

Comment les apports de protéines augmentent-ils le volume de lait et les matières utiles ?

LEMOSQUET S. (1, 2), GUINARD-FLAMENT J. (2, 1), RAGGIO G. (3), LAPIERRE H. (4), RULQUIN H. (1, 2)

(1) INRA - UMR1080 Production du Lait - F-35000 Rennes

(2) AGROCAMPUS OUEST - UMR1080 Production du Lait - F-35000 Rennes

(3) Organic Dairy Research Centre - Guelph University, Alfred campus - 31 rue St-Paul - PO BOX 580 - Alfred - ON - Canada - K0B 1A0

(4) Agriculture et Agroalimentaire Canada - STN Lennoxville - Sherbrooke - QC - Canada - J1M 1Z3

RESUME - L'augmentation de l'apport protéique augmente le volume de lait qui dépend principalement de la synthèse de lactose. Le glucose est le principal précurseur de la synthèse mammaire du lactose. L'hypothèse la plus souvent évoquée pour expliquer cette augmentation de synthèse de lactose obtenue avec l'apport protéique est une augmentation de la néoglucogenèse à partir des acides aminés qui permettrait un accroissement du prélèvement mammaire de glucose. Deux méta-analyses ont été réalisées afin d'évaluer cette hypothèse. Une première base de données composée de six essais sur ruminants utilisant du glucose isotopiquement enrichi, a été constituée pour étudier les variations du débit corporel d'apparition du glucose, représentant la somme de la néoglucogenèse, de la glycogénolyse et de l'absorption de glucose. Une seconde base de données comprenant onze essais sur vaches laitières a été constituée pour analyser les prélèvements mammaires de glucose en réponse à l'augmentation de l'apport de protéines. De la première analyse, il ressort que le débit d'apparition du glucose augmente de façon linéaire avec l'apport de protéines exprimé sous forme de PDIE. De la seconde analyse, il ressort que la différence de concentrations artérioveineuses mammaires de glucose a aussi augmenté linéairement avec l'apport protéique suggérant un accroissement des capacités de la mamelle à extraire ce nutriment. Cependant le prélèvement mammaire de glucose n'a pas été affecté, ne confirmant pas l'hypothèse initiale. Dans ce dernier jeu de données, l'accroissement de l'apport protéique n'augmente pas seulement la production de matière protéique et de lactose, mais aussi la production de matière grasse. Ces modifications des trois productions ne s'expliquent pas simplement par l'augmentation du prélèvement de leurs principaux précurseurs (AA pour les protéines, glucose pour le lactose, acétate et β -hydroxybutyrate pour les acides gras). Il existerait donc une flexibilité de la glande mammaire dans l'utilisation des nutriments dans les différentes voies métaboliques pour augmenter ces trois synthèses.

How increased protein intake increases milk volume, milk protein and fat yields?

LEMOSQUET S. (1, 2), GUINARD-FLAMENT J. (2, 1), RAGGIO G. (3), LAPIERRE H. (4), RULQUIN H. (1, 2)

(1) INRA - UMR1080 Dairy Production - F-35000 Rennes

(2) AGROCAMPUS OUEST - UMR1080 Dairy Production - F-35000 Rennes

SUMMARY - Increasing protein supply increases yields of milk and lactose in lactating dairy cows. How does this increase of lactose secretion occur? An increase of gluconeogenesis from amino acids could lead to an increased mammary uptake of glucose, the main precursor of lactose synthesis in the mammary gland. This hypothesis was tested through two meta-analyses. A first database on ruminants was used to analyse the effects of increasing intestinal supply of protein on whole body glucose rate of appearance (6 experiments). The second database was built to analyse the effect of increasing protein supply on mammary uptake of glucose and other energy-yielding nutrients (11 experiments). The first analysis demonstrated that whole body glucose rate of appearance increased linearly with increasing protein supply. In the second database, an improved efficiency of mammary gland to extract glucose was suggested by the linear increase in mammary arterio-venous differences of glucose concentration with increased protein supply. However, mammary glucose uptake did not increase, therefore not confirming the initial hypothesis. Nevertheless, in this second database, increasing protein supply increased yields of protein, lactose and fat without increasing uptakes of the main precursors (amino acids for proteins, glucose for lactose, acetate and β -hydroxybutyrate for fatty acids) since only amino acid uptake were increased. This could suggest a great flexibility of the mammary gland to cross exchange nutrients in several pathways to increase milk synthesis.

INTRODUCTION

Les nombreux résultats zootechniques acquis montrent que l'ajout de protéines dans les rations augmente le volume de lait. Cependant, les mécanismes physiologiques expliquant cette réponse restent incertains. Il est connu que le volume de lait dépend de la production de lactose qui, par son pouvoir osmotique, provoque un flux d'eau vers les cellules mammaires. Ce lactose est synthétisé essentiellement à partir du glucose dans les cellules mammaires (Bickerstaffe *et al.*, 1974). Chez les ruminants, l'apport de glucose provenant de la digestion est faible. Le glucose disponible provient principalement de la néoglucogenèse hépatique (85 %) et rénale (15 %). L'hypothèse la plus souvent retenue pour

expliquer l'augmentation du volume de lait est que l'accroissement de l'apport protéique augmenterait la néoglucogenèse à partir des acides aminés (AA), permettant ainsi d'augmenter la disponibilité corporelle en glucose, et par conséquent, le prélèvement mammaire de glucose et la production de lactose. Cependant, les résultats des essais pris individuellement ne permettent pas de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse (Kim *et al.*, 2000, Lemosquet *et al.*, 2005). Deux méta-analyses ont donc été réalisées pour intégrer les résultats de différentes études. Il s'agissait d'analyser l'effet de l'apport de protéines d'une part sur le débit corporel d'apparition du glucose et d'autre part sur les prélèvements mammaires de glucose et des autres nutriments énergétiques.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Deux bases de données ont été constituées à partir de seize essais sur ruminants (un essai commun entre les deux bases). Dans les seize essais, l'augmentation de l'apport de protéines se faisait par l'alimentation (4) ou par perfusion digestive (12). Ce supplément d'apport protéique était soit de la farine de poisson (2) et du tourteau de soja (2), des perfusions de caséines (10), de caséines et d'un mélange d'AA ramifiés (1), d'un mélange d'AA indispensables (Thr, Phe, Met, Leu, Lys : 1). Dans chaque essai, les quantités d'aliments ingérées ont peu varié en réponse aux apports protéiques ($0,3 \pm 0,6$ kg / j de MS). L'apport protéique a été exprimé en PDIE (INRA, 1988) qui était l'apport PDI le plus limitant dans tous les essais.

La première base de données a permis d'analyser l'effet de l'apport de PDI sur le débit corporel d'apparition du glucose à partir de six essais : un sur moutons, un sur chèvres en lactation, un sur vaches tarées et trois sur vaches en lactation ($n = 21$ traitements, Clark *et al.*, 1977, El-Kadi *et al.*, 2006, König *et al.*, 1984, Lemosquet *et al.*, 2008, Putnam *et al.*, 1999, Ranawana et Kellaway, 1977). Le débit d'apparition corporel du glucose représente la somme de la néoglucogénèse, de la glycogénolyse et de l'absorption de glucose. Il est mesuré à partir de la dilution dans le compartiment sanguin de glucose enrichi isotopiquement.

L'effet de l'apport de PDI sur le prélèvement mammaire des nutriments a été analysé à partir de la seconde base de données qui comprenait onze essais sur vaches laitières (36 traitements : Guinard *et al.*, 1994, Korhonen *et al.*, 2002, Lemosquet *et al.*, 2008 et Raggio *et al.*, 2006, Mackle *et al.*, 2000, Metcalf *et al.*, 1991, 1994 et 1996, Miettinen et Huhtanen, 1997, Rulquin, 1983, Vanhatalo *et al.*, 2003a & b). Les variables analysées dans la seconde base de données comprenaient les paramètres zootechniques de composition du lait (lait, matières, taux) et les paramètres physiologiques : débit plasmatique mammaire et pour chaque nutriment : sa concentration artérielle, sa différence artério-veineuse de concentrations (DAV) et son prélèvement mammaire. Les nutriments étudiés étaient le glucose, le β -hydroxybutyrate (3- β OH) et l'acétate. Les prélèvements d'AA ont par ailleurs été étudiés (Raggio, 2006, Rulquin *et al.*, 2007). Le débit plasmatique a été mesuré sur une demi-mamelle à partir d'une sonde débitmétrique à l'ultrason (un essai), par la technique de dilution du para-amino-hippurate (deux essais) ou estimé par le principe de Fick appliqué à 2 AA (Phe + Tyr : huit essais). Le prélèvement a été calculé sur une mamelle entière selon la formule : Prélèvement = $2 \times$ débit plasmatique $\times$ DAV où le débit plasmatique mammaire est le débit sanguin mammaire corrigé de l'hématocrite.

Les données ont été analysées sous SAS (1996) avec la procédure GLM selon le modèle suivant : $y = \text{Essai} + a + b \times \text{PDI} + e$ où y est la variable à étudier, l'effet essai un facteur fixe et e , l'erreur du modèle. La correction des données a été réalisée après recentrage des coefficients du modèle sur la valeur moyenne des effets Essai.

2. RESULTATS

2.1. LE DÉBIT D'APPARITION DU GLUCOSE AUGMENTE AVEC L'APPORT PDIE

Dans la première base de données, les apports en PDIE pour les traitements témoins, étaient compris entre 4,5 et 19,7 g / j / kg PV^{0,75}. Les supplémentations protéiques ont augmenté

l'apport PDIE de 1,9 à 7,0 g / j / kg PV^{0,75}. Hormis les données de Raggio *et al.* (2006), les animaux étaient tous en bilans PDI excédentaires. Le débit d'apparition corporel du glucose a augmenté linéairement avec l'apport en PDIE avec une pente de 0,8 (figure 1a).

2.2. UNE AUGMENTATION DU VOLUME DE LAIT ET DES MATIÈRES UTILES

Dans la seconde base de données, les apports en PDIE pour les traitements témoins étaient compris entre 737 et 2755 g / j (7 et 21,6 g / j / kg PV^{0,75}). Les supplémentations protéiques ont augmenté les apports en PDIE de 105 à 808 g / j (0,8 et 6,3 g / j / kg PV^{0,75}), conduisant à des bilans PDI variant de 80 à 188 % des besoins du traitement témoin.

En réponse à l'accroissement de l'apport de PDIE, le volume de lait, les productions de lactose (figure 1b), de matières protéiques (figure 1c) et de matières grasses (figure 1d) ont augmenté linéairement. Cependant, l'augmentation des productions de matières protéiques a été plus importante que celle du volume du lait, générant une augmentation du taux protéique ($\text{TP (g / kg)} = 26,9 + 3,0 \cdot 10^{-3} \text{ PDIE}$, $R^2 = 0,90$, $\text{ETR} = 0,53$). À l'opposé, l'augmentation de la production de lactose et de matières grasses a été moins rapide que celle du volume de lait, ce qui a conduit à une diminution du taux de lactose (figure 1e) et du taux butyreux ($\text{TB (g / kg)} = 47,2 - 3,3 \cdot 10^{-3} \text{ PDIE}$, $R^2 = 0,73$, $\text{ETR} = 1,13$).

2.3. UNE AUGMENTATION DE LA CAPACITÉ MAMMAIRE À EXTRAIRE LE GLUCOSE

Un accroissement de l'apport de PDIE ne modifie pas significativement la concentration artérielle en glucose mais augmente linéairement la DAV de glucose (figure 1f). Cependant, aucun effet significatif de l'apport de PDIE sur le débit plasmatique mammaire (l / h) n'a été observé (figure 1g). En effet, les pentes en intra-essai ont varié dans des sens différents. En raison du poids prédominant du débit, le prélèvement mammaire de glucose (figure 1h) et le ratio entre le lactose produit et le glucose prélevé n'ont pas varié significativement avec l'apport de PDIE. Par ailleurs, la quantité de sang mammaire nécessaire pour produire 1 kg de lait diminue linéairement avec l'apport de PDIE (figure 1j). En ce qui concerne les autres nutriments prélevés par la glande mammaire, leurs prélèvements n'ont pas varié en réponse à l'apport de PDIE hormis l'augmentation des prélèvements des AA indispensables (Raggio, 2006, Rulquin *et al.*, 2007). Toutefois, sur les huit essais ayant mesuré les concentrations de 3- β OH, précurseur de la synthèse des acides gras, la DAV a augmenté avec l'apport de PDIE ($y \text{ (mmol / l)} = 0,182 + 6,7 \cdot 10^{-5} \text{ PDIE}$, $R^2 = 0,54$, $\text{ETR} = 0,02$, $n = 26$) alors qu'aucun effet n'a été observé sur les DAV d'acétate, autre précurseur de la synthèse de matières grasses.

3. DISCUSSION

3.1. ANALYSE CRITIQUE DE LA META-ANALYSE

Physiologiquement, un ajustement curvilinéaire paraissait plus pertinent qu'un ajustement linéaire sur certains paramètres tels que le taux de lactose qui devrait atteindre une valeur minimale seuil en réponse à l'augmentation d'apport de protéines. Cependant sur ces jeux de données, aucune relation curvilinéaire significative n'a été mise en évidence.

L'effet de l'apport de protéines a été analysé en l'exprimant en quantité totale de protéines disponibles pour la vache. Or, le devenir métabolique des AA dépend de l'équilibre entre

les apports et les besoins protéiques. Ce devenir métabolique peut aussi dépendre de l'équilibre entre les apports protéique et énergétique. Après vérification, les régressions restent significatives lorsque l'apport de PDIE est exprimé soit en fonction des besoins PDI du traitement témoin, soit en fonction du ratio entre l'apport PDI et UFL qui tenait compte de la valeur UFL des protéines ajoutées.

Dans la seconde base de données, les apports de PDIE dans les traitements témoins de Rulquin (1983) et de Mackle *et al.* (2000) sont très différents des autres essais (points extrêmes dans la figure 1 : 778 g / j et 2697 g / j, respectivement). En l'absence de ces deux publications, les relations linéaires observées entre l'apport de PDIE et les paramètres étudiés restent significatives.

Enfin, dans ces essais de nature analytique, les réponses de production de lait, taux et matières protéiques obtenues sont proches de celles rapportées dans les essais zootechniques (Vérité et Delaby, 1998).

3.2. UNE REPONSE DU DEBIT D'APPARITION DU GLUCOSE ELEVEE

Le débit d'apparition corporel du glucose augmente bien en réponse à l'apport de protéines suggérant un accroissement de la disponibilité en glucose artériel pour l'ensemble des organes dont la mamelle. Cependant, la pente d'augmentation du débit d'apparition du glucose en réponse aux apports protéiques de 0,8 est trop importante au regard de la contribution possible des AA à la néoglucogenèse. En théorie, la production maximale de glucose serait de l'ordre de 54 g à 61 g pour 100 g de PDIE apportés sous forme de caséines. Dans les essais sur ruminants laitiers, cette pente semble en apparence plus faible : 56 g de glucose produits pour 100 g de PDIE. Cependant, cette pente est identique à celle obtenue pour les autres ruminants si pour calculer les AA réellement disponibles pour la néoglucogénèse, les AA exportés dans les matières protéiques du lait sont soustraits des apports PDIE. Une augmentation du débit d'apparition du glucose supérieure à celle de la néoglucogenèse à partir des AA pourrait s'expliquer par une stimulation de la néoglucogenèse à partir d'autres substrats comme le propionate ou le lactate. Comme le débit d'apparition inclut la glycogénolyse, une augmentation du débit d'apparition supérieure à celle de la néoglucogenèse pourrait aussi s'expliquer par un accroissement de la vitesse de renouvellement des réserves de glycogène (glycogénolyse et synthèse). En effet, une augmentation de la vitesse de renouvellement du glycogène a été observée chez le rat recevant des régimes riches en caséines (Gannon et Nuttall, 1988). A l'avenir, il semble important de vérifier si la néoglucogenèse augmente indépendamment de la vitesse de renouvellement du glycogène qui elle n'accroît pas la quantité nette de glucose disponible à l'animal.

3.3. L'AUGMENTATION DE LA PRODUCTION DE LACTOSE DEPEND AUSSI DE MECANISMES MAMMAIRES

Dans la seconde base de données, une augmentation linéaire de la production de lactose a été observée en réponse à l'apport de protéines. Si le prélèvement mammaire de glucose n'a pas varié significativement, la DAV de glucose a bien augmenté avec l'apport de protéines. Cette augmentation de la capacité de la mamelle à extraire le glucose avec l'apport protéique suggère qu'il existe au niveau mammaire une régulation du métabolisme du glucose. La quantité de lactose produite représente en

moyenne 73 % du glucose prélevé, ce qui est conforme à la littérature. Un accroissement global de l'efficacité des synthèses mammaires en réponse à l'apport de protéines est suggéré par la baisse de la quantité de sang mammaire nécessaire pour produire 1 kg de lait. Contrairement à l'hypothèse initiale, l'augmentation du débit d'apparition du glucose n'est pas le seul mécanisme impliqué dans l'augmentation de la synthèse de lactose. Il existe également au niveau mammaire une régulation de l'extraction du glucose.

3.4. UNE FLEXIBILITE DE LA GLANDE DANS LES VOIES D'UTILISATION DES NUTRIMENTS ?

En réponse à l'accroissement de l'apport protéique, d'autres métabolismes que celui du glucose ont été affectés. En effet, les trois productions (matière protéique, lactose, matière grasse) sont augmentées simultanément par l'accroissement de l'apport protéique, ce qui suggère des modifications coordonnées des trois métabolismes (synthèse protéique, de lactose et des acides gras). Cependant, les prélèvements des principaux précurseurs (AA, glucose, 3- β OH, acétate) des trois métabolismes n'ont pas tous augmenté. En effet seuls les prélèvements mammaires d'AA indispensables ont linéairement augmenté avec l'apport protéique (Raggio, 2006a, Rulquin *et al.*, 2007). Au niveau des précurseurs de la synthèse des acides gras, aucune relation significative entre le prélèvement ou la DAV d'acétate et l'apport n'a été mise en évidence. Seule la capacité de la mamelle à extraire le 3- β OH (DAV) est augmentée. L'absence d'augmentation simultanée des prélèvements des différents précurseurs suggère qu'il existe une grande flexibilité de la glande mammaire à utiliser les carbones des nutriments prélevés dans les différentes voies biochimiques pour pouvoir réaliser ces synthèses. Dans la seconde base de données, l'accroissement des prélèvements de certains AA indispensables (Ile, Leu, Val, Lys et His) est supérieur à leur excrétion sous forme de protéines du lait (Rulquin *et al.*, 2007). Les squelettes carbonés des AA prélevés en excès et non exportés sous forme de protéines du lait sont utilisables dans d'autres voies métaboliques que la synthèse protéique. Les AA néoglucogéniques (Leu et Lys exceptées) pourraient contribuer à la synthèse de lactose via le galactose (Bequette *et al.*, 2006). Cependant dans le jeu de données, l'excès de carbone provenant des AA est principalement dû à la Leu et la Lys (69 %). Ces AA prélevés en excès peuvent contribuer à la synthèse d'AA non indispensables et, avec l'acétate et le 3- β OH, à celle d'acides gras (Roets *et al.*, 1983). Ils peuvent aussi être oxydés (Raggio *et al.*, 2006b), ce qui permettrait une épargne de glucose dans les voies oxydatives.

CONCLUSION

La disponibilité corporelle du glucose augmente en réponse aux accroissements d'apports protéiques. Cependant, cette augmentation ne semble pas être le mécanisme clef de l'augmentation de la production de lactose et du lait puisque la quantité de glucose prélevé n'augmente pas systématiquement dans tous les essais. L'apport de protéines semble améliorer l'efficacité de synthèse du lait en augmentant les productions de protéines, de lactose et de matières grasses sans augmenter les prélèvements de l'ensemble des nutriments précurseurs. Il existerait donc une grande flexibilité de la glande mammaire dans les voies d'utilisation des nutriments permettant d'augmenter simultanément les trois synthèses (protéines, lactose, matières grasses).

Bequette B.J., Sunny N.E., El-Kadi S.W., Owens S.L., 2006. *J. Anim. Sci.*, 84 (E.Suppl.), E50-E59

Bickerstaffe R., Annison E.F., Linzell J.L., 1974. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 82, 71-85

Clark J.H., Spiers H.R., Derrig G.D., Bennink M.R., 1977. *J. Nutr.*, 107, 631-644

El-Kadi S.W., Baldwin R.L., Sunny N.E., Owens S.L., Bequette B.J., 2006. *J. Nutr.*, 136, 1261-1269

Gannon M.C., Nuttal F.Q., 1988. *J. Nutr.* 118, 888-894

Guinard J., Rulquin H., Vérité R., 1994. *J. Dairy Sci.*, 77, 2221-2231

INRA, 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins. R. Jarrige Ed. INRA, Paris, 476 p

Kim C.H., Choung J.J., Chamberlain D.G., 2000. *Grass and Forage Science*, 55, 173-180

König B., Oldham J.D., Parker D.S., 1984. *Br. J. Nutr.*, 52, 319-328

Korhonen M., Vanhatalo A., Huhtanen P., 2002. *J. Dairy Sci.*, 85, 3336-3351

Lemosquet S., Delamaire E., Guinard-Flament J., Lapiere H., 2005. *J. Dairy Sci.*, 88, 182

Lemosquet S., Raggio G., Lobley G.E., Rulquin H., Guinard-Flament J., 2008. *J. Dairy Sci.*, soumis

Mackie T.R., Dwyer D.A., Ingvarsen K.L., Chouinard P.Y., Ross D.A., Bauman D.E., 2000. *J. Dairy Sci.*, 83, 93-105

Metcalf J.A., Sutton J.D., Cockburn J.E., Napper D.J., Beever D.E., 1991. *J. Dairy Sci.*, 74, 3412-3420

Metcalf J.A., Beever D.E., Sutton J.D., Wray-Cahen D., Evans R.T., Humphries D.J., 1994. *J. Dairy Sci.*, 77, 1816-1827

Metcalf J.A., Wray-Cahen D., Chettle E.E., Sutton J.D., Beever D.E., Crompton L.A., MacRae J.C., Bequette B.J., Backwell F.R.C., 1996. *J. Dairy Sci.*, 79, 603-611

Miettinen H.O., Huhtanen P.J., 1997. *J. Sci. Food Agric.*, 74, 459-468

Putnam D.E., Varga G.A., Green M.H., 1999. *J. Dairy Sci.*, 82, 1274-1281

Raggio G., 2006. Thèse Université de Laval, Québec, 183 p

Raggio G., Lemosquet S., Lobley G.E., Rulquin H., Lapiere H., 2006. *J. Dairy Sci.*, 89, 4340-4351

Ranawana S.S.E., Kellaway R.C., 1977. *Br. J. Nutr.*, 37, 395-402

Rulquin H., 1983. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 23, 1029-1042

Rulquin H., Raggio G., Lapiere H., Lemosquet S., 2007. ISEP - France Vichy 9-13 Sept. EAAP N°124, 587-588

SAS User's Guide : Statistics, 1996. SAS inst., Inc., Cary, NC

Vanhatalo A., Varvikko T., Huhtanen P., 2003a. *J. Dairy Sci.*, 86, 3246-3259

Vanhatalo A., Varvikko T., Huhtanen P., 2003b. *J. Dairy Sci.*, 86, 3260-3270

Vérité R., Delaby L., 1998. *Renc. Rech. Ruminants*, 5, 185-192

Roets E., Massart-leën A.M., Peeters G., Verbeke R., 1983. *J. dairy Res.*, 50, 413-424

Figure 1 : effet de l'accroissement d'apport en PDIE sur le débit d'apparition corporel du glucose, sur les productions de matière ainsi que sur les composantes du prélèvement mammaire de glucose (figure 1a : 6 essais et 21 données, autres figures : 11 essais et 36 données).

