman et al., 2014a,b). Cette question n'est pas sans lien avec l'apport d'énergie puisque ces AA sont oxydés dans la glande mammaire (Raggio et al ; 2006a ; Lapierre et al., 2012 ; [A9 ; A18]) et notre projet de thèse amènera des éléments sur cette question qui complèteront les travaux en cours des équipes de Doelman et Cant. La démarche d'étudier in vivo les effets d'apports individuels d'autres AAI (dont Trp et Thr), selon la démarche d'essai de bilan mammaire adoptée par Rulquin et Pislewski (2006a) a été reprise par d'autres chercheurs (Doelman et al., 1994a,b ; Iroshan et al., 2014). Leurs essais devraient être publiés dans les années à venir et permettre de compléter les résultats des résumés de Rulquin (Rulquin et Pisulewqki, 2000a, b et 2006b ; Rulquin et Delaby, 2006).

La question de savoir comment combiner les différentes recommandations est vraiment une question finale clef. Si les travaux de Schwab (1976) avaient bien suggéré une réponse des matières protéiques selon une loi des rendements décroissants à l'ajout un à un d'AAI, il reste difficile de savoir comment combiner, Met, Lys et His puis les autres AAI avec ces trois AA. Or, le concept du premier AA limitant est actuellement contesté comme pouvant s'appliquer aux vaches laitières par Hanigan (Hanigan et al., 2000) parce que l'application de ce concept n'a pas permis à l'auteur de modéliser le prélèvement mammaire et la production de protéines. L'hypothèse soutenue par l'auteur est que les travaux menés in vitro montrent que de nombreux AAI (Ile, Leu, Met et Thr) chez la vache laitière stimulent, selon un effet proche des hormones, les voies de signalisation de la production de protéines du lait (Arriola Apelo et al., 2014). J'ai choisi de ne pas aborder expérimentalement pour l'instant, la question très intéressante de la régulation par certains AAI des voies de signalisation de la synthèse protéique mammaire, parce qu'elle est actuellement très étudiée par les équipes d'Hanigan, de Doelman, de Cant et de Looor (Bionaz et al., 2011 ; Burgos et al., 2011a,b ; Doelman et al., 2014a,b ; Arriola Apelo et al., 2014) sans que les résultats s'accordent. Cependant, cette hypothèse de stimulation de la synthèse protéique m'a interpellée car elle permet, comme l'apport d'énergie, d'expliquer l'absence d'interaction entre apports PDI et apports d'AAI observée dans nos travaux. Le concept du premier AA limitant a néanmoins permis de développer des systèmes AA plus complets chez les monogastriques que sur les vaches laitières. Il a par exemple permis d'améliorer l'efficacité azotée en alimentation des porcs en croissance. Ce concept a aussi

montré des limites chez les monogastriques puisqu'en cas de carences importantes en un AA (Van_Milgen et al., 2012 ; Conde-Aguilera et al., 2014), on peut observer un changement de la nature des protéines déposées. L'hypothèse d'un changement de nature de protéines corporelles déposées dans le cadre du renouvellement tissulaire me paraît également une hypothèse importante pour les ruminants. Il faut savoir que de nouvelles dépenses PDI sont prises en compte dans « Systali », en particulier la production de protéines endogènes fécales (sécrétion de protéines endogènes dans l'iléon et renouvellement protéique) qui pourrait représenter jusqu'à 10 % des dépenses d'AA de la vache laitière (Sauvant et al., 2016 ; Patton et al., 2014 ; Lapierre et al., 2014a,b). Les variations de cette dépense pourraient expliquer pourquoi un profil plus riche en Thr semble nécessaire à haut niveau d'apport PDI pour la Thr (Haque et al., 2013 : [A7]). Mon collègue G. Cantalapiedra Hajar compte estimer par méta-analyse les besoins en AA des protéines endogènes fécales. L'agrégation de l'ensemble des travaux sur ces questions va permettre d'apprécier le degré de robustesse du concept du premier AA limitant pour choisir le mode d'expression des recommandations. Cette question du mode d'expression sera donc analysée tout au long de mes recherches.

2.2. La stratégie de recherche sur les AA

Je compte confier les questions nécessitant la réalisation d'essais de métabolisme à un étudiant en thèse dont j'assurerai l'encadrement. Mon travail personnel sera basé sur de la méta-analyse.

2.2.1. La stratégie de recherche sur les apports

Deux volets sont envisagés pour améliorer la prédiction des apports en AA intestinaux : le premier porte sur le mode de calcul d'une valeur AADI, le second sur l'acquisition de nouvelles valeurs pour les fourrages. Ma stratégie a consisté à commencer une méta-analyse pour appréhender les possibilités d'amélioration de la précision des valeurs AADI en changeant le mode de calcul. Nous avons constitué une base de données plus large pour comparer les apports intestinaux calculés et mesurés (de 1977 à nos jours, de 243 rations ; Panzuti, 2015 : [E1]) que la base de Rulquin et al. (1998 ; 133 rations, de 1977 à 1990). J'ai constitué un groupe de travail de chercheurs pour piloter le projet dont j'ai pu financer la première phase par un contrat de recherche (CR) avec un partenaire privé. Ce groupe est constitué de ma collègue J. Guinard-Flament (Lactation, Agrocampus Ouest) qui avait créé la première base de données lors de sa thèse (Rulquin et al., 1998), de D. Sauvant (AgroParisTech, UMR MoSAR) et P. Nozière (INRA, UMRH) les responsables du projet « Systali » et de G. Cantalapiedra-Hijar (INRA, UMRH). Les toutes premières analyses montrent que les équations de

correction proposées par Rulquin et al. (1998) peuvent être encore utilisées. Cependant, nos résultats montrent également qu'il est possible d'améliorer la précision des valeurs AADI (à moins de 3 % des PDI) en changeant un peu les coefficients des équations de correction des AA (Panzuti, 2015 : [E1]) sans changer le principe du modèle de calcul. C'est un premier travail qui doit aboutir d'ici 2 ans. De plus, à moyen terme, cette base va permettre de tester la robustesse et la précision d'autres modes de calcul et d'expression des AA. Je voudrais tester en particulier le mode d'expression en g/UFL, c'est-à-dire en g par unité d'énergie nette comme chez le porc en croissance ou dans le système de vaches laitière du CNCPS (Van Amburgh et al., 2015) ou en g/kg de MS (comme pourrait le faire le système NRC).

Il est également important d'améliorer la prédiction de la composition en AA des aliments qui intervient pour calculer la fraction intestinale liée aux protéines alimentaires PDIA. La caractérisation des concentrés se fait par l'alimentation des tables INRA AFZ monogastriques et ruminants, le nombre de données disponibles pour caractériser chaque matière première des tables augmente régulièrement. Par contre, personne hormis H. Rulquin n'alimentait la base fourrage (qui contient 1255 fourrages mais dont les valeurs AADI sont basées sur 116 fourrages de référence). J'ai proposé à deux partenaires privés sur les AA de nous caractériser les valeurs de 300 fourrages et matières premières (ex : pois protéagineux) du grand ouest pour renforcer la qualité de nos tables dans le cadre du projet «SOS PROTEIN » (DY+ Milk en Anglais, [AO1]). Ce projet est porté par les Régions Bretagne et Pays de Loire. Il est financé sur les fonds européens FEDER (2016-2020). Il a pour enjeu l'autonomie protéique accrue pour les élevages de l'ouest. J'ai la responsabilité d'un volet sur les AA avec un collègue de la Chambre d'Agriculture de Bretagne (R. Hérisset).

2.2.2. La stratégie de recherche sur les recommandations

Mes deux premières questions sur l'amélioration des recommandations en LysDI et MetDI quel que soit le niveau d'apport PDI et à l'échelle de phases clés de la lactation (début milieu et fin) seront traitées par méta-analyse. Je viens de finir de recalculer les paramètres d'apports PDI et UFL, AADI de « Systali » sur une base de données de réponses zootechniques contenant 116 publications (603 rations) d'essais d'apports de Met et de Lys (par perfusions digestives [Quiniou, 2014, [E6], ou apports de Met et Lys protégées de la dégradation du rumen. Cette base contient 36 publications où les traitements consistaient à étudier les interactions entre deux niveaux d'apports PDI et de Met ou de Lys et 71 publications avec des vaches en début de lactation. Je vais travailler en collaboration avec mes collègues de l'équipe Syslait de l'UMR PEGASE, P. Faverdin et L. Delaby qui travaillent pour

intégrer les prédictions des réponses zootechniques (ingestion, volume de lait, matières et taux, efficacité des PDI) à l'apport de PDI et UFL d'énergie nette dans le modèle SIRAR préfigurant le logiciel INRAtion. L'approche de réduction des apports PDI au travers d'une meilleure prise en compte des recommandations en LysDI et MetDI sera validée par des essais sur 12 exploitations pilotes du grand ouest dans le cadre du projet « SOS PROTEIN » ([AO1]).

Pour aborder la question de la régulation de l'ingestion, il me semble important de poursuivre la publication des résultats de REDNEX sur ce volet zootechnique, en particulier sur nos deux essais de zootechnie qui n'ont été publiés que sous forme de communication orale (Lemosquet al., 2012 et 2014 ; [C4 ; C11]). L'un des deux essais porte sur la régulation de l'ingestion. Nous avons observé une augmentation de l'ingestion à haut niveau d'apport PDI lorsque les profils étaient mal équilibrés (Lemosquet al., 2012 ; [C4]). Or les travaux de Faverdin et al. (2003a, b) suggéraient un effet possible du déficit en Lys des rations expliquant la réduction de l'ingestion toujours observée à bas niveau d'apport PDI. La limite de l'essai a été l'effectif faible (16 vaches aux pics de lactation) et le niveau d'apport bas PDI qui a été moins bas que prévu (99 g de PDIE/UFL au lieu de 95). Aussi, dans le cadre du projet « SOS PROTEIN » ([AO1]), un essai est également programmé. Il porte sur l'étude des effets de la Lys et la Met sur l'ingestion lorsque l'on réduit l'apport PDI. Pour poursuivre des travaux sur les effets à plus long terme de Lys et His sur l'ingestion, en particulier au début de lactation, je préfère attendre d'avoir des His protégées de la dégradation du rumen (au moins à des fins de recherches, Lee et al ; 2012a, b).

Pour engager une réflexion sur un changement des recommandations en acides aminés (AA), avec H. Lapierre nous comptons poursuivre nos travaux sur les interactions apports d'énergie et apports d'AA commencés lors de la thèse de G. Raggio afin d'acquérir plus de connaissances pour optimiser le profil en AAI selon l'énergie disponible. Nous avons obtenu une promesse de bourse de thèse CIFRE (bourse en partenariat avec une entreprise). La question de recherche de la thèse qui sera traitée porte sur comment l'apport d'énergie influence l'efficacité d'utilisation de la Met et de l'His au regard de la Lys et de la Leu pour la synthèse de lait. Notre première hypothèse est que trouver le bon équilibre entre les apports d'AA du groupe I et II (de Met et His vs. Lys et Leu) pourrait dépendre de l'apport d'énergie. En effet, ces AA du groupe II n'étant pas catabolisés par le foie mais oxydés dans la glande mammaire, ils peuvent servir à des fins énergétiques pour la glande mammaire. Ceci aurait des conséquences sur le prélèvement et la synthèse mammaire des AANI. A contrario, les AA du groupe I ne sont pas utilisés par la glande mammaire à des fins énergétiques mais requièrent une certaine quantité d'énergie pour stimuler la synthèse protéique mammaire. Notre seconde

hypothèse est que selon l'équilibre d'apport entre nutriments énergétiques et les AAI, la répartition de l'utilisation intra-mammaire des chaînes carbonées entre la synthèse d'AANI pour les protéines et les autres voies du métabolisme expliquerait les variations des autres constituants du lait (lactose et volume lait, matières grasses). Dans cette thèse, deux essais de métabolisme mammaire (un réalisé à Saint-Gilles et un à réaliser) et un essai de métabolisme hépatique et mammaires réalisé au Canada par H. Lapierre seront analysés afin d'appréhender le catabolisme des AA et la nature de l'énergie fournie à la mamelle (glucose, acétate, β -hydroxybutyrate ou « excès d'AA »). Associé à ce travail de thèse, une expérience sur chèvre est prévue afin qu'E. Chanat puisse analyser une hypothèse sur la synthèse des constituants du lait un peu différente de notre hypothèse 2. Il s'agira de savoir si l'augmentation conjointe des matières protéiques, des matières grasses (Broderick, 2003) et du lactose observée lorsque l'on augmente l'apport PDI (Lemosquet et al., 2010b ; [O4] ; Daniel et al., 2016) ne s'explique pas par les mécanismes de transports et sécrétions dans la cellule épithéliale mammaire (Chanat et al., 1999). De plus, des travaux de M. Boutinaud sont en cours pour analyser l'expression des gènes du métabolisme du glucose et du transport d'AA dans nos essais de métabolisme mammaire passés.

Pour tester d'autres modes d'expression des recommandations en AA et tenter de construire un système AADI factoriel à l'image du nouveau système PDI de « Systali » (intégrant les besoins en AA endogènes fécaux et urinaire, pour la production de phanères et de production de lait ; Sauvart et al., 2016), je vais procéder par méta-analyse, en m'appuyant sur la base de données créée pour étudier les recommandations en LysDI et MetDI. Par ailleurs pour mieux définir les recommandations en AA, nous pourrions aussi nous appuyer sur la base de données de métabolisme mammaire (Lemosquet et al., 2010) qui devrait s'enrichir de nouvelles publications (cf. résumé Doelman et al., 1994a,b et Iroshan et al., 2014) analysant l'effet spécifique de certains AA (His, Thr). En effet, avec ma collègue J Guinard-Flament (Guinard 1994), nous soutenons l'hypothèse que les paramètres de bilans mammaires tels que la clairance des AA ou leur taux d'extraction, les ratios prélèvements nets sur exportation dans le lait, permettent de mettre en évidence leur déficit ou leur excès comme le suggère la Figure 23 dans l'essai de Haque et al. (2015 : [A3]).

3. La compréhension des interactions entre les productions de lactose, de protéines et de matières grasses et des phénomènes de dilution des matières protéiques par le volume de lait

3.1. Les questions de recherche sur la synthèse des constituants du lait

Par rapport à mon sujet passé, du fait de la prise en charge des recommandations en AADI des vaches laitières, je ne pense pas traiter l'ensemble de la question de la régulation de la synthèse de tous les constituants majeurs du lait (protéines, lactose, acides gras) et de leurs interactions métaboliques. Je souhaite cependant poursuivre sur la compréhension de la variation du volume de lait, du taux de lactose et du taux protéique, en particulier au travers des effets des AA. L'augmentation de l'apport PDI accroît la production de lactose et le volume de lait. Dans le projet « Systali », le modèle de prédiction du volume de lait va dédier une fraction fixe de l'apport PDI à la production de lactose et du volume de lait. Les premières simulations montrent cependant que l'estimation du taux protéique n'est pas satisfaisante. Ces difficultés pour modéliser la variation des matières et des taux par l'alimentation viennent probablement du fait que leur régulation dépend de deux mécanismes, d'une part la régulation des activités de synthèse de protéines et de lactose et d'autre part de la régulation de la pression osmotique. Concernant les effets de dilution et la régulation osmotique, nous avons observé avec Haque et al., (2015 ;[A3]) ainsi que Doepel et Lapierre, 2010 que lorsque l'on module la nature des AAI apportés, le volume d'eau du lait et les matières protéiques peuvent augmenter sans augmenter la production de lactose. Dans notre essai (Haque et al., 2015 ; [A3]), la concentration en minéraux du lait avait augmenté ; données non publiées). Je souhaite donc travailler sur l'effet des apports individuels d'AA sur la variation des taux protéiques et du volume de lait. Il s'agira d'inclure la régulation via la composante osmotique sachant que les variations des électrolytes du lait (Na^+ , K^+ , Cl^-) ne sont pas encore bien établies. Mes questions seront donc :

Comment expliquer les augmentations ou non de synthèse de lactose et de volume de lait en réponse à l'apport d'AAI ?

La régulation de la pression osmotique explique-t-elle les variations interindividuelles de sécrétions de matières utiles (protéines et lactose) et de dilution par le volume d'eau ?

Il nous semble important d'un point de vue scientifique de renforcer au sein de l'équipe lactation, les travaux de recherche autour du métabolisme mammaire pour répondre aux enjeux d'amélioration

de la prédiction des matières et des taux par une demande de recrutement d'un jeune chargé de recherche. Avec le départ en retraite d'H. Rulquin, les forces pour analyser le métabolisme mammaire ont diminué dans l'équipe lactation. Ma collègue J. Guinard-Flament (enseignante chercheure) traite les questions de plasticité métabolique de la glande mammaire en réponse à la fréquence de traite. Elle aborde la question de la variabilité individuelle à ces réponses. Nous nous sommes intéressées à la régulation des prélèvements mammaires et de la synthèse de lait par les bilans d'organes, via la fréquence de traite (J. Guinard-Flament) et la nutrition (S. Lemosquet) et je continuerai sur le volet AA. M. Boutinaud (CR1) contribue à étudier la régulation des activités de synthèse des cellules épithéliales mammaires par l'étude de l'expression des gènes (ARNm) des cellules épithéliales mammaires excrétées dans le lait. E. Chanat (CR1) étudie la régulation des activités de transports intracellulaire dans la cellule épithéliale mammaire et la sécrétion du lait dans la lumière alvéolaire.

L'utilisation des nutriments dans les différentes voies de synthèse dépend à la fois du potentiel de production de l'animal, du statut homéorhétic et de l'apport de nutriments à l'animal (Drackley et al., 2006 ;) (Guinard-Flament et al., 2007). Le travail de J. Guinard-Flament et al. (2007) a très nettement montré que le volume de lait et la synthèse de lactose étaient dépendants de facteurs push extrinsèques à la mamelle (arrivées de nutriments) et de mécanisme de régulation interne à la mamelle (effet « pull »). Concernant les mécanismes « pull », j'ai soutenu dans mon bilan le point de vue que nous avons des vaches dont les mamelles n'exprimaient pas complètement leur potentiel de production des protéines du lait puisque les matières protéiques augmentaient toujours en réponse à l'apport de plus de nutriments glucoformateurs ou d'AAI. Mon hypothèse est que la synthèse protéique mammaire serait prioritaire, ce qui orienterait la partition de l'utilisation des nutriments énergétiques (acétate, β -Hydroxybutyrate et glucose) entre d'une part l'oxydation et la production d'ATP et d'autre part les synthèses de lactose, d'acides gras à chaînes courtes et moyennes et de triglycérides. Ma collègue J. Guinard-Flament a défendu dans son HDR, une autre hypothèse concernant la synthèse de matières grasses. En effet, les vaches qui récupèrent le plus leur potentiel de production de lait après un épisode de monotraite ou l'omission d'une traite sont celles qui diminuent le moins leur exportation de matières grasses pendant la monotraite (Laroque et al., 2012). Elle a également constaté une variabilité interindividuelle très forte en réponse à la monotraite (Guinard-Flament et al., 2011). Enfin, les travaux de méta-analyse à l'échelle de la lactation de J.B. Daniel (en thèse avec D. Sauvart et N. Friggens), suggèrent une priorité des mamelles à synthétiser des matières protéiques et des matières grasses en tout début de lactation mais à faire du volume de lait via le lactose au pic de lactation, ce qu'il attribue aux conséquences de

la sélection génétique. Il semble donc exister une flexibilité (Sauvant et Martin, 2010) métabolique des mamelles à faire varier les proportions des trois types de macro-constituants du lait synthétisés (protéines, lactose, acides gras synthétisés et triglycérides) et leur dilution par le volume d'eau. Cette flexibilité s'exercerait différemment selon les individus en fonction des contraintes liées à l'homéorhèse (stade de lactation) et à l'homéostasie (apport nutritionnel). Cependant il existe aussi des interdépendances entre les trois types de synthèses liées aux croisements dans l'utilisation des carbones entre ces voies, liées aux mécanismes de transports intracellulaires des éléments du lait et de leurs modes de sécrétions (Chanat et al., 1999) dans la lumière alvéolaire, et liées à la régulation de la pression osmotique. Ces liens métaboliques contraignent cette flexibilité.

Les questions de recherche pourraient être de mieux connaître les déterminants des trajectoires métaboliques conduisant à des modifications des synthèses en fonction de l'individu et, du stade de lactation (contraintes homéorhétiques).

Cette flexibilité métabolique peut s'exercer au niveau du prélèvement mammaire comme de l'utilisation intra-mammaire des nutriments. Elle peut être mesurée par la technique des bilans d'organes. Cette technique est invasive, elle ne permet pas de suivre un grand nombre d'individus. Il en est de même pour la technique de mesures de l'expression des gènes au travers l'étude des ARNm des cellules du lait (Boutinaud et al., 2015). Nous avons montré, par le passé, que l'analyse des métabolites énergétiques dans le lait pouvait donner quelques indications sur la partition des nutriments (Faulkner, 1980 ; Hurtaud et al., 2000 ; Rigout et al., 2003 ; Lemosquet et al., 2009b ; [A16 ; A24 ; A29]). Actuellement, il se développe des techniques de métabolomique dans le lait, en particulier par Résonance Magnétique Nucléaire (revue de Sunderkilde et al., 2013) et également par chromatographie couplée à la spectrométrie de masse (Meyrand et al., 2013). Il serait possible de détecter des métabolites du cycle de Krebs (Klein et al., 2013), de faire certains liens entre les métabolites sanguins et du lait (Maher et al., 2013) ainsi que de sélectionner (ou repérer les individus) à partir de ces métabolites (Maher et al., 2013). De plus, les approches de modélisation du type de celles développées par O. Abdou Arbi (2013 ; [TH1]) avec un formalisme d'analyse tel que la « Flux Balance Analysis » (Varma et Palsson, 1994) sont très adaptées pour analyser la flexibilité et la robustesse au sein d'un réseau métabolique. C'est pourquoi nous envisageons de monter un projet pour tester la faisabilité du sujet afin de préparer notre demande de poste sur l'étude systémique des voies de synthèse des constituants du lait par modélisation et approche métabolomique du lait.

3.2. Stratégie de Recherche

Concernant la compréhension des phénomènes de dilution des matières protéiques par le volume de lait, je travaille en collaboration avec plusieurs collègues dont A. Boudon (Alinut) responsable des recommandations en minéraux pour les vaches laitières et C. Hurtaud (Alinut). Le point de congélation du lait est une façon de mesurer l'osmolarité du lait puisqu'il dépend de la pression osmotique du lait selon la loi de Raoul. J'ai émis l'hypothèse que le point de congélation du lait pourrait nous servir à estimer l'osmolarité de la cellule et à déduire les concentrations des fractions Na^+ , K^+ et Cl^- du lait. La bibliographie des facteurs de variations du point de congélation du lait montre qu'il a augmenté au cours du temps en lien avec la sélection génétique. Il y aurait une variabilité interindividuelle (Henno et al., 2008). Mes questionnements sur la régulation par l'osmolarité du volume de lait et des taux de protéines et de lactose rejoignent une question qui remonte de la profession sur le point de congélation du lait. Nous avons une action au sein de l'axe L (lait) de l'Unité mixte de Technologie Recherche et Ingénieries en Elevage Laitier (UMT entre l'Institut de l'Elevage et l'UMR PEGASE, responsable C. Hurtaud, et M. Gelé, IDELE) autour du point de congélation (Hurtaud et al., 2015 : [C14]) qui est financée par le CNIEL. L'objectif de cette étude est donc de caractériser la gamme de variation du point de congélation du lait (indépendamment de tout mouillage du lait) et de mieux comprendre ces facteurs de variation. Ce projet va permettre de sonder l'importance de la régulation de l'osmolarité des laits dans la régulation du volume et des taux protéiques et de lactose et les phénomènes de dilution des laits à la fois au niveau des individus, du stade de lactation et en réponse au niveau d'apports alimentaires.

Concernant, l'approche métabolomique pour construire un sujet de recherche, la stratégie serait à partir d'un crédit incitatif PHASE, de tester la faisabilité méthodologique d'analyser à haut débit des métabolites du lait par RMN en s'appuyant sur la plateforme Biogenouest. Puis de monter un projet ANR avec l'équipe du Aarhus (Danemark) qui a développé cet outil (Sunerkilde et al., 2013) avec nos partenaires mathématiciens de l'IRISA finançant un premier travail de thèse. Nous pourrions nous appuyer sur les essais menés au Pin au Haras par L. Delaby et dans le projet ANR Deffilait de P. Faverdin, où un nombre important d'individus reçoivent sur des lactations entières des conduites alimentaires contrastées. Ces données seraient modélisées en partenariat avec mes collègues mathématiciens de l'IRISA (A. Siegel, CNRS, IRISA) puisque les approches par un formalisme d'analyse du type « Flux Balance Analysis » sont très adaptées pour étudier les réseaux métaboliques.

IV. REALISATION DE PROJETS SCIENTIFIQUES, COLLABORATIONS INTERNATIONALES

(Cf. Parties B.8 et B.9 de la liste des titre et travaux ...pages 32-33)

J'ai répondu et je réponds à différents appels d'offres (ANR en modélisation, Carnot ICSA 2011 [AO3], 2012, Crédit incitatives PHASE sur la Douleur ; projet Franco-Quebecquois [AO4] ; Projet France Agrimer).

J'ai suscité une collaboration avec H Lapierre (Agriculture et Agroalimentaire Canada, Lennoxville, Québec) en l'invitant en tant que rapporteur pour la thèse de S Rigout. Nous avons monté un projet de thèse (G Raggio) qui a été menée en cotutelle entre le département des sciences animales de la Faculté des sciences de l'Agriculture et de l'alimentation à l'Université Laval à Québec (Québec, Canada) et l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, France. Je continue toujours à collaborer avec Hélène Lapierre (Lapierre et al., 2013 : [CI1]) et un partenaire privé souhaite nous aider à monter un projet.

J'ai pris la responsabilité du volet sur l'effet des profils en AA dans le projet européen REDNEX [AO2], en remplacement d'Henri Rulquin (absent). J'ai contribué à complètement réorienter les questions sur ce volet du projet afin qu'elles soient plus en adéquation avec l'enjeu d'augmentation de l'efficacité azotée. Ce changement a été approuvé par les responsables du projet (CK Reynolds, et JL Peyraud responsables des WP3 et WP7 et A.M. Van Vuuren, responsable de REDNEX [AO2]). Cela m'a permis de développer un partenariat européen (Van vuuhren et al., 2014 : [O1]).

La prise en charge du travail sur les recommandations en AA sur les vaches laitières m'a permis de me créer un réseau de partenariat issu du privé, ce qui était très difficile avec mon sujet passé bien que certains contrats aient conduit à des publications à fort impact (Koopman et al., 2009 ; Van Loon et al., 2009 : [A13, A14]). Les partenaires privés sur les AA participent aux financements de mes questions de recherche (Bourses de Thèse de M.N. Haque dans le cadre projet européen REDNEX, [TH2] ; Projet « Systali » [CRI1]). Nous avançons sur la réflexion avec un partenaire pour monter un projet de bourse de Thèse CIFRE. Je travaille également avec plusieurs partenaires [CRI2 à CR5] sur les AA protégés de la dégradation ruminale. Avoir des AA protégés peut m'offrir de plus grandes possibilités expérimentales pour étudier la phase clef du début de lactation et l'impact des AA sur le potentiel de production de lait sur un plus grand nombre d'animaux en évitant d'utiliser des animaux fistulés du duodénum.

Je me suis beaucoup investie sur le montage du projet sur le point de congélation, projet France Agrimer déposé dans le cadre de l'axe Lait de l'UMT RIEL (animé par C. Hurtaud, Alinut UMR PEGASE et B. Roullier, Institut de L'Elevage). Je suis responsable de l'articulation globale des différentes questions et coordonnerai ce projet s'il est accepté. Je suivrai les expérimentations d'alimentation. Ce projet avait été bien validé par les rapporteurs lors de sa première soumission en 2013 mais n'avait pas été financé par l'organisme.

Je suis régulièrement sollicitée pour évaluer des projets scientifiques et canadiens (Natural Grant and Engineering Research Council). Je suis très sollicitée dans la relecture d'articles scientifiques dans de nombreux journaux scientifiques de rang A. J'ai par ailleurs été membre d'un comité de lecture d'un congrès international (ISRP en 2009) et des journées de notre département de recherche.

V. FORMATION A LA RECHERCHE, ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT, PRISE EN CHARGE DE RESPONSABILITES COLLECTIVES (Cf. partie B. 10 de la liste pages 33 à 35)

1. Formation à la recherche

J'ai encadré ou co-encadré 15 étudiants (du niveau BTS au doctorat) dont 4 étudiants en doctorat (cf. liste B.10). J'ai d'abord participé à l'encadrement de S Rigout [TH1], H. Rulquin assurant la stratégie du questionnement (HDR) de recherche. J'ai ensuite encadré la thèse de Gaston Raggio [TH2] dans le cadre d'une collaboration internationale avec H. Lapierre (Agriculture et agroalimentaire Canada). J'ai bénéficié du soutien et de l'expérience de J.L. Peyraud (HDR de la thèse et directeur de notre UMR) pour monter cette collaboration et coencadrer cette thèse avec Hélène Lapierre. J'ai aidé Hélène à concevoir le programme initial de la thèse. J'ai en particulier été à l'origine de l'étude sur les interactions entre apports de protéines et d'énergie ([A16, A18, A19, C7 et C8]). Par la suite, j'ai encadré la thèse de Muhammad Naveed ul Haque ([TH2], HDR : H. Rulquin). J'ai conçu le projet scientifique initial de la thèse et trouvé le financement auprès d'un partenaire privé pour compléter la bourse de thèse. Nous continuons de collaborer avec Naveed ([A3], [A7], [A8] et [C11]). Enfin, récemment, j'ai eu l'occasion de participer à l'encadrement de la thèse en mathématique d'Oumarou Abdou Arbi, je n'étais pas responsable de la thèse (HDR : A. Siegel ; [TH1]). J'ai trouvé extrêmement intéressant de le former sur les connaissances en biologie, lui me formant à la théorie des modes. J'ai monté une collaboration avec A. Siegel (CNRS, UMR IRISA à l'INRIA) et J. Bourdon (Université de

Nantes) avec J. Van Milgen (directeur de notre UMR) qui a réalisé un premier modèle stœchiométrique. Oumarou est venu faire un premier stage. Ses premiers travaux ont été reconnus au niveau d'une communication orale aux journées de notre département PHASE [C33]. Oumarou a alors obtenu en 2009 le prix Ibni pour son travail de recherche en bio-informatique sur « l'utilisation des réseaux métaboliques en nutrition », puis une bourse de thèse MRT. Ces quatre étudiants ont tous trouvé un emploi dès l'obtention de leur doctorat : Naveed (M.N. Haque) est professeur assistant à l'Université de Lahor, Pakistan ; Omarou Abdou Arbi est maître de conférence en informatique à l'université de Maradi à titre définitif, Niger ; Gaston Raggio a été maître de conférence au centre de recherches sur la production de lait bio en CDI à l'université de Guelph, Alfred, Canada avant de choisir de travailler dans le développement au Ghana ; Sophie Rigout travaille en recherche et développement dans le privé aux Etats-Unis.

Je crois en la formation par la recherche qui permet d'analyser un problème, formuler un questionnement, hiérarchiser des idées, et de communiquer pour faire partager ses idées à l'écrit comme à l'oral. Je souhaite rapidement démarrer un nouvel encadrement de thèse comme suggéré dans mon projet. Je veille particulièrement à ce que les étudiants s'approprient leur sujet et défendent leur point de vue scientifique dans leur mémoire et à l'oral, point de vue qui peut différer du mien, ce qui est toujours enrichissant. Je fais ou j'ai fait partie de 4 comités de thèse.

2. Activités d'enseignements

J'ai été très intéressée de participer au conseil de gestion du master BAPSA (Biologie Appliquée aux Productions et Sciences Animales). Depuis la création du master SAED (Science de l'Animal pour l'Élevage de Demain), j'ai donc cherché à augmenter mes activités d'enseignement en collaborant avec mes collègues enseignants J. Guinard-Flament, V. Lollivier et L. Montagne (équipes Lactation et Adaptation de notre UMR PEGASE). Je participe chaque année à 4 modules d'enseignement du Master SAED en Master 1 et 2 (M1 et M2), d'Agrocampus ouest et de l'Université de Rennes I et, du master IZ « Ingénierie Zootechnique » d'Agrocampus ouest (Cf. partie Curriculum Vitae [CV]). Je réalise en particulier les travaux dirigés de modélisation de la fonction de lactation dans le cadre du Module « Nutrition animale et métabolismes » ainsi que les travaux dirigés « Témoignage sur la Méta-analyse : un exemple de question traitée en physiologie. Comment l'augmentation de l'apport protéique (PDI) aux vaches augmente le volume de lait ? » (M2). J'anime la thématique « Approche du métabolisme à l'échelle d'un organe » dans le module « Analyse critique des méthodes d'étude du

vivant » de M2 (BAPSA : 6 h). En 2011, j'ai conçu et corrigé l'examen de cette unité de valeur. J'ai participé au Module (M2) « Adaptation des cellules et des tissus pour la robustesse animale ». Mon intervention portait sur « Le métabolisme mammaire et son importance pour la production laitière chez la vache laitière flexibilité - robustesse ». Je suis particulièrement motivée pour le module d'enseignement « analyse critique des méthodes » du M2 SAED. C'est un module difficile car les étudiants doivent s'approprier au travers de lecture d'articles scientifiques des méthodologies de mesures et faire preuve d'un esprit critique. Je trouve ce point très important, en particulier pour les étudiants qui vont être amenés à travailler dans les services de recherche et développement du privé sans faire de thèse. Il leur faut acquérir une méthode de lecture, de synthèse de la littérature scientifique rapide et un esprit critique. C'est pourquoi je participe aussi au module sur la méta-analyse, mon objectif étant de montrer qu'il n'est pas difficile de rassembler sur un graphique quelques données de la littérature pour répondre à une question de manière plus synthétique. De plus, j'ai participé au jury de soutenance de M2 du master SAED et j'ai été rapporteur de mémoires de M2 des masters BAPSA, SAED et IZ. Enfin, j'ai participé à la formation continue en 2013 « Base alimentation des vaches laitières » (6 h) avec J. Guinard-Flament, et A. Boudon. Par le passé, j'ai eu l'occasion de réaliser un cours international (cf. CV) sur l'utilisation des isotopes stables pour étudier le métabolisme du glucose. Il s'agissait d'un séminaire d'une semaine sur l'utilisation d'isotopes stables dans les études de nutrition s'adressant aux doctorants et post-doctorants au Wageningen Institute of Animal Sciences (Pays Bas).

Je souhaiterais à l'avenir pouvoir utiliser le modèle biochimique conçu par O Abdou Arbi disponible sur internet en libre accès (<http://nutritionalyzer.genouest.org/SupplementaryMaterial>) comme support pédagogique pour monter un cours sur l'étude du métabolisme et de sa flexibilité. Ce travail dirigé sera potentiellement plus ludique qu'un cours magistral sur les voies biochimiques de synthèse. Par ailleurs, je vais, en association avec R. Hérisset dans le cadre du projet « SOS PROTEIN » ([AO1]), avoir une action de formation auprès des acteurs du terrain (conseillers des chambres d'agriculture, contrôleurs laitiers, partenaires privés) afin de proposer des schémas types de complémentation en MetDI et LysDI pouvant réduire les apports en PDI dans les élevages laitiers.

3. Prise de responsabilités collectives

J'ai d'abord pris des responsabilités au niveau du laboratoire en étant Personne Compétente en Radioprotection (cf. CV) et actuellement je suis membre du comité du pilotage de la plateforme de

spectrométrie de masse du centre INRA Bretagne / Basse-Normandie. J'ai ensuite été membre élu de notre conseil de service et du conseil scientifique de notre département de recherche PHASE. J'ai aussi aminé un groupe de travail sur la modélisation de la glande mammaire. Actuellement mes responsabilités collectives au niveau de l'unité sont plus dans le domaine du partenariat. Au niveau du département et de l'INRA, j'ai choisi de m'investir dans le comité de rédaction de la revue INRA Productions Animales. Dans le cadre du projet européen REDNEX [AO2], j'ai pu m'aguerrir à la gestion de projets : j'ai coordonné le travail des techniciens animaliers de nos installations expérimentales avec celui des techniciens de laboratoire pour mener les 7 expériences. J'ai particulièrement apprécié ce travail de coordination et de communication auprès des équipes pour favoriser le bon déroulement du projet.

VI. CONCLUSIONS GENERALES

Je souhaite continuer à m'investir dans l'encadrement de doctorants, c'est pourquoi je suis candidate à l'Habilitation à Diriger des Recherches. L'encadrement d'étudiants en thèse et en stage de masters est une de mes motivations principales pour continuer le métier de chercheure. Je souhaite également continuer à m'investir dans l'enseignement.

Ce rapport m'a permis de faire un bilan de mes activités de recherche et de mes collaborations scientifiques. Mes résultats sont diffusés sous forme d'articles scientifiques, sous forme de revues dans des congrès internationaux en particulier dans des communications longues en tant qu'invitée. J'ai 32 publications de rang A dont 9 en premier auteur, 5 en dernier auteur et 7 en second auteur. De plus, j'ai publié 11 articles dans les 5 dernières années. Je suis particulièrement reconnue pour mes travaux sur le métabolisme du glucose et le métabolisme mammaire. J'ai enfin participé à 5 chapitres d'ouvrage avec comité de lecture dont deux en premier auteur et un en dernier auteur. Mes premiers travaux sur les AA réalisés dans le cadre du projet REDNEX ont été appréciés par les membres du projet. Je m'attache beaucoup à communiquer et à publier sur ce sujet. Le fil conducteur de mes travaux a toujours été la compréhension des variations de volume et de composition du lait par la nutrition et le métabolisme. Cependant, j'ai pu au cours du temps développer des approches beaucoup plus systémiques (de la réponse zootechnique à l'alimentation à l'étude d'un point particulier du métabolisme mammaire). Je dispose ainsi d'un panel large de compétences et de méthodologie pour étudier l'alimentation et le métabolisme (méta-analyses, modélisation, techniques d'études du métabolisme). J'apprécie particulièrement de pouvoir changer de niveaux d'approche pour répondre à une question ; participer à un volet de la conception d'un système d'alimentation des ruminants m'ouvre à des nouvelles questions de recherches sur le métabolisme et me permet de hiérarchiser ces questions. Je me suis construite un partenariat scientifique international public et privé. Travailler avec ces deux types de partenaires qui portent des enjeux académiques, sociétaux ou économiques est une deuxième motivation très importante à la continuation de mon métier de chercheure. Je pense avoir les compétences pour former des étudiants par la recherche académique en vue d'une insertion dans le monde de la recherche et du développement privé.

Ce rapport a enfin permis de préparer les jalons de deux projets de recherches ambitieux. L'un porte les recommandations en Acides Aminés Digestibles dans l'Intestin. L'autre porte sur les réseaux métaboliques ; il pourrait être proposé à un jeune chercheur. Ces projets permettront d'aborder de

nouveaux enjeux tels que l'efficacité alimentaire au sens large, la robustesse de l'animal sur la lactation ou la prise en compte de la variabilité des animaux pour la nutrition de précision ou la sélection génétique.

VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alais, C. 1984. La constitution du lait. Première Partie : le Lait et les produits dérivés. Pages 29–35 dans : C. Alais, ed. Edition SEPIAC, Paris, France.
- Annisson, E. F. 1983. Metabolite utilization by the ruminant mammary gland. Pages 399–435 in Biochemistry of Lactation. T. B. Mepham, ed. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Netherlands.
- Armentano, L. E. 2005. Ruminant hepatic metabolism of volatile fatty acids, lactate and pyruvate. *J. Nutr.* 122:838–842.
- Arriola Apelo, S. I., J. R. Knapp, et M. D. Hanigan. 2014. Invited review: current representation and future trends of predicting amino acid utilization in the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 97:1–98.
- Aschenbach, J. R., N. Kristensen, S. S. Donkin, H. M. Hammon, et G. B. Penner. 2010. Gluconeogenesis in Dairy Cows: the secret of making sweet milk from sour dough. *Life.* 62:869–877.
- Bach, A., G. B. Huntington, S. Calsamiglia, et M. D. Stern. 2000. Nitrogen metabolism of early lactation cows fed diets with two different levels of protein and different amino acid profiles. *J. Dairy Sci.* 83:2585–2595.
- Baird, G. D., M. A. Lomax, H. W. Symonds, et S. R. Shaw. 1980. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows in vivo in relation to lactation and nutrient supply. *Biochem. J.* 186:47–57.
- Baird, G. D., J. G. Van der Walt, et E. N. Bergman. 1983. Whole-body metabolism of glucose and lactate in productive sheep and cows. *Br. J. Nutr.* 50:249–265.
- Ballard, F. J., O. H. Fishell, et I. G. Jarrett. 1972. Effects of carbohydrate availability on lipogenesis in sheep. *Biochem. J.* 226:193–200.
- Bauman, D. E., D. L. Ingle, R. W. Mellenberger, et C. L. Davis. 1973. Factor affecting in vitro lipogenesis by bovine mammary tissue slices. *J. Dairy Sci.* 56:1520–1525.
- Bauman, D. E., et W. B. Currie. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation : a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63:1514–1529.

- Bauman, D. E., et C. L. Davis. 1974. Biosynthesis of milk fat. Pages 31–75 in *Lactation a Comprehensive Treatise. Biosynthesis and Secretion of milk - Diseases; Volume II*. B. L. Larson et V. R. Smith, ed. Academic Press, London, UK.
- Bédère, N., L. Delaby, V. Ducrocq, S. Leurent-Colette, et C. Disenhaus. 2016. Towards improved post-partum cyclicity of primiparous dairy cows: effects of genetic merit for 13 production traits under contrasted feeding systems. *J. Dairy Sci.* (épreuve).
- Bequette, B. J. 2003. Amino acid metabolism in animals: an overview. Pages 87–99 in *Amino Acids in Animal Nutrition*. Second edition. J. P. H. D'Mello, ed. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Bequette, B. J., M. D. Hanigan, A. G. Calder, C. K. Reynolds, G. E. Lobley, et J. C. MacRae. 2000. Amino acid exchange by the mammary gland of lactating goats when Histidine limits milk production. *J. Dairy Sci.* 83:765–775.
- Bequette, B. J., M. D. Hanigan, et H. Lapierre. 2003. Mammary uptake and metabolism of amino acids by lactating ruminants. Pages 347–365 in *Amino Acids in Animal Nutrition*. Second edition. J. P. F. D'Mello, ed. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Bequette, B. J., C. E. Kyle, L. A. Crompton, S. E. Anderson, et M. D. Hanigan. 2002. Protein metabolism in lactating goats subjected to the insulin clamp. *J. Dairy Sci.* 85:1546–1555.
- Bequette, B. J., C. E. Kyle, L. A. Crompton, V. Buchan, et M. D. Hanigan. 2001. Insulin regulates milk production and mammary gland and hind-leg amino acid fluxes and blood flow in lactating goats. *J. Dairy Sci.* 84:241–255.
- Bequette, B. J., N. E. Sunny, S. W. El-kadi, et S. L. Owens. 2006. Application of stable isotope and mass isotopomer distribution analysis to the study of intermediary metabolism of nutrients. *J. Anim. Sci.* 84(E.Suppl.):E50–E59.
- Bergman, E. N., et R. N. Heitmann. 1978. Metabolism of amino acid by gut, liver, kidneys and peripheral tissues. *Federation Proc.* 37:1228–1232.
- Bernard, L., J. Rouel, C. Leroux, A. Ferlay, Y. Faulconnier, P. Legrand, et Y. Chilliard. 2005. Mammary lipid metabolism and milk fatty acid secretion in Alpine goats fed vegetable lipids. *J. Dairy Sci.* 88:1478–1489.

- Bickerstaffe, R., E. F. Annison, et J. L. Linzell. 1974. The metabolism of glucose, acetate, lipids and amino acids in lactating dairy cows. *J. Agric. Sci. (Camb.)*. 82:71–85.
- Bionaz, M., et J. J. Looor. 2011. Gene Networks driving bovine mammary protein synthesis during the lactation cycle. *Bioinformatics and Biology insights*. 2011:83–98.
- Boutinaud, M., L. Hervé, et V. Lolliver. 2015. Mammary epithelial cells isolated from milk are a valuable, non-invasive source of mammary transcript. *Frontiers In Genetics* 6:1–12.
- Burgos, S. A., et J. P. Cant. 2010a. IGF-1 stimulates protein synthesis by enhanced signaling through mTORC1 in bovine mammary epithelial cells. *Domest. Anim. Endocrinol.* 38:211–221.
- Burgos, S. A., M. Dai, et J. P. Cant. 2010b. Nutrient availability and lactogenic hormones regulate mammary protein synthesis through the mammalian target of rapamycin signaling pathway. *J. Dairy Sci.* 93:153–161.
- Broderick, G. A. 2003. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:1370–1381.
- Broderick, G. A., M. J. Stevenson, et R. A. Patton. 2009. Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:2719–2728.
- Brockman, R. P., et B. Laarveld. 1986. Hormonal regulation of metabolism in ruminants; a review. *Livest. Prod. Sci.* 14:313–334.
- Brockman, R. P. 1993. Glucose and short-chain fatty acid Metabolism. Pages 248–265 in *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. J. M. Forbes et J. France, ed. CAB International, Cambridge, UK.
- Broster, W. H. 1973. Protein-energy interrelationships in growth and lactation of cattle and sheep. *Proc. Nutr. Soc.* 32:115–112.
- Brun-Lafleur, L., L. Delaby, F. Husson, et P. Faverdin. 2010. Predicting energy x protein interaction on milk yield and composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:4128–4143.

- Cabrita, A. R. J., R. J. Dewhurst, D. S. P. Melo, J. M. Moorby, et A. J. M. Fonseca. 2011. Effects of dietary protein concentration and balance of absorbable amino acids on productive responses of dairy cows fed corn silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 94:4647–4656.
- Calder, A. G., K. E. Garden, S. E. Anderson, et G. E. Lobley. 1999. Quantitation of blood and plasma amino acids using isotope dilution electron impact gas chromatography-mass spectrometry with U-¹³C amino acids as internal standards. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 13:2080–2083.
- Cant, J. P., R. Berthiaume, H. Lapierre, P. H. Luimes, B. W. McBride, et D. Pacheco. 2003. Responses of the bovine mammary glands to absorptive supply of single amino acids. *Can. J. Anim. Sci.* 83:341–355.
- Cant, J. P., E. J. DePeters, et R. L. Baldwin. 1993. Mammary amino acid utilization in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. *J. Dairy Sci.* 76:762–774.
- Castillo, M. J., A. J. Scheen, M. R. Letiexhe, et P. J. Lefèbvre. 1994. How to measure insulin clearance. *Diabetes-Metab. Rev.* 10:119–150.
- Chanat, E., P. Martin, et M. Ollivier-Bousquet. 1999. Alpha(S1)-casein is required for the efficient transport of beta- and kappa-casein from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus of mammary epithelial cells. *Journal of Cell Science.* 112:3399–3412.
- Chatellier, V., B. Lelyon, et G. You. 2013. Le secteur laitier français à la croisée des chemins. *INRA Prod. Anim.* 26:77–100.
- Chen, X. B., E. R. Orskov, et F. D. D. Hovell. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants - endogenous excretion, differences between cattle and sheep. *British. Journal of Nutrition.* 63:121–129.
- Chilliard, Y. 1987. Revue bibliographique : variations quantitatives et métabolisme des lipides dans les tissus adipeux et le foie au cours du cycle gestation-lactation 2e partie : chez la brebis et la vache. *Reprod. Nutr. Dev.* 27:327–398.
- Chilliard, Y. 1993. Adaptations métaboliques et partage des nutriments chez l'animal en lactation. Pages 431–475 in *Biologie de la Lactation*. J. Martinet et L. M. Houdebine, ed. INSERM/INRA editions, Versailles, France.

- Chilliard, Y., A; Ferlay, et M. Doreau. 2001. Contrôle de la qualité nutritionnelle des matières grasses du lait par l'alimentation des vaches laitières : acides gras trans, polyinsaturés, acides linoléique conjugué. *INRA Prod. Anim.* 14:323–335.
- Clark, J. H., H. R. Spires, R. G. Derrig, et M. R. Bennink. 1977. Milk production, nitrogen utilization and glucose synthesis in lactating cows infused postruminally with sodium caseinate and glucose. *J. Nutr.* 107:631–644.
- Colmenero, J. J. O., et G. A. Broderick. 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:1704–1712.
- Conde-Aguilera, J. A., C. Cobo-Ortega, Y. Mercier, S. Tesseraud, et J. Van Milgen. 2014. The amino acid composition of tissue protein is affected by the total sulfur amino acid supply in growing pigs. *Animal.* 8:401–409.
- Coulon, J. B., C. Hurtaud, B. Remond, et R. Vérité. 1998. Facteurs de variation de la proportion de caséines dans les protéines du lait de vache. *INRA Prod. Anim.* 11:299–310.
- Cuttulic, E., P. Faverdin, N; Edouard, J-L., et Peyraud. 2013. Report on the final validation of the shared data basis on N balance and Report of simulation to quantify the effect of the main factors affecting N balance at cow level. Collaborative Project Seventh Framework Programme. 116 p.
- Daniel, J.B., N.C. Friggens, P. Chapoutot, H. Van Laar, et D. Sauvant. 2016. Milk yield and milk composition responses 1 to change in predicted net energy and metabolizable protein: A meta-analysis. *Animal* (en revision avec modifications mineures).
- Drackley, J.K., S. S. Donkin, et C. K. Reynolds. 2006. Major advances in fundamental dairy cattle nutrition. *J. Dairy Sci.* 89:1324–1336.
- De Boer, G., et J. J. Kennelly. 1989. Effect of somatotropin and dietary protein concentration on hormone and metabolite responses to single injections of hormones and glucose. *J. Dairy Sci.* 72:429–435.
- Debras, E., J. Grizard, E. Aina, S. Tesseraud, C. Champredon, et M. Arnal. 1989. Insulin sensitivity and responsiveness during lactation and dry period in goats. *Am. J. Physiol.* 256:E295–E302.

- De Fronzo, R. A., J. D. Tobin, et R. Andres. 1979. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.* 6:E214–E223.
- De Jong, A. 1982. Patterns of plasma concentrations of insulin and glucagon after intravascular and intraruminal administration of volatile fatty acids in the goat. *J. Endocrinol.* 92:357–370.
- Delaby, L., Leurent - Colette, S., et Gallard, Y. 2012. Quelle vache pour quel système ? Satellite 3R Renc. Rech. Ruminants., CASDAR Genesys. 5/12/2012.
- Dinn, N. E., J. A. Shelford, et L. J. Fisher. 1998. Use of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System and rumen-protected lysine and methionine to reduce nitrogen excretion from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:229–237.
- Doelman, J., R. V. Curtis, M. Carson, J. J. M. Kim, J. A. Metcalf, et J. P. Cant. 2015. Essential amino acid infusions stimulate mammary expression of eukaryotic initiation factor 2B ϵ but milk protein yield is not increased during an imbalance. *J. Dairy Sci.* 98:4499–4508.
- Doelman, J., R. V. Curtis, M. Carson, J. J. M. Kim, J. A. Metcalf, et J. P. Cant. 2014a. Lysine and branched-chain amino acid deficiencies decrease abundances of S6K and eIF2B ϵ in the mammary glands of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92 E-suppl.1:205 (abstr.).
- Doelman, J., R. V. Curtis, M. Carson, J. J. M. Kim, J. P. Cant, et J. A. Metcalf. 2014b. Milk protein synthesis is regulated by lysine and branched chain amino acid deficiencies in lactating bovine mammary glands. *J. Dairy Sci.* 92 E-suppl.1:205.
- Doepel, L., et H. Lapierre. 2010. Changes in production and mammary metabolism of dairy cows in response to essential and nonessential amino acid infusions. *J. Dairy Sci.* 93:3264–3274.
- Doepel, L., et H. Lapierre. 2011. Deletion of arginine from an abomasal infusion of amino acids does not decrease milk protein yield in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 94:864–873.
- Doepel, L., D. Pacheco, J. J. Kennelly, M. D. Hanigan, I. F. Lopez, et H. Lapierre. 2004. Milk protein synthesis as a function of amino acid supply. *J. Dairy Sci.* 87:1279–1297.
- Dourmad, J. Y., M. Etienne, A. Valancagne, S. Dubois, J. Van Milgen, et J. Noblet. 2008. InraPorc: A model and decision support tool for the nutrition of sows. *Animal Feed Science and Technology.* 143:372–386.

- Dourmad, J. Y., Y. Henry, D. Bourdon, N. Quiniou, et D. Guillou. 1993. Effect of growth potential and dietary input on growth performance carcass characteristics and nitrogen output in growing-finishing pigs. Pages 206 –211 in Proceeding Congress on Nitrogen Flow in Pig Production and Environmental Consequences. Wageningen, the Netherlands.
- Efendic, S., E. Cerasi, et R. Luft. 1974. Quantitative study on the potentiating effect of arginine on glucose-induced insulin response in healthy, prediabetic, and diabetic subjects. *Diabetes*. 23:161–171.
- Faulkner, A. 1980. The presence of cellular metabolites in milk. *Biochim. Biophys. Acta* 630:141–145.
- Faverdin, P. 1985. Régulation de l'Ingestion des Vaches Laitières en Début de Lactation. Thèse de doctorat soutenue à Institut National Agronomique de Paris_Grignon, France. p 102.
- Faverdin, P., D. M'hamed, et R. Vérité. 2003a. Effects of metabolizable protein on intake and milk production of dairy cows independent of effects on ruminal digestion. *Anim. Sci.* 76:137–146.
- Faverdin, P., D. M'hamed, M. Rico-Gomez, et R. Vérité. 2003b. Protein nutrition affects feed intake in dairy cows. *Productions Animales*. 16:27–37.
- Fraser, D. L., E. R. Orskov, F. G. Whitelaw, et M. F. Franklin. 1991. Limiting amino-acids in dairy-cows given casein as the sole source of protein. *Livestock. Production. Science*. 28:235–252.
- Faulkner A., et M. Peaker. 1987. 16. Regulation of mammary glucose metabolism in lactation. In *The mammary Gland: Development, Regulation and Function*. M.C Neville et C.W. Daniel ed. Plenum Press. New-York and London. pp. 535–562.
- Glasser, F., Ferlay A., M. Doreau, P. Schmidely, D. Sauvant, et Y. Chilliard. 2008. Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: a meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. *J. Dairy Sci.* 91:2771–2785.
- Gloaguen, M. 2012. Identification des acides aminés limitants secondaires pour la croissance des porcelets dans des régimes à basse teneur en protéines et des mécanismes de régulation de la consommation volontaire lors d'une carence en valine. Thèse de doctorat de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agro-alimentaires, Horticoles et du paysage, spécialité : Biologie et Agronomie soutenue à Agrocampus Ouest sous le label de l'Université Européenne de Bretagne dans l'école doctorale Vie-Agro-Santé (VAS). 196 p.

- Gloaguen, M., N. Le Floc'h, L. Brossard, R. Barea, Y. Primot, E. Corrent, et J. Van Milgen. 2011. Response of piglets to the valine content in diet in combination with the supply of other branched-chain amino acids. *Animal*. 5:1734–1742.
- Goelzer, A., et V. Fromion. 2011. Bacterial growth rate reflects a bottleneck in resource allocation. *Biochimica. et Biophysica. Acta-General. Subjects*. 1810:978–988.
- Griinari, J. M., D. A. Dwyer, M. A. McGuire, D. E. Bauman, D. L. Palmquist, et K. V. V. Nurmela. 1998. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:1251–1261.
- Grizard, J., C. Champredon, E. Aina, C. Sornet, et E. Debras. 1988. Metabolism and action of insulin glucagon in goat during lactating and dry period. *Horm. Metab. Res.* 20:71–76.
- Guinard, J. 1994. Effet de la disponibilité des acides aminés sur le prélèvement des nutriments par la glande mammaire chez la vache laitière. U.F.R. Sciences de la vie et de l'Environnement, Docteur de l'Université de Rennes I. Mention : Sciences Biologiques. Université de Rennes I. 79 p.
- Guinard-Flament, J., E. Delamaire, P. Lambertson, et J. L. Peyraud. 2007. Adaptations of mammary uptake and nutrient use to once-daily milking and feed restriction in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:5062–5072.
- Guinard, J., H. Rulquin, et R. Vérité. 1994. Effect of graded levels of duodenal infusions of casein on mammary uptake in lactating cows. 1. Major nutrients. *J. Dairy Sci.* 77:2221–2231.
- Guinard-Flament, J., Y. Gallard, et H. Larroque. 2011. Lactose in blood plasma and the ability of dairy cows to tolerate once-daily milking in terms of milk loss and milk recovery. *J. Dairy Sci.* 94 :3446–3454.
- Guinard, J., et H. Rulquin. 1995. Effects of graded amounts of duodenal infusions of methionine on the mammary uptake of major milk precursors in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78:2196–2207.
- Gumaa, K. A., A. L. Greenbaum, et P. McLean. 1973. Adaptative changes in satellite systems related to lipogenesis in rat and sheep mammary gland and in adipose tissue. *European Journal of Biochemistry.* 34:188–198.

- Hanigan, M. D., et R. L. Baldwin. 1994. A mechanistic model of mammary gland metabolism in the lactating cow. *Agricultural Systems*. 45:369–419.
- Hanigan, M. D., J. P. Cant, D. C. Weakley, et J. L. Beckett. 1998a. An evaluation of postabsorptive protein and amino acid metabolism in the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 81:3385–3401.
- Hanigan, M. D., J. France, L. A. Crompton, et B. J. Bequette. 2000. Evaluation of a representation of the limiting amino acid theory for milk protein synthesis. Pages 225–232 in *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals*. J. P. McNamara, J. France, and D.E. Beever, ed. CABI, Wallingford, UK.
- Hanigan, M. D., J. France, D. Wray-cahen, D. E. Beever, G. E. Lobley, L. Reutzel, et N. E. Smith. 1998b. Alternative models for analyses of liver and mammary transorgan metabolite extraction data. *Br. J. Nutr.* 79:63–78.
- Hanigan, M. D., J. France, S. J. Mabjeesh, W. C. McNabb, et B. J. Bequette. 2009. High rates of mammary tissue protein turnover in lactating goats are energetically costly. *J. Nutr.* 139:1118–1127.
- Harper, A. E., R. H. Miller, et K. P. Block. 1984. Branched-chain amino acid metabolism. *Annual Review of Nutrition*. 4:409–454.
- Henno, M., M. Ots, I. Joudu, T. Kaart, et O. Kart. 2008. Factors affecting the freezing point stability of milk from individual cows. *International dairy Journal*. 18:210–215.
- Henry, Y. 1993. Affinement du concept de la protéine idéale pour le porc. *INRA Prod. Anim.* 6:199–212.
- Hertelendly, F., K. Takahashi, L. J. Machlin, et D. M. Kipnis. 1970. Growth hormone and insulin secretory responses to arginine in the sheep, pig, and cow. *Gen. Comp. Endocrinol.* 14:72–77.
- Hocquette, J. F., et M. Balage. 1996. Facilitate glucose transporters in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 55:221–236.
- Hove, K. 1978a. Maintenance of lactose deficiency in lactating goats. *Acta Physiol. Scand.* 103:173–179.

- Hove, K. 1978b. Insulin secretion in lactating cows: responses to glucose infused intravenously in normal, ketonemic, and starved animals. *J. Dairy Sci.* 61:1407–1413.
- Huhtanen, P., A. Vanhatalo, et T. Varvikko. 2002. Effects of abomasal infusions of histidine, glucose, and leucine on milk production and plasma metabolites of dairy cows fed grass silage diets. *J. Dairy Sci.* 85:204–216.
- Huntington, G. B. 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75:852–867.
- Hurtaud, C., H. Rulquin, et R. Vérité. 1993. Effect of infused volatile fatty acids and caseinate on milk composition and coagulation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3011–3020.
- Hurtaud, C., H. Rulquin, et R. Vérité. 1998a. Effect of graded duodenal infusions of glucose on milk composition and composition of milk from dairy cows.1. Diets based on corn silage. *J. Dairy Sci.* 81:3239–3247.
- Hurtaud, C., H. Rulquin, et R. Vérité. 1998b. Effect of level and type of energy source (volatile fatty acids or glucose) on milk yield, composition and coagulating properties in dairy cows. *Reprod. Nutr. Dev.* 38:315–330.
- INRA. 1978. Azote. Pages 89 -1 28. Dans : *Alimentation des Ruminants*. R. Jarrige, ed. INRA publication, Versailles, France.
- INRA. 1988. 4. Nutrition Azotée. Page 76 – 93. Dans : *Alimentation des Bovins Ovins & Caprins*. R. Jarrige, ed. INRA publication, Versailles, France.
- INRA. 2007. *Alimentation des Bovins Ovins et Caprins : Besoins des animaux - Valeurs des aliments - Tables INRA 2007*. INRA ed., Publishers Quae, Paris, France.307 p.
- Iroshan, H., H. Lapierre, et L. Doepel. 2014. Effect of a limited supply of phenylalanine, threonine, and tryptophan on mammary metabolism of dairy cows. *J Dairy Sci.* 97: J. Dairy Sci. 92 E-suppl.1:751. (Abstr.)
- Kaufmann, W., et H. Hagemeister. 1987. Composition of milk. Pages 107–171 in *World Animal Science, C3 : Dairy cattle production*. H. O. Gravert, ed. Elsevier science Publishers B.V., Amsterdam.

- Klein, M. S., M. F. Almstetter, N. Nurnberger, G. Sigl, W. Gronwald, S. Wiedemann, K. Dettmer, et P. J. Oefner. 2013. Correlations between Milk and Plasma Levels of Amino and Carboxylic Acids in Dairy Cows. *Journal of Proteome. Research.* 12:5223–5232.
- Korhonen, M., A. Vanhatalo, et P. Huhtanen. 2002. Evaluation of isoleucine, leucine, and valine as a second-limiting amino acid for milk production in dairy cows fed grass silage diet. *J. Dairy Sci.* 85:1533–1545.
- Kreikemeier, K. K., et D. L. Harmon. 1995. Abomasal glucose, maize starch and maize dextrin infusions in cattle : small-intestinal disappearance, net portal glucose flux and ileal oligosaccharide flow. *Br. J. Nutr.* 73:763–772.
- Kristensen, N. B., et D. L. Harmon. 2006. Splanchnic metabolism of short-chain fatty acids in the ruminant. Pages 249–265 in *Ruminant physiology, Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress.* K. Sejrsen, T. Hvelplund, and M. O. Nielsen, ed. Wageningen Academic publishers.
- Kuhara, T., K. Katoh, S. Oda, A. Ohneda, et Y. Sasaki. 1992. Responses of metabolic hormones to prolonged intraduodenal infusion of amino acids in sheep. *Anim. Sci. Technol. (Jpn.).* 63:1123–1133.
- Laarveld, B., D. A. Christensen, et R. P. Brockman. 1981. The effect of insulin on net metabolism of glucose and amino acids by the bovine mammary gland. *Endocrinology.* 108:2217–2221.
- Lacasse, P., V. Lolliver, F. Dessauge, R.M. Bruckmaier, S. Ollier, et M. Boutinaud. 2014. New developments of the galactopoietic of prolactin in dairy ruminants. *Domest. Anim. Endocrinol.* 43:154–160.
- Lapierre, H., J. P. Blouin, J. F. Bernier, C. K. Reynolds, P. Dubreuil, et G. E. Lobley. 2002. Effect of supply of metabolizable protein on whole body and splanchnic leucine metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:2631–2641.
- Lapierre, H., L. Doepel, D. Pachecco, et D. Ouellet. 2014a. Amino acid requirement and post-absorptive metabolism in cattle: implications for ration formulation. Pages 166–178 dans : 25th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium. February 4-5, 2014. Hackman T.,

- Lanscater, P., Nelson C. eds. Department of Animals Sciences, University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences, Gainesville, Florida.
- Lapierre, H., D. Ouellet, A. Fournier, et D. Pellerin. 2014b. Comment maximiser l'utilisation de l'azote des vaches laitières: répercussions environnementales et monétaires. Pages 36-53 dans : 38^{ème} symposium sur les bovins laitiers, 5 Novembre 2014, Saint-Hiacinthe, Quebec, Canada. Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec, Quebec, Canada.
- Larroque, H., Y. Gallard, S. Barbey, L. Delaby, C. Robert-Ranie, D. Pomies D., et J. Guinard-Flament. 2011. Premiers phénotypes de la tolérance à la monotraite chez les vaches laitières. Renc. Rech. Ruminants 18:352 (abstr).
- Lee, C., A. N. Hristov, T. W. Cassidy, K. S. Heyler, H. Lapierre, G. A. Varga, M. J. de Veth, R. A. Patton, et C. Parys. 2012a. Rumen-protected lysine, methionine, and histidine increase milk protein yield in dairy cows fed a metabolizable protein-deficient diet. *J. Dairy Sci.* 95:6042–6056.
- Lee, C., A. N. Hristov, K. S. Heyler, T. W. Cassidy, H. Lapierre, G. A. Varga, et C. Parys. 2012b. Effects of metabolizable protein supply and amino acid supplementation on nitrogen utilization, milk production, and ammonia emissions from manure in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:5253–5268.
- Leenanuruksa, D., P. Niumsup, et G. H. McDowell. 1988. Insulin affects glucose uptake by muscle and mammary tissues of lactating ewes. *Aust. J. Biol. Sci.* 41:453–461.
- Le Hénaff, L., 1991. Importance des acides aminés dans la nutrition des vaches laitières. Thèse de docteur 3e cycle, Université Rennes I, 125 p.
- Leonardi, C., M. Stevenson, et L. E. Armentano. 2003. Effect of two levels of crude protein and methionine supplementation on performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:4033–4042.
- Leroux, C., L. Bernard, F. Dessauge, F. Le Provost, et P. Martin. 2013. La fonction de lactation : régulation de la biosynthèse des constituants du lait. *INRA Prod. Anim.* 26:117–128.
- Linzell, J. L., et M. Peaker. 1971. Mechanism of milk secretion. *Physiological Reviews.* 51:564–597.
- Lobley, G. E. 1990. Energy-Metabolism Reactions in Ruminant Muscle - Responses to Age, Nutrition and Hormonal Status. *Reproduction Nutrition Development.* 30:13–34.

- Lobley, G. E. 2007. Protein-energy interaction: horizontal aspects. Pages 445–461 in *Energy and Protein Metabolism and Nutrition*. EAAP publication N° 124 ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
- Lobley, G. E., A. Connel, D. K. Revell, B. J. Bequette, D. S. Brown, et A. G. Calder. 1996. Splanchnic bed transfers of amino acids in sheep blood and plasma, as monitored through use of a multiple U-13C-labelled amino acid mixture. *Br. J. Nutr.* 75:217–235.
- Lobley, G. E., et H. Lapierre. 2003. Post-absorptive metabolism of amino acids. Pages 737–756 in *Progress in research on energy and protein metabolism*. W. B. Souffrant et C. C. Metges, ed. EAAP publication N°109. Wageningen, The Netherlands.
- Lobley, G. E., X. Z. Shen, G. W. Le, D. M. Bremner, E. Milne, A. G. Calder, S. E. Anderson, et N. Dennison. 2003. Oxidation of essential amino acids by the ovine gastrointestinal tract. *Br. J. Nutr.* 89:617–629.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapierre, D. Sauvant, et P. Nozière. 2009. Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (beta-hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach. *J. Anim. Sci.* 87:253–268.
- McClymont, G. L., et S. Vallance. 1962. Depression of blood glycerides and milk fat synthesis by glucose infusion. *Proc. Nutr. Soc.* 21:xli.
- Maher, A. D., B. Hayes, B. Cocks, L. Marett, W. J. Wales, et S. J. Rochfort. 2013. Latent Biochemical Relationships in the Blood-Milk Metabolic Axis of Dairy Cows Revealed by Statistical Integration of H-1 NMR Spectroscopic Data. *Journal of Proteome. Research.* 12:1428–1435.
- Martin, P., M. Szymanowska, L. Zwierzchowski, et C. Leroux. 2002. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks. *Reprod. Nutr. Dev.* 42: 433–459.
- Martinet, J., et L. M. Houdebine. 1993. Mammary gland, mammogenesis, growth factors, lactogenesis. Pages 1–27 in *Biology of lactation*. J. Martinet, L. M. Houdebine, et H. H. Head, ed. INSERN/INRA editions, Versailles.

- Maxin, G., H. Rulquin, et F. Glasser. 2011a. Response of milk fat concentration and yield to nutrient supply in dairy cows. *Animal*. 5:1299–1310.
- Maxin, G., F. Glasser, C. Hurtaud, J. L. Peyraud, et H. Rulquin. 2011b. Combined effects of trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid, propionate, and acetate on milk fat yield and composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:2051–2059.
- McRae, J. C., P. J. Buttery, et D. E. Beever. 1988. Nutrient interactions in the dairy cow. Pages 55–75 in *Nutrition and Lactation in the Dairy Cow*. P. C. Garnsworthy, ed. Butterworths, London.
- Mepham, T. B. 1982. Amino acid utilization by lactating mammary gland. *J. Dairy Sci.* 65:287–298.
- Meyrand, M., D.C. Dallas, H. Caillat, F. Bouvier, P. Martin, et D. Barile. 2013. Comparison of milk oligosaccharides between goats with et without the genetic ability to synthesize α s1-casein. *Small Ruminant Research* 113 :411–420.
- Mitchell, H. H., et R. J. Block. 1946. Some relationships between the amino acid contents and their nutritive values for the rat. *J. Biol. Chem.* 163:599–620.
- Moore, J. H., et W. W. Christie. 1979. Lipid metabolism in the mammary gland of ruminant animals. *Prog. Lipid. Res.* 17:347–395.
- Nozière, P., I. Ortigues-Marty, C. Loncke, et D. Sauvant. 2010. Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: from feed starch and fibre to nutrients available for tissues. *Animal*. 4:1057–1074.
- NRC. 2001. 5. Protein and Amino Acids in Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. Natl. Acad. Press, Washington, 43–104.
- Ollier, S., X. Zhao, et P. Lacasse. 2014. Effects of feed restriction and prolactin-release inhibition at drying off on metabolism and mammary gland involution in cows. *J. Dairy Sci.* 97:4942–4954.
- Orskov, E.R., N.A. McLeod N.A., et D.J. Kyle. 1986. Flow of nitrogen from the rumen and abomasum in cattle and sheep given protein-free nutrients by intragastric infusion. *Br. J. Nutr.* 56:241–248.

- Palmquist, D. L., C. L. Davis, R. E. Brown, et D. S. Sachan. 1969. Availability and Metabolism of Various Substrates in Ruminants. V. Entry rate into the body and incorporation into milk fat of D(-)-Hydrobutyrate. *J. Dairy Sci.* 52:633–638.
- Patton, R. A. 2010. Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 93:2105–2118.
- Patton, R. A., A. N. Hristov, et H. Lapierre. 2014. Protein feeding and balancing for amino acids in lactating dairy cattle. *Vet Clin Food Anim.* 30:599–621.
- Peyraud, J. L., P. Cellier, C. Donnars, et O. Réchauchère. 2012. *Les flux d'azote liés aux élevages, réduire les pertes, rétablir les équilibres*. INRA, France. 68p.
- Piccioli Capelli, F., C. J. Seal, et D. S. Parker. 1997. Glucose and [13C]leucine metabolism by the portal_drained viscera of sheep on dried grass with acute intravenous and intraduodenal infusions of glucose. *Br. J. Nutr.* 78:931–946.
- Rao, D. R., G. E. Hawkins, et R. C. Smith. 1973. Effect of glucose and insulin on lipoprotein lipase activity in adipose tissue and milk. *J. Dairy Sci.* 56:1415–1419.
- Ranawana, S. S. E., et R. C. Kellaway. 1977. Responses to postruminal infusions of glucose and casein in lactating goats. *Br. J. Nutr.* 37:395–402.
- Reynolds, C. K. 2006a. Production and metabolic effects of site of starch digestion in dairy cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 130:78–94.
- Reynolds, C. K. 2006b. Splanchnic amino acid metabolism in ruminants. Pages 228–248 in *Ruminant physiology, Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress*. K. Sejrsen, T. Hvelplund, et M. O. Nielsen, ed. Wageningen Academic publishers, The Netherlands.
- Reynolds, C. K., D. J. Humphries, S. B. Cammell, J. Benson, J. D. Sutton, et D. E. Beever. 1997. Effects of abomasal wheat starch infusion on splanchnic metabolism and energy balance of lactating dairy cows. Pages 395–402 in *Energy Metabolism of Farm animals. Proceedings of the 14th Symposium on Energy Metabolism Newcastle, Co. Down, Northern Ireland, 14-20 September*. 37 ed. K. J. McCracken, E. F. Unsworth, et A. R. G. Wylie, ed. CAB International, London, UK.

- Rhoads, R. E., et E. W. Grudzien-Nogalska. 2007. Translational regulation of milk protein synthesis at secretory activation. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 12:283–292.
- Rius, A.G., J. A. D. R. N. Appuhamy, J. Cyriac, D. Kirovski, O. Becvar, J. Escobar, M. L. McGilliard, B. J. Bequette, R. M. Akers, et M. D. Hanigan. 2010. Regulation of protein synthesis in mammary glands of lactating dairy cows by starch and amino acids. *J. Dairy Sci.* 93 :3114–3127.
- Robinson, P. H., W. Chalupa, C. J. Sniffen, W. E. Julien, H. Sato, T. Fujieda, K. Watanabe, et H. Suzuki. 1999. Influence of postruminal supplementation of methionine and lysine, isoleucine, or all three amino acids on intake and chewing behavior, ruminal fermentation, and milk and milk component production. *J. Anim. Sci.* 77:2781–2792.
- Rohr, K., et P. Lebzien. 1991. Present knowledge of amino acid requirements for maintenance and production. Pages 127-137 in *Proc. of the 6th Int. Symp. On Protein Metabolism and Nutrition*. EAAP publication N°. 59. Wageningen academic publishers, Wageningen, the Netherlands.
- Roets, E., A. M. Massart leen, G. Peeters, et T. Veneman. 1983. Metabolism of leucine by isolated perfused goat udder. *J. Dairy Res.* 50:413–424.
- Rulquin, H. 1987. Détermination de certains acides aminés limitants chez la vache par la méthode des administrations post-ruminales. *Reprod. Nutr. Dev.* 27:299. (Abstr.)
- Rulquin, H., et L. Delaby. 2006. Estimation du besoin en histidine des vaches laitières. *Renc. Rech. Ruminants*. 13:100. (Abstr.)
- Rulquin, H., J. Guinard, et R. Vérité. 1998. Variation of amino acid content in the small intestine digesta of cattle: development of a prediction model. *Livest. Prod. Sci.* 53:1–13.
- Rulquin, H., L. Le Henaff, et R. Vérité. 1990. Effects on milk protein yield of graded of lysine infused into the duodenum of dairy cows fed diets with two levels of protein. *Reprod. Nutr. Dev.* 1990:138s. (Abstr.)
- Rulquin, H., C. Hurtaud, et L. Delaby. 1994. Effect of dietary protein level on lactational responses of dairy cows to rumen-protected methionine and lysine. *Ann. Zootech.* 43:245. (Abstr.)
- Rulquin, H., et P. M. Pisulewski. 2000. Effects of duodenal infusions of graded amounts of His on mammary uptake and metabolism in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:544. (Abstr.)

- Rulquin, H., et P. M. Pisulewski. 2000. Effect of duodenal infusions of graded amounts of Phe on mammary uptake and metabolism in dairy cows. *J. Dairy Sci. Suppl.*1:267. (Abstr.)
- Rulquin, H., et P. Pisulewski. 2006a. Effects of graded levels of duodenal infusions of leucine on mammary uptake and output in lactating dairy cows. *J. Dairy Res.* 73:328–339.
- Rulquin, H., et P. M. Pisulewski. 2006b. Effects of duodenal infusion of graded amounts of threonine on lactational performances of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 84:401. (Abstr.).
- Rulquin, H., P. Pisulewski, R. Vérité, et J. Guinard. 1993. Milk production and composition as a function of postruminal lysine and methionine supply: a nutrient-response approach. *Livest. Prod. Sci.* 37:69–90.
- Rulquin, H., R. Vérité, J. Guinard-Flament, et P. M. Pisulewski. 2001a. Acides aminés digestibles dans l'intestin. Origines des variations chez les ruminants et répercussions sur les protéines du lait. *INRA Prod. Anim.* 14:201–210.
- Rulquin, H., R. Vérité, J. Guinard-Flament, et P. M. Pisulewski. 2001b. Acides aminés digestibles dans l'intestin. Le système AADI et les recommandations d'apport pour la vache laitière. *INRA Prod. Anim.* 14:265–274.
- Sartin, J. L., K. A. Cummins, R. J. Kemppainen, R. Carnes, D. G. McClary, et J. C. Williams. 1985a. Effect of propionate infusion on plasma glucagon, insulin, and growth hormone concentrations in lactating dairy cows. *Acta Endocrinol.* 109:348–354.
- Sartin, J. L., K. A. Cummins, R. J. Kemppainen, D. N. Marple, J. L. Rahe, et J. C. Williams. 1985b. Glucagon, insulin, and growth hormone responses to glucose infusion in lactating dairy cows. *Am. J. Physiol.* 248:E108–E114.
- Savant, D., G. Cantalapiedra-Hijar, L. Delaby, J.B. Daniel, P. Faverdin, et P. Nozière. 2016. Actualisation des besoins protéiques des ruminants et détermination des réponses des femelles laitières aux apports de protéines digestibles dans l'intestin. *INRA Prod. Anim.* 28(5) (sous presse).
- Savant, D., et O. Martin. 2010. Robustesse, rusticité, flexibilité, plasticité... les nouveaux critères de qualité des animaux et des systèmes d'élevage : définitions systémique et biologique des différents concepts. *INRA Prod. Anim.* 23:5-10.

- Sauvant, D., et P. Nozière. 2013. La quantification des principaux phénomènes digestifs chez les ruminants : les relations utilisées pour rénover les systèmes d'unités d'alimentation énergétique et protéique. *INRA Prod. Anim.* 26:327–346.
- Sauvant, D., P. Schmidely, J. J. Daudin, et N. R. St-Pierre. 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal.* 2:1203–1214.
- Schmidely, P., et D. Sauvant. 2001. Taux butyreux et composition de la matière grasse du lait chez les petits ruminants : effets de l'apport de matières grasses ou d'aliment concentré. *INRA Prod. Anim.* 14:337–354.
- Schmidely, P., F. Glasser, M. Doreau, et D. Sauvant. 2008. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 1. Total fatty acids. *Animal* 2:677–690.
- Schwab, C. G., L. D. Satter, et A. B. Clay. 1976. Response of Lactating Dairy-Cows to Abomasal Infusion of Amino-Acids. *J. Dairy Sci.* 59:1254–1270.
- Seal, C. J., et C. K. Reynolds. 1993. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. *Nutr. Res. Rev.* 6:185–208.
- Sève, B. 1994. Alimentation du porc en croissance : intégration des concepts de protéine idéale, de disponibilité digestive des acides aminés et d'énergie nette. *INRA Prod. Anim.* 7:275–291.
- Shingfield, K. J., L. Bernard, C. Leroux, et Y. Chilliard. 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal.* 4:1140–1166.
- Socha, M. T., D. E. Putnam, B. D. Garthwaite, N. L. Whitehouse, N. A. Kierstead, C. G. Schwab, G. A. Ducharme, et J. C. Robert. 2005. Improving intestinal amino acid supply of pre- and postpartum dairy cows with rumen-protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 88:1113–1126.
- Scott, R. A., D. E. Bauman, et J. H. Clark. 1976. Cellular gluconeogenesis by lactating bovine mammary tissue. *J. Dairy Sci.* 59:51–56.
- Sundekilde, U.K., L.B. Larsen, et H.C. Bertram. 2013. NMR-based milk metabolomics. *Metabolites* 3:204–222.

- Tesseraud, S., I. Bouvarel, P. Frayssse, S. Métayer-Coustard, A. Collin, M. Lessire, et C. Berri. 2014. Optimiser la composition corporelle et la qualité des viandes de volailles en modulant le métabolisme par les acides aminés alimentaires. *INRA Prod. Anim.* 27:337–346.
- Tesseraud, S., J. Grizard, E. Debras, I. Papet, Y. Bonnet, G. Bayle, et C. Champredon. 1993. Leucine metabolism in lactating and dry goats: effect of insulin and substrate availability. *Am. J. Physiol.* 265:E402–E413.
- Tesseraud, S., S. Metayer, S. Duchene, K. Bigot, J. Grizard, et J. Dupont. 2007. Regulation of protein metabolism by insulin: Value of different approaches and animal models. *Domest. Anim. Endocrinol.* 33:123–142.
- Thivierge, M. C., D. Petitclerc, J. F. Bernier, Y. Couture, et H. Lapierre. 2002. Variations in mammary metabolism during the natural filling of the udder with milk over a 12-h period between two milkings. *J. Dairy Sci.* 1839–1854.
- Toerien, C., A. D.R. Trout et J. P. Cant. 2010. Nutritional stimulation of milk protein yield of cows is associated with changes in phosphorylation of mammary eukaryotic Initiation Factor 2 and Ribosomal S6 Kinase. *J. Nutr.* 140: 285–292, 2010.
- Van Amburgh, M. E., E. A. Collao-Saenz, R. J. Higgs, D. A. Ross, E. B. Recktenwald, E. Raffrenato, L. E. Chase, T. R. Overton, J. K. Mills, et A. Foskolos. 2015. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System: updates to the model and evaluation of version 6.5. *J. Dairy Sci.* 98:6361–6380.
- Van Milgen, J. 2002. Modeling biochemical aspects of energy metabolism in mammals. *J. Nutr.* 132:3195–3202.
- Van Milgen, J., et J. Y. Dourmad. 2015. Concept and application of ideal protein for pigs. *Journal of Animal. Science and Biotechnology.* 6(15):1-11
- Van Milgen, J., M. Gloaguen, N. Le Floc'h, L. Brossard, Y. Primot, et E. Corrent. 2012. Meta-analysis of the response of growing pigs to the isoleucine concentration in the diet. *Animal.* 6:1601–1608.

- Varma, A., et B. O. Palsson. 1994. Stoichiometric flux balance models quantitatively predict growth and metabolic by-product secretion in wild-type *Escherichia coli* W3110. *Applied and Environmental Microbiology*. 60:3724–3731.
- Vérité, R., et L. Delaby. 2000. Relation between nutrition, performances and nitrogen excretion in dairy cows. *Ann. Zootech.* 49:217–230.
- Vernon, R. G. 1981a. Lipid metabolism in the adipose tissue of ruminant animals. Pages 280–362 in *Lipid Metabolism in Ruminants Animals*. W. W. Christie, ed. Pergamon Press, Oxford, UK.
- Vernon, R. G. 1989. Endocrine control of metabolic adaptation during lactation. *Proc. Nutr. Soc.* 48:23–32.
- Vernon, R. G., R. A. Clegg, et D. J. Flint. 1981b. Metabolism of sheep adipose tissue during pregnancy and lactation. *Biochem. J.* 200:307–314.
- Vernon, R. G., et S. Sasaki. 1991. Control of responsiveness of tissues to hormones. Pages 155–183 in *Physiological Aspect of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Proceedings of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology. Tsuda, T., Sasaki, Y., Kawashima, R. Academic Press, Inc., London, England.
- Vicini, J. L., J. H. Clark, W. L. Hurley, et J. M. Bahr. 1988. Effect of abomasal or intravenous administration of arginine on milk production, milk composition, and concentrations of somatotropin and insulin in plasma dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71:658–665.
- Wattiaux, M. A., et K. L. Karg. 2004a. Protein level for alfalfa and corn silage-based diets: II. Nitrogen balance and manure characteristics. *J. Dairy Sci.* 87:3492–3502.
- Wattiaux, M. A., et K. L. Karg. 2004b. Protein level for alfalfa and corn silage-based diets: I. Lactational response and milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.* 87:3480–3491.
- Zanton, G. I., G. R. Bowman, M. Vazquez-Anon, et L. M. Rode. 2014. Meta-analysis of lactation performance in dairy cows receiving supplemental dietary methionine sources or postruminal infusion of methionine. *J. Dairy Sci.* 97:7085–7101.
- Zhao, F. Q., W. M. Moseley, H. A. Tucker, et J. J. Kennelly. 1996. Regulation of glucose transporter gene expression in mammary gland, muscle, and fat of lactating cows by administration of

bovine growth hormone and bovine growth hormone-releasing factors. *J. Anim. Sci.* 74:183–189.

