

THÈSE

pour obtenir le grade de

Docteur

de

**l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement
(Agro Paris Tech)**

Spécialité : Nutrition Animale

*présentée et soutenue publiquement
par*

Aurora Hilda RAMIREZ-PEREZ

le 20 septembre 2007

**EFFET DE LA SOLUBILITÉ DE LA SOURCE DU PHOSPHORE
ALIMENTAIRE SUR L'ACTIVITÉ FERMENTAIRE DANS LE RUMEN ET
SUR SON UTILISATION DIGESTIVE ET METABOLIQUE
CHEZ LA CHÈVRE LAITIÈRE**

Directeur de thèse : François MESCHY

Codirecteur de thèse : Daniel SAUVANT

Travail réalisé : INRA, UMR 791 Physiologie de la Nutrition et Alimentation, F-75231 Paris

Devant le jury :

M. Daniel SAUVANT,	Professeur,	AGRO PARIS TECH	Président
M. Léon GUEGUEN,	Directeur de Recherche Emérite,	INRA	Rapporteur
M. Jean Louis PEYRAUD,	Directeur de Recherche,	INRA	Rapporteur
M. François MESCHY,	Ingénieur de Recherche,	INRA	Examineur
M. Hervé PATRIAT,	Directeur Général,	LACTINA SA	Examineur

*Con amor al Padre, a mi mamá y a Letty
Con todo cariño a Danny*

Para que algún día volvamos a estar juntos pequeño 7...

Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué au sein de l'Unité Mixte de Recherche INRA-Agro Paris Tech de Physiologie de la Nutrition et Alimentation, sous la direction de François Meschy et Daniel Sauvant.

Je remercie au Conseil National de Science et Technologie (CONACYT), à la Société Française d'Exportation de Ressources Educatifs (SFERE) et à la Direction Générale des Affaires du Personnel Académique de l'Université Nationale Autonome de Mexique (DGAPA-UNAM) pour le financement de mes études en France.

Je remercie sincèrement le Professeur Daniel Sauvant de m'avoir accueilli dans son laboratoire et d'avoir encadré et codirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique.

J'exprime ma gratitude à François Meschy, qui m'a confié le déroulement de ce projet de recherche, m'a orienté et largement aidé au cours du travail, tout en préservant mon autonomie.

Je remercie les membres du jury, particulièrement Léon Guéguen, Directeur de Recherche Emérite et Jean Louis Peyraud, Directeur de Recherche à l'INRA de Rennes de m'avoir fait l'honneur d'être rapporteurs de cette thèse, ainsi que Hervé Patriat, Directeur Général (Lactina S.A.) d'avoir accepté de participer à ce jury. Merci pour la richesse et qualité scientifique de leurs remarques.

J'adresse tous mes remerciements aux enseignants, chercheurs et ingénieurs qui m'ont aidé par leurs conseils tout au long de ces années. Je remercie également le personnel administratif toujours prêt à rendre service. Merci aussi à tous les stagiaires et thésards. Je remercie chaleureusement le personnel du laboratoire pour leur aide et leur disponibilité. Merci à Hélène Albarello et à Laurent Broudisco pour m'avoir présenté les chromatographies en phase gazeuse et liquide, à Ophélie Dhumez pour les déterminations des parois végétales, à Pierrette Piquereel pour avoir partagé le « long chemin » de l'obtention des culots bactériens et à Françoise Ternois, pour les dosages d'azote ammoniacal et calcium plasmatique. Je remercie à Catherine Jondreville et à Sandrine Hillion pour les déterminations de calcium (INRA-Rennes).

Je remercie à Joseph Tessier et son équipe de la chèvrerie pour leur travail.

Merci à Mme. Pascale Jolivet et à M. Michel Dubarry pour permettre le déroulement partiel du travail dans leurs laboratoires.

Muchas gracias a Guille por tu amistad y todo tu apoyo durante estos años, gracias por haber recorrido este camino compartiendo fracasos y triunfos. Por compartir mi gran pérdida...

Muchas gracias a la Dra. Silvia E. Buntinx Dios por toda su ayuda desinteresada, sus acertados consejos y su confianza. Gracias al Dr. Sergio Angeles Campos por su apoyo, ayuda y por enfrentar toda la "burocracia".

Ce travail de thèse a donné lieu à la rédaction des publications suivants :

Ramirez-Perez A.H., Sauvant D., Meschy F. Effect of phosphate solubility on phosphorus kinetics and ruminal fermentation activity in dairy goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* (*soumis*).

Ramirez-Perez A.H., Meschy F. (2005) Phosphorus requirements by ruminal microorganisms : a review. *Interciencia*. 11, 664- 670. (En espagnol).

Meschy F., Ramirez-Perez A.H. (2005) Evolutions récentes des recommandations d'apport en phosphore pour les ruminants. *INRA Prod. Animal*. 18, 175-182.

Ramirez-Perez A.H., Meschy F. (2005) Effet de la solubilité de l'apport de phosphore sur l'activité des micro-organismes du rumen. *Renc. Rech. Rum.* 12, 239.

Ramirez-Perez A.H., Meschy F. (2006) Effet de la solubilité du phosphore alimentaire sur la cinétique de P dans les phases du rumen. *Renc. Rech. Rum.* 13, 101.

Ramirez-Perez A.H., Meschy F. (2006) Utilisation de différentes sources de phosphore pendant la lactation chez la chèvre laitière. *Renc. Rech. Rum.* 13, 135.

Meschy F., Ramirez-Perez A.H. (2007) Effet de la solubilité du phosphore alimentaire sur son utilisation digestive et métabolique chez la chèvre en lactation. *Renc. Rech. Rum.* (*acceptée*)

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX.....	7
LISTE DES FIGURES.....	8
LISTE DES ABREVIATIONS.....	11
Chapitre 1	
INTRODUCTION GÉNÉRALE	
1.1 INTRODUCTION.....	15
1.1.1 LE PHOSPHORE ET LA PRODUCTION ANIMALE.....	15
1.1.2 LE PHOSPHORE ET SON RÔLE POLLUANT.....	17
Chapitre 2	
PARTIE EXPERIMENTALE I	
2.1 INTRODUCTION.....	20
2.1.1 LE PHOSPHORE ET LES BACTÉRIES RUMINALES.....	20
2.1.2 LES SOURCES DU PHOSPHORE ET LEUR DISPONIBILITÉ POUR LES BACTÉRIES RUMINALES.....	24
2.2 MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	26
2.2.1 Animaux.....	26
2.2.2 Aliments et Alimentation.....	26
2.2.3 Mesures et prélèvements.....	28
2.2.4 Analyses.....	28
2.3 RESULTS.....	35
2.3.1 Milk yield (MY).....	35
2.3.2 Body weight (BW).....	35
2.3.3 Feeds.....	35
2.3.4 Dry matter intake (DMI).....	35
2.3.5 Phosphorus intake.....	36
2.3.6 Phosphorus in rumen.....	36
2.3.7 Ruminal bacteria.....	38
2.3.8 Ruminal fermentation.....	42
2.4 DISCUSSION.....	46
2.5 CONCLUSION.....	50
Chapitre 3	
PARTIE EXPERIMENTALE II	
3.1 INTRODUCTION.....	57
3.1.1 LE MÉTABOLISME DU PHOSPHORE CHEZ LES RUMINANTS.....	57
3.1.2 DISPONIBILITÉ DIGESTIVE DU PHOSPHORE.....	58
3.1.3 UTILISATION MÉTABOLIQUE ET EXCRÉTION DU PHOSPHORE.....	58
3.1.4 LES SOURCES DE PHOSPHORE POUR LES RUMINANTS.....	59
3.1.5 LES TISSUS OSSEUX ET LA PRODUCTION LAITIÈRE.....	60

3.2 MATÉRIEL ET MÉTHODES	63
3.2.1 Animaux	63
3.2.2 Aliments et Alimentation	63
3.2.3 Mesures et prélèvements	65
3.2.4 Analyses	66
3.3 RÉSULTATS	71
3.3.1 Matière Sèche Ingérée (MSI)	72
3.3.2 Production et Caractéristiques du Lait	72
3.3.3 Digestibilité Apparente des Rations	76
3.3.4 Bilan du Phosphore	79
3.3.5 Bilan du Calcium.....	82
3.3.6 Paramètres Plasmatiques	85
3.3.7 Les Lois Générales de Réponse	89
3.4 DISCUSSION	96
3.4.1 Matière Sèche Ingérée (MSI) et Production Laitière Brute (PLB).....	96
3.4.2 Composition du Lait.....	97
3.4.3 Digestibilité Apparente des Rations	98
3.4.4 Bilans Minéraux	99
3.5 CONCLUSIONS	107
Chapitre 4	
DISCUSSION GÉNÉRALE	108
Chapitre 5	
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	113
6. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	115

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Caractéristiques chimiques des phosphates utilisés (valeurs analytiques).....	27
Tableau 2. Ingrédients des aliments concentrés semi-purifiés et valeurs nutritionnelles des rations expérimentales	27
Tableau 3. Dry matter and phosphorus intake in dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP).....	51
Tableau 4. Total and available phosphorus in ruminal liquid from dairy goats fed diets containing diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP).....	52
Tableau 5. Phosphorus content of liquid- (LAB) and solid-associated ruminal bacteria (SAB) from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP)	53
Tableau 6. Adjusted parameters of major volatile fatty acid kinetics in rumen of dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP).....	54
Tableau 7. Adjusted parameters of minor volatile fatty acid kinetics in rumen of dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP).....	55
Tableau 8 Composition des aliments concentrés et valeurs nutritionnelles des rations expérimentales	64
Tableau 9 Composition chimique et pH des rations distribuées au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)	71
Tableau 10. Matière sèche ingérée (MSI), production laitière brute (PLB), caractéristiques du lait et efficacité de production (litres de lait par kg de MSI) observées au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	73
Tableau 11. Digestibilités de la matière sèche (dMS), de la matière organique (dMO), parois totales (NDF), lignocellulose (ADF) observées au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	78
Tableau 12. Bilans de phosphore total (P) et soluble (P _{sol}) observées au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)	80
Tableau 13. Bilans de calcium (Ca), observées au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	84
Tableau 14. Concentrations plasmatiques en phosphore (P plasma), calcium (Ca plasma) et cross-links de collagène du type I (CTX) dans le plasma, observées au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	86
Tableau 15. Estimation de la rétention globale pendant le cycle productif chez la chèvre laitière.	101

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Voies de production d'acétate chez les bactéries ruminales.	21
Figure 2. Concentrations en ATP en cultures continues contenant 120 ; 80 ; 40 et 0 mg de P/L pour les périodes expérimentales. Les lignes verticales représentent les différences minimales significatives. (D'après Komisarczuk <i>et al.</i> , 1987b).....	23
Figure 3. Séries de centrifugations utilisées pour l'obtention de la phase solide et liquide du rumen et des bactéries associées à chaque une (LAB=bactéries associées à la phase liquide, SAB=bactéries associées à la phase solide).....	30
Figure 4. Dry matter intake kinetics of dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.....	36
Figure 5. Total (TP) and available phosphorus (AP) concentrations in ruminal fluid from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.....	37
Figure 6. Intra-animal relationship between the disappearance fractional rate of available phosphorus (DRAP) and the initial concentration of available phosphorus (APini) in ruminal fluid from dairy goats fed diets containing high- (HPS) or low-soluble phosphate (LSP).....	37
Figure 7. Organic matter of liquid-associated bacteria (OMLAB) recuperated from liquid rumen content from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.	38
Figure 8. Intra-animal relationship between initial quantity of organic matter of liquid-associated bacteria (OMLABini) and initial available phosphorus concentrations (APini) for dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP).	39
Figure 9. Phosphorus concentrations referred to organic matter of liquid-associated bacteria (OMLAB) of ruminal liquid from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.....	39
Figure 10. Organic matter of solid-associated bacteria (OMSAB) harvested from solid rumen content from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.....	40
Figure 11. Phosphorus concentrations referred to organic matter of solid-associated bacteria (OMSAB) of ruminal solid content from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.	41
Figure 12. Intra-animal relationship between differences observed of phosphorus concentration in organic matter of solid-associated bacteria (DifPOMSAB0-90) and the initial phosphorus concentration in organic matter of solid-associated bacteria (POMSABini) from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP).....	42
Figure 13. Volatile fatty acids (VFA) and acetic acid (C2) concentrations in rumen of dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.....	43

Figure 14. Propionic acid (C3) concentrations in rumen of dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.	44
Figure 15. Butyric acid (C4) concentrations in rumen of dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.	45
Figure 16. Métabolisme du phosphore chez la femelle ruminant (D'après Guéguen <i>et al.</i> , 1978)	57
Figure 17. Calendrier des bilans digestifs et de prélèvements sanguins	67
Figure 18. Variation du poids vif (PV) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	72
Figure 19. Production laitière brute au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	74
Figure 20. Relation entre la matière sèche ingérée (MSI) et la production laitière (PLB) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières.....	74
Figure 21. Teneur en solides totaux (ST), taux protéique (TP) et taux butyrique (TB) du lait, au cours de la lactation : pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC) 75	75
Figure 22. Teneur en calcium (Ca), phosphore (P) et proportion Ca : P (Ca : P) du lait, au cours de la lactation : pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC) 76	76
Figure 23. Digestibilité du NDF au cours de la lactation : pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	77
Figure 24. Concentration plasmatique en phosphore (P) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	85
Figure 25. Concentration plasmatique en calcium (Ca) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)	87
Figure 26. Concentration plasmatique en cross links de collagène de type I (CTX) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC). * Significativement différent (p<0,05).....	88
Figure 27. Relation entre l'absorption apparente du phosphore (Pabs) et l'ingestion du phosphore (Ping) au cours de la lactation : pic (PIC), plein (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières	89
Figure 28. Relation entre le coefficient d'absorption apparente de phosphore (CAA P) et la perte de phosphore dans le lait (Plait) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières	90

Figure 29. Relation globale entre la concentration en phosphore soluble fécal (P _{sol fec}) et le pH des fèces au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	90
Figure 30. Relation entre l'absorption apparente de phosphore soluble (P _{sol abs}) et son ingestion (P _{sol ing}) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières	91
Figure 31. Relation entre l'excrétion fécale (C _{fec}) et le calcium ingéré (C _{ing}) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières.....	91
Figure 32. Relation entre l'excrétion fécale de phosphore insoluble (P _{ins fec}) et l'excrétion fécale de calcium (C _{fec}) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières.....	92
Figure 33. Relation globale entre la perte de phosphore (P _{lait}) et de calcium dans le lait (C _{lait}) au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	92
Figure 34. Relation globale entre la rétention de phosphore (Rétention de P) et l'élimination de calcium dans le lait (C _{lait}) au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)	93
Figure 35. Relation entre la rétention de calcium (Rétention de Ca) et l'élimination de phosphore dans le lait (P _{lait}) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières.....	93
Figure 36. Relation globale entre la rétention de calcium (Rétention de Ca) et l'élimination de calcium dans le lait (C _{lait}) au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)	94
Figure 37. Relation entre la concentration plasmatique en phosphore (P _{plasma}) et la concentration plasmatique de calcium (C _{plasma}) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières	94
Figure 38. Relation globale entre les cross links plasmatiques du collagène de type I (CTX) et l'excrétion de phosphore dans le lait (P _{lait}) au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	95
Figure 39. Relation globale entre les cross links plasmatiques du collagène de type I (CTX) et l'élimination de calcium dans le lait (P _{lait}) au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC).....	95
Figure 40. Bilans du phosphore (P) et calcium (Ca) au cours de la lactation, chez la chèvre laitière.	100
Figure 41. Relation entre le phosphore apparemment absorbé (P _{abs}) et la production laitière (PLB), chez des chèvres en lactation.	103
Figure 42. Dissociation des espèces de phosphate dans l'eau face aux changements de pH à 25°C et 1 atm (D'après Vanden Bossche, 1999)	105

LISTE DES ABREVIATIONS

A(T):	animal hiérarchisé dans le traitement
ADF:	lignocellulose (acid detergent fibre)
ADN :	acide désoxyribonucléique
ADP:	adénosine biphosphate
AP :	phosphore disponible
APini:	concentrations initiales en phosphore disponible
ARN:	acide ribonucléique
ATP :	adénosine triphosphate
av:	concentration moyenne pour tous les acides gras volatils (VFA)
BIC (LSP*) :	lot phosphate bicalcique
C2 :	acide acétique
Ca abs :	calcium absorbé
Ca fec :	calcium fècal
Ca ing :	calcium ingeré
Ca :	calcium
CAA :	coefficient d'absorption apparente
Calait :	calcium lait
Caplasma :	calcium plasma
CAR :	coefficient d'absorption réelle
Cauri :	calcium urinaire
CTX :	cross links du collagène de type I
DEB :	début lactation
DifAP0-90:	différence de phosphore disponible dans le liquide ruminal entre 0 et 90min
DifAP180-90:	différence de phosphore disponible dans le liquide ruminal entre 180 et 90min
DifAP360-180:	différence de phosphore disponible dans le liquide ruminal entre 360 et 180min
DifOMLAB0-90:	différence de matière organique de LAB entre 0 et 90 min
DifOMLAB180-360:	différence de matière organique de LAB entre 180 et 360 min
DifOMLAB90-180:	différence de matière organique de LAB entre 90 et 180 min
DifOMSAB0-90:	différence de matière organique de SAB entre 0 et 90 min
DifOMSAB180-360:	différence de matière organique de SAB entre 180 et 360 min
DifOMSAB90-180:	différence de matière organique de SAB entre 90 et 180 min
DifPOMLAB0-90:	différence de concentration en P de LAB entre 0 et 90 min

* Abréviation utilisée dans le texte en anglais

DifPOMLAB180-360: différence de concentration en P de LAB entre 180 et 360 min
 DifPOMLAB90-180: différence de concentration en P de LAB entre 90 et 180 min
 DifPOMSAB0-90: différence de concentration en P de SAB entre 0 et 90 min
 DifPOMSAB180-360: différence de concentration en P de SAB entre 180 et 360 min
 DifPOMSAB90-180: différence de concentration en P de SAB entre 90 et 180 min
 DifTP0-90: différence de phosphore total dans le liquide ruminal entre 0 et 90min
 DifTP180-90: différence de phosphore total dans le liquide ruminal entre 180 et 90min
 DifTP360-180: différence de phosphore total dans le liquide ruminal entre 360 180 et 90min
 DMI360: ingestion de matière sèche au temps 360
 DMI_{max}: ingestion maximale de matière sèche
 dMO : digestibilité de la matière organique
 dMS : digestibilité de la matière sèche
 dNDF: digestibilité des parois totales (neutral detergent fibre)
 DRAP: taux fractionnaire de disparition du phosphore disponible
 DRTP: taux fractionnaire de disparition du phosphore total
 ETM (SEM^{*}) : écart type de la moyenne (standard error of the mean)
 FIN: fin de lactation
 GEST: gestation
 ini: concentration initiale pour chaque VFA
 ITCAP: concentration initiale ajustée de phosphore disponible
 ITCTP: concentration initiale ajustée de phosphore total
 IVDMI: vitesse initiale d'ingestion de matière sèche
 kabs : taux de disparition pour chaque VFA
 ks_{sat} : taux fractionnaire de satiété
 k_{syn} : taux de formation pour chaque VFA
 LAB : bactéries associées à la phase liquide (liquid-associated bacteria)
 MO : matière organique
 MONO (HSP^{*}) : lot phosphate monocalcique
 MS : matière sèche
 NDF : parois totales (neutral detergent fibre)
 N-NH₃ : azote ammoniacal
 OMLAB360: matière organique de LAB observée au temps 360
 OMLAB_{ini}: matière organique initiale de LAB

* Abréviation utilisée dans le texte en anglais

OMSAB360: matière organique de SAB observée au temps 360
OMSABini: matière organique initiale de SAB
P : phosphore
Pabs : phosphore absorbé
Pfec : phosphore fécal
PIC: pic de lactation
Ping : phosphore ingéré
Pint360 : phosphore ingéré au temps 360
PLAC : pleine lactation
Plait : phosphore lait
PLB : production laitière brute
POMLAB360: concentration en phosphore de LAB au temps 360
POMLABini: concentration initiale en phosphore de LAB
POMSAB360: concentration en phosphore de SAB au temps 360
POMSABini: concentration initiale en phosphore de SAB
Pplasma : phosphore plasma
Psol : phosphore soluble dans l'eau
Puri : phosphore urinaire
PV : poids vif
SAB : bactéries associées à la phase solide (solid-associated bacteria)
SP360: ingestion du phosphore soluble dans l'eau au temps 360
ST : solides totaux
T : traitement (treatment)
TP : phosphore total (total phosphorus)
TPini: concentration initiale du phosphore total
VFA : acides gras volatils (volatile fatty acids)
VI: taux d'accroissement de la concentration pour chaque VFA

Chapitre 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 INTRODUCTION

La découverte du phosphore (P) est attribuée à l'alchimiste hambourgeois Henning Brandt en 1669. La propriété de P d'éclairer a été à la base de son appellation à partir des vocables grecs φως (phos) = lumière et φερω (phero) = emmener, porter. Le phosphore est le 15^{ème} élément du tableau périodique des éléments, son poids atomique est 30,974. Dans la nature, le P inorganique ne se rencontre pas sous sa forme libre puisqu'il est très réactif. Il se trouve principalement sous la forme d'orthophosphates (McDowell, 2003).

1.1.1 LE PHOSPHORE ET LA PRODUCTION ANIMALE

Le phosphore est le cinquième élément composant de la matière vivante. Chez les animaux supérieurs, il participe à la structure des os et dents qui représentent 78% (Yano *et al.*, 1991) des réserves corporelles de P et 98% de celles de Ca total (NRC, 2001). Le rapport Ca : P dans l'os est légèrement supérieur à 2 (McDowell, 2003). La matrice osseuse est minéralisée avec de l'hydroxyl-apatite $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ et du phosphate tricalcique $[Ca_3(PO_4)_2]$ (Ekelund, 2003). Le phosphore est considéré le minéral le plus versatile, il participe à un grand nombre de processus métaboliques comme phosphate monovalent ou divalent ($H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$) ou dans des composants organiques (Pfeffer et Hristov, 2006). Le phosphore extra osseux est principalement localisé dans les érythrocytes, les muscles et le tissu nerveux et, chez le ruminant des quantités importantes sont recyclées par la salive. Dans les tissus mous, le phosphore s'associe aux molécules organiques : phospholipides, phosphoprotéines, acides nucléiques (le P représente 11% du poids moléculaire de l'ADN, Vanden Bossche, 1999), AMP_C, inositol polyphosphates, le 2–3 biphosphoglycerate (Underwood et Suttle, 1999). Il est aussi un composant de l'adénosine triphosphate (ATP) et du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP). Le phosphore est un composant important du système tampon du sang et du rumen, il est également essentiel pour les bactéries ruminales. Il participe au contrôle de l'ingestion des aliments. Le phosphore est nécessaire à la production du lait, à la synthèse du tissu musculaire et à la formation de la coquille d'œuf (Underwood et Suttle, 1999, McDowell, 2003). De cette façon, toute insuffisance dans l'alimentation phosphorée des animaux, pourrait affecter le fonctionnement de l'organisme et par conséquent conduire à une diminution des performances.

Le métabolisme de P est très étroitement lié à celui de Ca et de la vitamine D₃, les déficiences systémiques en P et/ou Ca peuvent être confondues avec celle en vitamine D₃. La carence en P est observée principalement chez les animaux au pâturage (notamment en climat tropical, où les fourrages sont très pauvres en P), les jeunes étant les plus affectés (McDowell, 2003). Les premiers signes sont le manque d'appétit, et en conséquence la perte de poids et l'inhibition de la croissance, l'ingestion d'os ou de terre sont les signes observés avant que le dysfonctionnement osseux (rachitisme, ostéomalacie, ostéoporose) soient apparents et finalement que la mort intervienne (Georgievskii, 1982). L'excès de P alimentaire associé à une diminution de Ca dans la ration, peut favoriser la formation de calculs urinaires (Barlet *et al.*, 1973). Le rapport Ca : P (2 : 1) observé dans l'os a influencé pendant longtemps la recommandation alimentaire de P.

Les productions animales actuelles sont caractérisées par des systèmes intensifs (lait, viande, œufs, etc), utilisant des animaux très efficaces. Les animaux d'élevage sont très différents des animaux d'auparavant, ils sont le résultat d'une intense sélection génétique. Les animaux très productifs ont besoin des aliments énergétiques, ainsi, les rations pour les vaches les meilleures productrices de lait contiennent jusqu'à 50% de grains (Godoy et Meschy, 2001). Ainsi, même si les aliments ont une certaine teneur en P, les rations nécessitent, dans leur grande majorité, d'être supplémentées avec une source inorganique.

Chez les ruminants, les nutriments, P compris doivent maintenir l'écosystème du rumen dans des conditions favorables à l'activité des microorganismes. L'effet de P sur la digestibilité de la cellulose est documenté depuis les années 50 (Burroughs *et al.*, 1951 ; Anderson *et al.*, 1956). Les travaux sur la disponibilité de P par rapport aux différentes formes chimiques commencent pratiquement à la même époque (Anderson *et al.*, 1956 ; Hall *et al.*, 1961 ; Chicco *et al.*, 1965), ces travaux aboutissent à la conclusion que, les orthophosphates sont la forme la plus disponible pour les bactéries du rumen. Les besoins en P des bactéries sont plus élevés que ceux de l'animal hôte (Komisarczuk *et al.*, 1987b). Le phosphore alimentaire, mais principalement le P salivaire, sont les sources qui satisfont les besoins des bactéries. Le phosphore dans les bactéries est trouvé sous la forme d'acide teïcoïque, phospholipides, acides nucléiques, ATP et coenzymes. La teneur en P des bactéries est variable entre 1 et 2% de la MS, selon études réalisées *in vivo* (Durand *et al.*, 1983). Des travaux réalisés en fermenteurs artificiels ont montré le rôle fondamental de P dans la fermentation de la cellulose (Durand *et al.*, 1986) et le métabolisme bactérien (Komisarczuk

et al., 1987b). Différents phosphates ont été étudiés à l'aide des techniques *in vitro* en évaluant l'incorporation de ^{32}P à la protéine bactérienne (Vitti *et al.*, 1988) ou la dégradation de la cellulose (Martinez de Acurero *et al.*, 1993). Les meilleurs résultats ont été observés en utilisant des sources de P solubles dans l'eau. Des études ont également montré que la cinétique de libération de P dans le rumen varie selon le type d'aliment (Bravo *et al.*, 2000) et avec le traitement technologique utilisé (Konishi *et al.*, 1999 ; Park *et al.*, 1999 ; 2000). Cette variation peut diminuer la disponibilité de P pour les bactéries et la couverture de leur besoin.

Tous les travaux mentionnés ci dessus ont été réalisés *in vitro* ou en utilisant la technique de sachets de nylon. Les principaux paramètres indicateurs de l'activité microbienne [acides gras volatils (VFA), azote ammoniacal (N-NH_3), pH] n'ont pas été mesurés. Ces conditions sont un peu éloignées des conditions du rumen où le recyclage salivaire de P est présent de même qu'une éventuelle capacité des bactéries à gérer les variations de la concentration en P du milieu ruminal. L'objectif du premier essai a été d'étudier l'impact de la différence solubilité dans l'eau du phosphore a un impact sur l'activité bactérienne *in vivo*.

Dans les systèmes intensifs où la production laitière excède largement la quantité de lait nécessaire à l'alimentation du/des jeunes, la sécrétion d'éléments minéraux dans le lait, (principalement Ca et P) conduit inévitablement, surtout en début de lactation, à la mobilisation des réserves minérales osseuses (Braithwaite, 1983, Guéguen *et al.*, 1988) dans la mesure où la teneur en Ca et P du lait n'est pratiquement pas modifiée par le niveau de production. Pendant la seconde partie de la lactation, l'apport minéral alimentaire doit permettre la restauration des réserves ainsi mobilisées. L'objectif de notre seconde étude expérimentale était de préciser ce cycle chez la chèvre en lactation.

1.1.2 LE PHOSPHORE ET SON RÔLE POLLUANT

Un des premiers rapports sur le rôle de P dans l'*eutrophisation* des eaux douces a été publié en 1968 par Wollenweider. Malgré l'importance de P dans l'alimentation animale, son excès dans les effluents d'élevage est considéré comme un polluant potentiel inhérent à la production animale (Tamminga, 1996). En France, la concentration des élevages (Bretagne et Pays de Loire) augmente l'incidence polluante des déjections animales (Bravo, 2003). Des

travaux récents (Ekelund, 2003) mentionnent des concentrations en P au dessus de 25 µg/L observées dans les lacs considérés eutrophisés. L'excès de P n'affecte pas la santé humaine, mais les écosystèmes aquatiques en diminuant la disponibilité de l'oxygène.

Face à l'exigence de la protection de l'environnement, depuis quelques années la recherche sur le phosphore a retrouvé son importance. Différents pays ont réduit leurs recommandations de P alimentaire (NRC, 2001 ; Meschy, 2002 ; Valk et Beynen, 2003 ; GfE, 2003 ; Sehested, 2004). Ces nouvelles recommandations cherchent à réduire l'excrétion de P chez les animaux, puisque, chez les ruminants, l'excrétion urinaire de P est relativement faible, tandis que l'excrétion fécale, principale voie d'excrétion, représente de 60 à 70% de P ingéré (Dou *et al.*, 2002). Les recommandations antérieures incluaient d'importantes marges de sécurité pour tenir compte de la variabilité individuelle et des incertitudes scientifiques concernant l'efficacité de l'absorption par exemple.

Dans le cadre des nouvelles recommandations de Nutrition phosphorée des ruminants et des différences de la libération de P observées, nous avons conduit des études pour évaluer l'effet de la solubilité de P dans l'eau sur l'animal. Nous abordons le sujet par son effet sur le rumen (Partie Expérimentale I). Ensuite, la question qui se pose est de savoir si la solubilité affecte l'utilisation digestive et métabolique de P (Partie Expérimentale II) au cours de la lactation chez la chèvre laitière, en prenant en compte le cycle de mobilisation et restauration osseuse. Ces aspects sont peu mentionnés dans la littérature.

Chapitre 2

PARTIE EXPERIMENTALE I

L'Effet de la Solubilité du Phosphore Alimentaire sur
l'Activité Fermentaire et la Distribution du Phosphore
dans le Rumen

Les résultats, la discussion et la conclusion de ce chapitre correspondent à l'article :

“Effect of Phosphate Solubility on Phosphorus Kinetics and Ruminal Fermentation Activity
in Dairy Goats”

Anim. Feed Sci. Technol. (soumis)

2.1 INTRODUCTION

2.1.1 LE PHOSPHORE ET LES BACTÉRIES RUMINALES

Chez le ruminant, les minéraux qui arrivent au système digestif ont des effets directs et indirects sur les microorganismes. Ils peuvent être cofacteurs enzymatiques, éléments précurseurs de synthèse ou ils peuvent modifier les conditions physico-chimiques du milieu (pH, pression osmotique et potentiel Redox). Indirectement, les minéraux peuvent avoir une influence sur le temps de séjour de l'aliment dans le rumen ou la vitesse d'absorption des métabolites (Broudiscou *et al.*, 1998).

Le phosphore (P) est essentiel pour les bactéries, il participe aux différents systèmes enzymatiques et est indispensable pour la fermentation des glucides structurels principalement de la cellulose (Komisarczuk *et al.*, 1986, 1987b ; Broudiscou *et al.*, 1999). C'est un constituant important des acides nucléiques, ATP, phospholipides de la membrane cellulaire et de l'acide teïcoïque des parois cellulaires des bactéries à Gram⁺ (Durand *et al.*, 1983 ; Komisarczuk et Durand, 1991). Fonty *et al.* (1988) mentionnent un besoin en P trois à cinq fois plus important pour les bactéries à Gram⁺ (*Ruminococcus flavefaciens*) que pour celles à Gram⁻ (*Fibrobacter succinogenes*). La teneur en P des microorganismes ruminiaux est variable, entre 2 et 6% de la MS ou entre 2 et 2,8% pour les bactéries obtenues en culture pure, tandis que les études réalisées *in vivo* rapportent entre 1 et 2% (Durand *et al.*, 1983).

Les études portant sur les besoins en éléments minéraux des bactéries ruminales ont principalement été réalisées *in vitro*, en utilisant des cultures microbiennes ou des fermenteurs continu ou semi-continu. Pour le phosphore, les résultats sont variables : entre 0,1 et 0,2 g/L de milieu d'incubation. Beaumatin (1981) a utilisé ³²P pour mesurer son incorporation chez les bactéries ; il a montré que P est incorporé malgré la non-utilisation de l'azote ammoniacal (N-NH₃) ou l'absence de protéosynthèse. La carence conduit à un découplage des fermentations, les bactéries produisent des acides gras volatils, mais la biomasse ne croît pas. Le phosphore inorganique incorporé serait utilisé dans les réactions enzymatiques mais pas pour la protéosynthèse.

L'incorporation de ^{32}P correspond à la croissance totale (« besoin total »). Van Nevel et Demeyer (1977) ont observé, suite à la lyse bactérienne et à la libération de N-NH_3 et d'azote protéique (NP) qu'elle entraîne, la prolifération simultanée des bactéries qui incorporent l'azote disponible. Les quantités de N-NH_3 et de NP synthétisées proviennent de la différence entre la croissance et la lyse bactériennes (« besoin net »). Kumaresan (1976) et Beaumatin (1981) ont rapporté une utilisation entre 0,2 et 0,4 g de $\text{N-NH}_3/\text{L}$ et une incorporation de P entre 0,05 et 0,06 g/L de milieu d'incubation selon l'âge des animaux donneurs (moutons adultes et agneaux, respectivement). L'activité fermentaire dans l'inoculum provenant d'animaux carencés a été améliorée avec l'addition de 0,1 g de P/L au milieu qui contenait 0,07 g de P/L (Durand *et al.*, 1983).

Durand *et al.* (1986) en utilisant de la paille traitée à l'ammoniac comme substrat dans un système de fermentation semi-continu (RUSITEC) ont observé que l'addition de 0,12 g de P/L de milieu améliorait la fermentation des fibres, la production d'acides gras volatils et de gaz, mais la protéosynthèse n'a pas été significativement affectée. L'addition d'urée a permis d'augmenter la protéosynthèse. Cette synergie n'a pas été observée dans les milieux carencés en P. La fermentation de la cellulose et de la production d'acétate (C2) a augmenté dans les milieux enrichis en P, mais pas dans ceux enrichis en urée. Cette expérience a été déterminante pour identifier le rôle de P dans la digestion des parois cellulaires des végétaux. La forte dépendance de la production de C2 peut être expliquée par les voies de synthèse de la molécule chez les bactéries. Dehority (2004) mentionne deux voies principales pour la production d'acétate à partir du pyruvate (Figure 1).

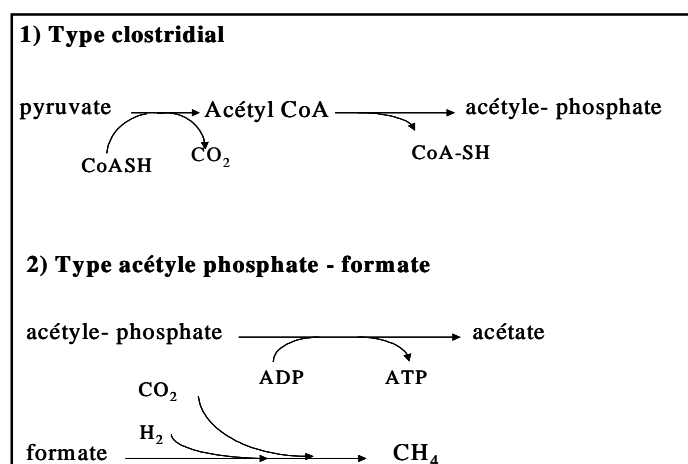


Figure 1. Voies de production d'acétate chez les bactéries ruminales.

L'activité enzymatique des bactéries est aussi pénalisée par une carence en P. L'endoglucanase de *Fibrobacter succinogenes* a été négativement affectée avec des concentrations de 0,05 g de P/L tandis que celle de *Ruminococcus flavefaciens* a augmenté de 29% avec une concentration en P de 0,15 g/L. Les fermentations de l'amidon et de l'hémicellulose requièrent des quantités plus faibles de P que celle de la cellulose (Komisarczuk et Durand, 1991).

Komisarczuk *et al.* (1987b) ont étudié l'effet de P sur l'activité microbienne dans le rumen (croissance, composition chimique et concentration en ATP) des phases solide et liquide. La carence en P a eu un effet significatif dans l'utilisation de l'azote ammoniacal par les bactéries associées à la phase solide (SAB) et les bactéries associées à la phase liquide (LAB), mais le mécanisme précis de cet effet n'a pas été clairement établi. L'azote bactérien incorporé aux aminoacides ou peptides a été plus important pour les SAB (46%) que pour les LAB (19%). Le phosphore d'origine alimentaire dans le milieu carencé (0,02 g/L) ayant été la forme préférentiellement utilisée par les SAB. Komisarczuk *et al.* (1984) ont montré que la diminution de la concentration en P (de 0,37 à 0,02 g/L) dans le milieu d'incubation a provoqué la réduction de la population de protozoaires (de 2×10^4 à 8×10^3 /mL), de la production des acides gras volatils (de 78 à 50 mmol/L) et de la concentration en ATP (de 5,9 à <1 mg/L). Les changements ont été associés à l'augmentation du pH (de 6,5 à 7,1) et l'accumulation de N-NH₃ (de 9 à 15 - 20 mmol/L).

L'adénosine triphosphate (ATP) est essentielle pour le métabolisme des bactéries, sa teneur en P est de 180 mg/g et elle est le premier paramètre affecté par la déplétion de l'élément dans le milieu. Komisarczuk *et al.* (1987b) ont observé la diminution progressive de la concentration en ATP (Figure 2) en liaison avec celle de P (0,08 ; 0,04 et 0 g de P/L) pour atteindre 66,7% de celle du témoin (0,120 g/L) en fin d'expérience. L'effet n'a été attribué ni aux protozoaires puisque leur population n'a pas été significativement réduite, ni à la diminution de P intra-bactérien, mais à la réduction de la biomasse bactérienne. Ces effets ont été réversibles, indiquant une sélection possible des genres bactériens peu exigeants en P. La protéosynthèse a été maintenue en dépit des faibles concentrations en ATP et le P disponible a probablement contribué à maintenir la synthèse des acides nucléiques (Komisarczuk *et al.*, 1987b).

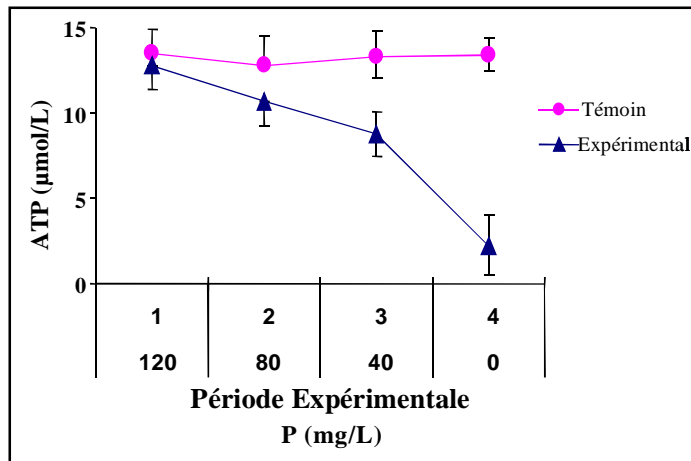


Figure 2. Concentrations en ATP en cultures continues contenant 120 ; 80 ; 40 et 0 mg de P/L pour les périodes expérimentales. Les lignes verticales représentent les différences minimales significatives. (D'après Komisarczuk *et al.*, 1987b)

Durand *et al.* (1988) ont observé *in vitro* l'augmentation de la production de méthane (CH_4 , $0,58 \pm 0,02$ mmol/mol d'hexose) avec l'utilisation de fourrages de mauvaise qualité. Les bactéries méthanogènes ont probablement des besoins en P moins importants que les bactéries acétogènes. Cela expliquerait l'augmentation des concentrations en CH_4 en situation carencielle (Durand *et al.*, 1987).

Les incorporations bactériennes d'azote (N) et de P dépendent directement de la production d'énergie issue de la fermentation (Van Nevel et Demeyer, 1977). Ainsi, les besoins en minéraux des bactéries sont davantage liées à la MO digestible ou à la MO fermentescible dans le rumen (MOF_r) qu'à la matière sèche (MS).

Les besoins pour la cellulolyse et pour la protéosynthèse sont estimés à 6,9 et 4,3 g de P disponible par kg de MOF_r respectivement, soit environ 4,5 et 2,8 g par kg de MO digestible (Durand et Kawashima, 1980 ; Komisarczuk et Durand, 1991).

2.1.2 LES SOURCES DU PHOSPHORE ET LEUR DISPONIBILITÉ POUR LES BACTÉRIES RUMINALES

Le phosphore doit être sous une forme soluble dans le rumen pour pouvoir être utilisé par les microorganismes ; ceux-ci disposent de deux sources d’approvisionnement : le P contenu dans les aliments ou les sources inorganiques d’apport complémentaire et celui qui provient du recyclage salivaire.

La cinétique de libération du phosphore des fourrages est peu documentée dans la littérature en raison des difficultés méthodologiques rencontrées pour sa mesure (Bravo *et al.*, 2000). La disponibilité de P pour les bactéries semble suivre le rythme de la dégradation de la MS, après une phase de libération de la fraction facilement solubilisable (Playne *et al.*, 1978).

La vitesse de libération de P dans le rumen des aliments concentrés a fait l’objet de quelques travaux dont les résultats montrent des différences notables entre matières premières, par exemple de 64,4% pour le tourteau de colza à environ 90% pour le blé et ses issues dans l’étude de Bravo *et al.* (2000). Par ailleurs, certains traitements technologiques (toastage, tannage par le formol) ont un effet inhibiteur plus ou moins marqué sur la cinétique de libération de P dans le rumen (Konishi *et al.*, 1999 ; Park *et al.*, 1999, 2000 ; Bravo *et al.*, 2000).

Les sources inorganiques de P ont été davantage étudiées ; ainsi, dès 1961, Hall *et al.* ont comparé *in vitro* les effets du phosphate monosodique, du métaphosphate et du pyrophosphate acide de sodium et du phytate de calcium sur la dégradation de la cellulose, et les meilleurs résultats ont été obtenus avec le méta phosphate de sodium et les moins bons avec le phytate de calcium. Dans l’étude de Chicco *et al.* (1965) les sources le mieux utilisées pour la cellulolyse ont été les ortho- et les méta phosphates et la moins bien a été le pyrophosphate. Martinez de Acurero *et al.* (1993) ont montré une supériorité des phosphates solubles dans l’eau pour la dégradation de la cellulose.

La contribution de la salive au recyclage des minéraux (bicarbonates et phosphates, urée) et de l’eau est essentielle pour l’homéostasie du ruminant. Les principales formes de P salivaire sont les phosphates de sodium et potassium (NRC, 2001), très disponibles pour les bactéries du rumen. Le phosphore salivaire serait la source principale pour les bactéries ruminales en

particulier lorsque la ration ne contient que du phosphore insoluble dans l'eau (Durand et Kawashima, 1980).

La sécrétion salivaire dépend des facteurs tels que la MS ingérée (MSI), les quantités de fourrage dans la ration et la granulométrie. Khorasani *et al.* (1997) ont observé une production de salive plus élevée chez des vaches laitières qui recevaient des rations riches en parois végétales.

La concentration en P de la salive est influencée par la phosphorémie, la liaison est linéaire entre 31 et 93 mg/L. Le recyclage salivaire journalier est de 30 à 90 g de P chez les bovins (NRC, 2001 ; Satter, 2003). Valk *et al.* (2002) ont montré l'adaptation rapide de la concentration salivaire de P aux faibles apports alimentaires en cet élément, ce qui traduit probablement une contribution du tissu osseux. La régulation de la teneur en P de la salive répond également aux apports alimentaires excessifs (Müschen *et al.*, 1988). La production salivaire présente des variations au cours de la journée, elle est plus importante lors de l'ingestion et de la rumination. Carter *et al.* (1990) mentionnent que le pic de sécrétion est atteint quelques minutes après le début de l'ingestion et n'est pas conditionné par la taille du repas.

Des incertitudes subsistent quant à l'importance de la solubilité du phosphore alimentaire sur l'activité des microorganismes du rumen car les études *in vitro* (cultures de bactéries, fermenteurs ou mesures en sachets nylon) ne prennent pas en compte le recyclage salivaire de P et l'éventuelle possibilité des bactéries de s'adapter aux variations de la concentration en P dans le milieu.

Les travaux qui ont montré des différences marquées dans la cinétique de libération de P dans le rumen, ont été réalisés *in situ* sans mesurer simultanément les principaux indicateurs de l'activité microbienne [pH, N-NH₃, acides gras volatils (VFA)...]. Cet essai a eu comme objectifs d'étudier l'impact de la différence de solubilité de la source de P sur les indicateurs de l'activité microbienne *in vivo* (pH et VFA), et d'évaluer l'effet de la solubilité sur les variations postprandiales de la teneur en P dans les différentes phases du rumen et dans les bactéries qui leur sont associées.

2.2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.2.1 Animaux

Cette étude s'est déroulée à la chèvrerie expérimentale de Grignon (UMR INRA-Agro Paris Tech Physiologie de la Nutrition et Alimentation). Huit chèvres (six de race Alpine et deux de race Saanen) ont été utilisées. Les animaux ont été munis de canule permanente du rumen sous anesthésie générale trente deux jours avant le début de l'expérience. Après la période de récupération, deux groupes de quatre chèvres chacun ont été constitués sur la base du poids vif ($60 \pm 1,4$ kg) et de la production laitière antérieure. Les animaux ont été placés en cases individuelles. La période expérimentale a commencé au début de lactation (42 à 52 jours de lactation). Les chèvres ont été traitées à la machine deux fois par jour (07h00 et 16h00).

2.2.2 Aliments et Alimentation

Avec l'objectif de tester l'effet de la solubilité de la source de P alimentaire sur l'activité fermentaire du rumen, deux types de phosphates ont été utilisés : **phosphate monocalcique** [$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$] et **phosphate bicalcique dihydraté** [$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$] comme sources de P soluble et insoluble dans l'eau, respectivement (Tableau 1). Des sources fourragères (foin de graminées et pulpe de betteraves) et des matières premières [amidon de maïs et caséine chlorhydrique (HCl)] pauvres en P ont été choisies comme ingrédients des rations expérimentales (Tableau 2), de cette façon, la majorité de P serait apportée par les phosphates. Les matières premières mentionnées ont été utilisées pour la fabrication des aliments granulés (5 mm) à l'Unité de Production des Aliments Expérimentaux (INRA de Jouy-en-Josas). La ration complète comprenait (sur la base de la MS) 40% de pulpes de betteraves, 30% de foin de graminées et 30% d'aliment concentré. Les rations expérimentales ont eu les mêmes teneurs en énergie, azote, Ca et P (Tableau 2). La valeur d'UFL pour la caséine HCl a été obtenue en utilisant les équations du système d'alimentation français (Vermorel, 1978), les valeurs utilisées ont été les suivantes : EB=5200 kcal/kg ; ED=4940 kcal/kg et EM=4050 kcal/kg, tandis que ses valeurs de PDIA, PDIE et PDIN ont aussi été obtenues selon le même système (Jarrige *et al.*, 1978). L'apport de P a été conforme aux dernières recommandations en P absorbé (Meschy, 2002). La seule différence entre les lots a été la nature de la source de P alimentaire, ainsi, les groupes expérimentaux ont été identifiés comme **MONO** (phosphate

soluble = monocalcique) et **BIC** (phosphate insoluble = bicalcique). Les aliments granulés ont apporté 71% de P alimentaire. Les rations ont été distribuées deux fois par jour (08h00 et 15h00) pendant la période d'adaptation aux conditions expérimentales (deux semaines) et les deux semaines de mesures. Les aliments et l'eau de boisson ont été disponibles à volonté.

Tableau 1. Caractéristiques chimiques des phosphates utilisés (valeurs analytiques)

	Phosphate monocalcique (P soluble)	Phosphate bicalcique dihydraté (P insoluble)
Cendres (%)	80,25	86,50
Ca Total (%)	19,00	23,00
P Total (%)	23,20	17,20
P soluble dans l'acide citrique à 2% (%)	97,97	95,75
P soluble dans l'eau (% de P Total)	79,70	0,36
pH (solution 1%)	3,73	7,26

Tableau 2. Ingrédients des aliments concentrés semi-purifiés et valeurs nutritionnelles des rations expérimentales

	MONO	BIC
ALIMENT CONCENTRE (g/kg MS)		
Amidon de maïs	555,0	555,0
Caséine chlorhydrique	350,0	350,0
Huile de maïs	47,5	50,0
Carbonate de calcium	13,0	0,0
Phosphate monocalcique	34,5	0,0
Phosphate bicalcique dihydraté	0,0	45,0
VALEUR NUTRITIONNELLE DES RATIONS (g/kg MS)		
MAT	172,90	172,90
UFL	1,04	1,04
PDIA	26,07	26,07
PDIN	100,40	100,40
PDIE	89,49	88,49
NDF	378,60	378,60
ADF	213,10	213,10
Ca total	7,77	7,81
P total	3,30	3,39
P soluble	2,90	1,03

MONO= phosphate monocalcique BIC= phosphate bicalcique

2.2.3 Mesures et prélèvements

En raison de notre dispositif expérimental, le prélèvement journalier sur tous les animaux n'a pas été possible, ainsi, deux lots de deux chèvres de chaque groupe (**MONO** et **BIC**) ont été constitués. Le premier lot a été prélevé les jours 1, 3, 5, et 7 de la période expérimentale, tandis que le deuxième lot a été prélevé les jours 2, 4, 6 et 8.

Le contenu du sac dorsal du rumen a été prélevé avant le repas du matin (temps = 0) et puis à 90, 180 et 360 min après le repas. Le contenu du rumen a été déposé dans un béccher en polypropylène, les particules alimentaires ont été séparées de la phase liquide par filtration sur une toile de nylon (50 µm de voie de maille). Immédiatement après le prélèvement, le pH de la phase liquide a été mesuré (PHM 220, Lab pHmeter, Meter Lab., Radiometer, Copenhagen). Pour le dosage des acides gras volatils, 3 mL du liquide filtré ont été préservés en ajoutant 0,3 mL d'acide orthophosphorique à 5% (vol/vol), puis ils ont été préservés à -20°C pour dosage ultérieur. Le reste du liquide filtré a été conservé dans des flacons en plastique pour la séparation immédiate des bactéries associées à la phase liquide (LAB).

Environ 70 g de contenu ruminal solide ont été conservés dans des flacons en plastique et congelés à -20°C pour la séparation ultérieure des bactéries associées à la phase solide (SAB).

Pour estimer la cinétique de la MS ingérée cumulée (DMI360) et de P total et soluble (Pint360 et SP360, respectivement), nous avons enregistré la consommation d'aliment aux temps 0, 90, 180 et 360. La production laitière a été enregistrée deux fois par semaine.

2.2.4 Analyses

Activité fermentaire dans le rumen

L'activité des microorganismes ruminiaux a été estimée en dosant les acides gras volatils. Les échantillons de liquide ruminal ont été décongelés à température ambiante, ensuite ils ont été centrifugés à 17000×g pendant 20 min à 4°C (MR23i, JOUAN S.A., Saint Herblain, France). Les acides gras volatils ont été analysés dans les surnageants récupérés, selon Kristensen *et al.* (2000) par chromatographie en phase gazeuse (CP 3800, Varian, Palo Alto CA, USA). Une colonne

Restek RTX 502,2 (30m×0,32mm ; Restek Corp. Bellefonte, PA, USA) a été utilisée. La température du détecteur a été de 300°C avec un flux d'hélium de 1cm³/min.

Le phosphore dans rumen

Pour connaître la répartition de P dans les phases solide et liquide du rumen, de même que son évolution post-prandiale, des séries de centrifugations ont été faites. Le schéma général suivi est présenté à la Figure 3.

Parallèlement aux prélèvements, les LAB ont été séparées par centrifugations différentielles (Beckman J2-21M/E, Beckman, Coulter, Inc, Fullerton, CA, USA) conforme à la méthode de Smith et Mc Allan (1974). Ce travail s'est déroulé au Laboratoire de Chimie Biologique, Centre de Biotechnologie Agro-industrielle, INRA, Thiverval-Grignon. Le liquide ruminal exempt de particules alimentaires (numéro 1, Figure 3), le liquide ruminal exempt de microorganismes (numéro 2, Figure 3) et les LAB (numéro 3, Figure 3) ont été congelés à -20°C pour le dosage ultérieur de P.

Au laboratoire de l'UMR 791 INRA-Agro Paris Tech, les contenus solides du rumen ont été décongelés à température ambiante et utilisés pour obtenir les SAB (Merry et McAllan, 1983). Une adaptation à la méthode originale a été effectuée, les bactéries faiblement attachées à la phase solide ont été éliminées par agitation manuelle de l'échantillon pendant 15 min dans une solution de NaCl à 0,9% (p/v) (5 mL de solution/g de contenu solide). Le contenu a été récupéré par filtration de l'échantillon sur une toile de nylon (50 µm taille de maille). Le liquide utilisé pour le rinçage de l'échantillon a été éliminé. L'obtention des SAB a été réalisée à partir de 15 g de contenu de rumen rincé et filtré, ont été homogénéisés au mixeur et soumis à deux battages successifs (Stomacher). Le culot bactérien obtenu (numéro 4, Figure 3) a été congelé à -20°C pour l'analyse de P.

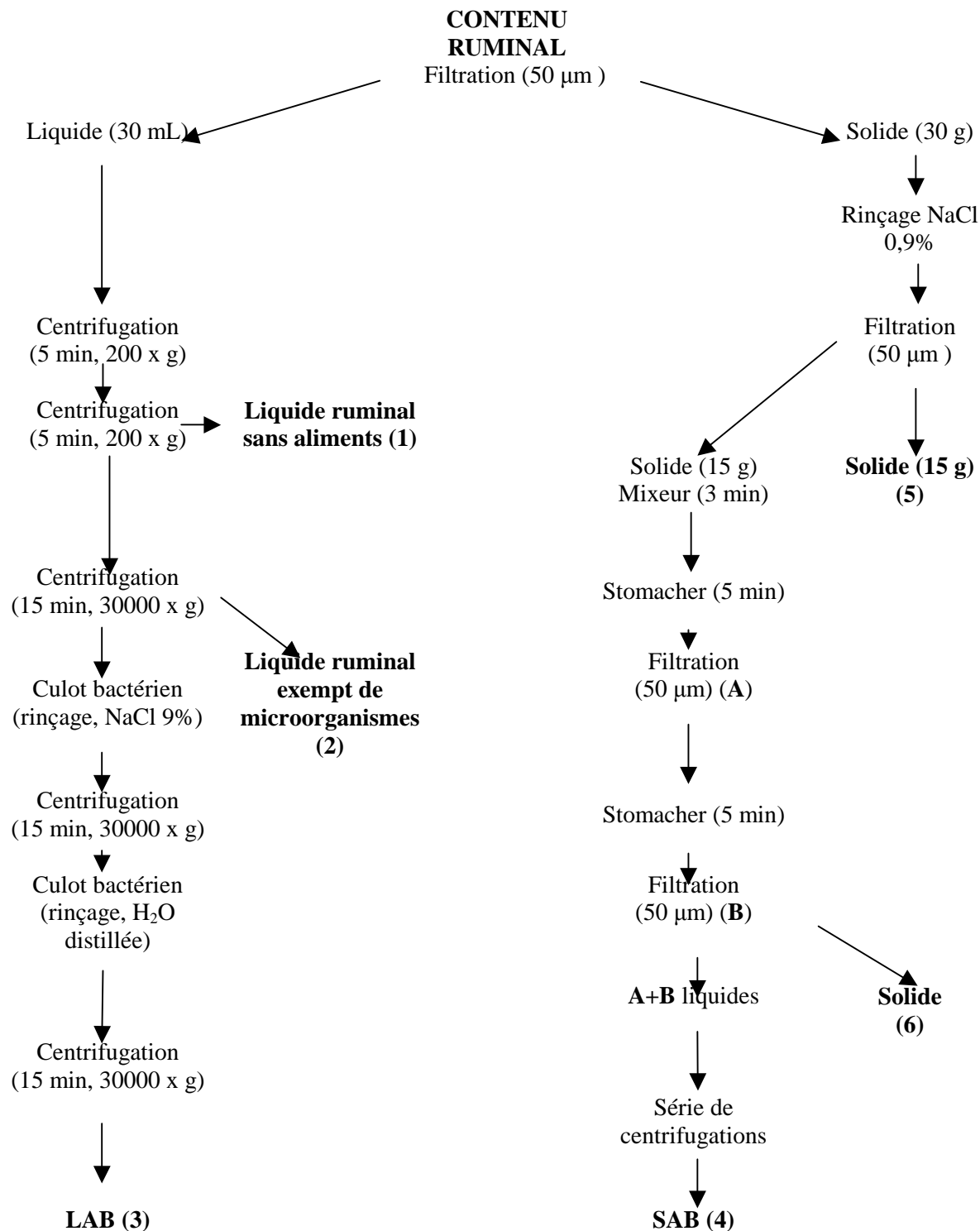


Figure 3. Séries de centrifugations utilisées pour l'obtention de la phase solide et liquide du rumen et des bactéries associées à chaque une (LAB=bactéries associées à la phase liquide, SAB=bactéries associées à la phase solide).

Les quinze grammes restants de contenu non traités et le contenu traité pour l'obtention des SAB (numéros 5 et 6, respectivement, Figure 3) ont été utilisés pour l'estimation du taux de récupération des bactéries, en utilisant le dosage des bases pyrimidiques (thymine, cytosine et uracile) et puriques (adénine et guanine). Les contenus ont été lyophilisés pendant 72 h et puis broyés sur une grille de 0,8 mm. L'extraction des bases nucléiques a été effectuée sur 200 mg d'échantillon, selon Lassalas *et al.* (1993), par chromatographie liquide à haute performance (HPLC, LDC Milton Roy ; Ivyland Road, US). Une colonne de phase inverse a été utilisée (SULPELCOSIL LC 18 DB ; 25cm×4,6mm×5µm ; Supelco, Bellefonte, PA, US). La température de la colonne a été 37°C et de tampon méthanol-acétate avec un flux de 1 mL/min a été utilisé comme phase mobile. Les chromatogrammes ont été traités par un intégrateur ENICA 31 (Delsi Nermag, Rungis France).

Pour le dosage de P, les échantillons obtenus par centrifugation différentielle ont été décongelés à température ambiante et puis séchés à 103°C pendant 24 h et calcinés à 550°C, pendant 12 h. Le liquide ruminal sans particules alimentaires et microbiennes a été déprotéinisé en utilisant de l'acide trichloracétique à 20% (p/v) (1 mL de liquide centrifugé dans 10 mL de solution finale) et re-centrifugé à 20000×g×40 min à 4°C (MR23i, Jouan SA, Saint Herblain, France). Les dosages de P total dans : 1) le liquide ruminal sans aliments (P total = TP), 2) le liquide ruminal exempt de bactéries et déprotéinisé (P disponible = AP), 4) les LAB et 5) les SAB ont été réalisés par photométrie (Cary 50 Probe, Varian, Palo Alto CA, US) en accord à la méthode 965.17 (AOAC®, 2000).

Analyses Statistiques

Production laitière

La production laitière a été analysée avec PROC MIXED (SAS Institute, 1999-2000), suivant le modèle :

Modèle 1
$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + T_j + W_k + (T \times W)_{jk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Où

μ = moyenne,

A_i = effet aléatoire dû à la chèvre ($i = 1$ à 8),

T_j = effet dû au traitement ($j = 1, 2$),

W_k = effet de la semaine de lactation ($k = 1, 2$),

$(T \times W)_{jk}$ = effet de l'interaction de T_j et W_k et

ε_{ijkl} = erreur expérimentale $\sim N(0, \sigma_e^2)$.

Mesures en cinétique

Les données des mesures en cinétique des paramètres de l'ingestion de MS et des concentrations en acides gras volatils ont été ajustées par des modèles dynamiques, en utilisant le logiciel MODELMAKER 3.0.3 (1997). Après les ajustements, les paramètres obtenus ont été testés statistiquement.

Les cinétiques d'ingestion ont été ajustées selon le modèle dynamique compartimental suivant :

Modèle 2 :
$$DMI = DMI_{max} \left(1 - \exp^{(-ksat \cdot t)} \right)$$

Où

DMI_{max} = niveau d'ingestion maximal de matière sèche (g)

$ksat$ = taux fractionnaire de satiété (%/min)

t = time (min)

La vitesse initiale d'ingestion de matière sèche [IVDMI (g/min)] a été calculée comme : $DMI_{max} \times ksat$.

Les paramètres d'ajustement des cinétiques d'ingestion de la matière sèche, d'ingestion de P total et de P soluble ont été analysés par GLM (Minitab, 1998) selon le modèle suivant :

Modèle 3 :
$$Y_{ijk} = \mu + T_i + A_j(T_i) + \varepsilon_{ijk}$$

Où

μ = moyenne,

T_i = effet dû au traitement ($i = 1, 2$)

$A_j(T_i)$ = effet dû à la chèvre hiérarchisé dans le traitement,

ε_{ijk} = erreur expérimentale $\sim N(0, \sigma_e^2)$

Les quatre temps de cinétique (0, 90, 180, 360) pour le phosphore total (TP) et le phosphore disponible (AP) ont été transformés par $\log_{10}(1+TP)$ et $\log_{10}(1+AP)$, respectivement. Les taux fractionnaires de disparition de TP et AP (DRTP et DRAP, respectivement) ont été estimés. Les valeurs initiales ajustées de phosphore total (ITCTP) et phosphore disponible (ITCAP), les résultats des concentrations initiales en phosphore total (TPini,) et disponible (APini), les concentrations observées au temps 360 (TP360 et AP360) ; et les différences (Dif) des concentrations en TP et AP observées au quatre temps (0-90 ; 180-90 ; 360-180) ont été étudiés. Tous les résultats de TP et AP ont été analysés avec GLM (Minitab, 1998). Le modèle 3 a été utilisé.

La matière organique bactérienne (OM) de LAB et SAB au temps 0 (OMLABini et OMSABini), de même que celles observées au temps 360 (OMLAB360 et OMSAB) ont été analysées par GLM (MINITAB, 1998) avec le modèle 3.

Les concentrations initiales en P des bactéries (POMLAB et POMSAB, associées au liquide et associées aux solides), celles observées au temps 360 (POMLAB360 et POMSAB360) ont été analysées en utilisant le modèle 3. Les différences des concentrations en P des bactéries associées au liquide ou associées aux solides (DifPOMLAB et DifPOMSAB) entre les temps de cinétique (0-90 ; 180-90 ; et 360-180) ont été étudiées avec le modèle 3.

Les cinétiques des acides gras volatils (VFA) ont été ajustées individuellement avec le modèle compartimental suivant :

Modèle 4 :
$$dVFA/dt = k_{syn}VFA \times VFAm - k_{abs}VFA \times VFAm$$

Où

$k_{syn}VFA$ = taux de formation d'acides gras volatils (%/h),

$k_{abs}VFA$ = taux de disparition d'acides gras volatils (%/h),

$VFAm$ = concentration instantanée des acides gras volatils (mmol/L)

La vitesse initiale de l'accroissement des acides gras volatils [$VIVFA$ (% /h)] a été calculée de la façon suivante : $VIVFA = ((VFA_{ini} \times k_{syn}VFA) - (VFA_{ini} \times k_{abs}VFA))$

Où

VFA_{ini} = concentration initiale d'acides gras volatils (mmol/L)

Les paramètres d'ajustement des acides gras volatils ont été analysés par GLM (Minitab, 1998). La MSI au temps 360 a été utilisée comme covariable pour les acides gras volatils majoritaires (acétique, propionique, et butyrique) selon le modèle suivant :

Modèle 5 :
$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B(\overline{DMI360} - \overline{DMI360})_j + A_k(T_i) + \varepsilon_{ijk}$$

Où

μ = moyenne,

T_i = effet dû au traitement (i = 1, 2)

$B(\overline{DMI360} - \overline{DMI360})_j$ = effet de la covariable

$A_j(T_i)$ = effet dû à la chèvre hiérarchisé dans le traitement,

ε_{ijk} = erreur expérimentale $\sim N(0, \sigma^2)$

Les acides gras mineurs (valérique, caproïque, isobutyrique et isovalérique) ont été analysés en accord avec le modèle 3.

Le niveau de signification retenu a été $p < 0,05$, tandis qu'une tendance a été considérée à $p \leq 0,1$. Pour la comparaison entre moyennes, le test de Tukey a été utilisé, tandis que le test de Bonferroni a été utilisé à l'usage de covariable.

Dans les résultats et discussion, la nomenclature des lots expérimentaux change à **MONO=HSP** (high soluble phosphate=monocalcium phosphate) et **BIC=LSP** (low soluble phosphate=dicalcium phosphate).

2.3 RESULTS

2.3.1 Milk yield (MY)

Milk yield ($3.4 \text{ L/day} \pm 0.17$) was not affected ($p>0.05$) by any of the included variables in the model.

2.3.2 Body weight (BW)

No body weight changes ($p>0.05$) were observed during two weeks experimental period. The average body weight was maintained at $60.0 \pm 1.4 \text{ kg}$.

2.3.3 Feeds

Temperature of pellet processing did not affect P solubility of both experimental concentrates, which contained 90% of total P as inorganic phosphate. The 87.9 and 30.4% of total P for HSP (monocalcium phosphate) and LSP (dicalcium phosphate) rations respectively were soluble in water. The water-soluble P content of LSP ration was only supplied by non-mineral feeds.

2.3.4 Dry matter intake (DMI)

The results for DMI parameters are presented in Table 3, whereas the dry matter intake kinetics are shown in Figure 4. The treatment affected ($p<0.05$) DMI_{max} , which was more important for the HSP group. The satiety fractional rate was not different ($p>0.05$) between groups. The initial dry matter intake rate (IVDMI) of the HSP group showed only a trend ($p=0.075$) to be higher. No animal effect ($p>0.05$) was observed on the adjusted parameters of DMI kinetics. The initial dry matter intake rate was positively correlated to milk yield ($n=32$, $r=0.33$, $p<0.05$).

As it was observed for DMI_{max} , dry matter intake observed six hours after feeding (DMI_{360}) was higher ($p<0.05$) for the HSP group ($HSP=1017 \text{ g}$, $LSP=829 \text{ g}$, $SEM=51$). This parameter also presented the animal effect ($p<0.05$). A relationship was observed between DMI_{360} and MY [$DMI_{360}=287.96(12.79) \times MY(L)$, $n=32$, $R^2=0.33$, $rsd=4.76$, $p<0.05$].

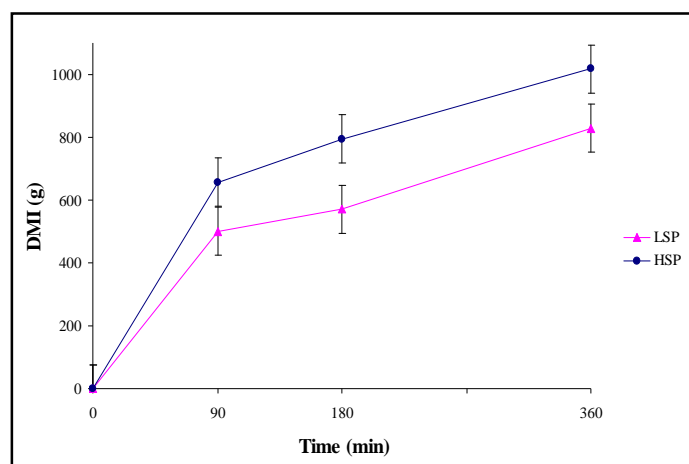


Figure 4. Dry matter intake kinetics of dairy goats fed diets containing high-(HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.

2.3.5 Phosphorus intake

The phosphorus intake observed at the time 360 was not affected by T ($p>0.05$). According to experimental protocol HSP group had a much higher ($p<0.001$) intake of soluble P at the time 360 (SP360). Animal effect ($p<0.05$) on P intake at the time 360 and SP360 was also observed.

2.3.6 Phosphorus in rumen

Total phosphorus (TP) and available phosphorus (AP)

The results of total and available P are presented in Table 4. A global trend of experimental decay of TP and AP concentrations was observed (Figure 5). The concentrations of both TP and AP became more stable since 90 min after feeding until the end of sampling period. The values of TP were closely related ($p<0.001$) to those of AP [$AP=-0.06(0.03)+1(0.04)\times TP$; $n=128$, $R^2=0.84$, $rsd=0.1$], they showed the same relations that AP parameters. For this reason, we decided to comment only the AP kinetics results.

The HSP group presented higher ($p<0.05$) values of available P for the initial concentrations (ITCAP) and those observed at the time 360 (AP360). The HSP group showed a trend ($p=0.069$) for higher values of AP_{ini}. By the first time, fractional disappearance rates of ruminal P were estimated. The fractional disappearance rate of AP (DRAP) was unaffected by the treatment, then the kinetics of both experimental groups remained parallel. No treatment effect ($p>0.05$) was observed on the differences observed on AP concentrations between different sampling times. The AP₃₆₀, the fractional disappearance rate of AP (DRAP) and the difference of AP concentration between the times 360-180 (DifAP₃₆₀₋₁₈₀) were affected ($p<0.05$) by the animal.

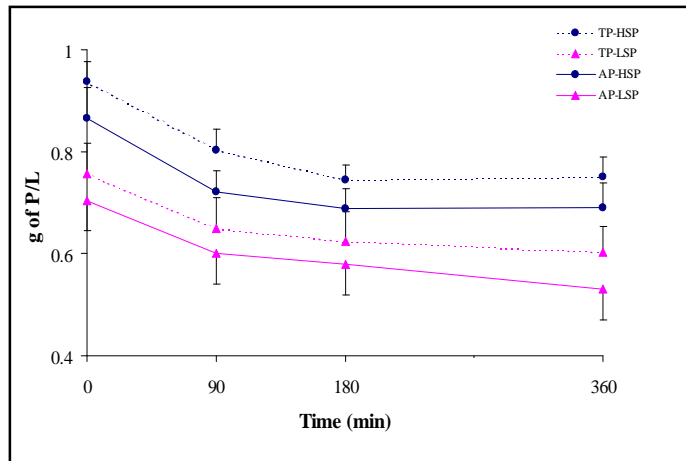


Figure 5. Total (TP) and available phosphorus (AP) concentrations in ruminal fluid from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.

An intra-animal relationship ($p < 0.001$) between the fractional disappearance rate (DRAP) and initial concentration (APini) was established (Figure 6). In this relationship, HSP group clearly showed faster DRAP (HSP = $-0.37\%/h$, LSP = $-0.98\%/h$, SEM = 0.14). In general, when APini was higher, the disappearance of AP was accelerated making steady at 0.58 g/L of AP. This implies that AP kinetics were narrowing in the time around the steady point.

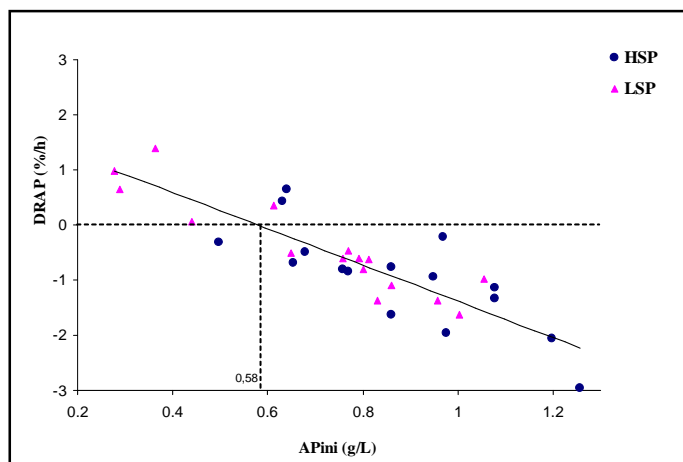


Figure 6. Intra-animal relationship between the disappearance fractional rate of available phosphorus (DRAP) and the initial concentration of available phosphorus (APini) in ruminal fluid from dairy goats fed diets containing high- (HPS) or low-soluble phosphate (LSP).

A relationship between IVDMI and APini was observed ($n=32$, $r=0.55$, $p=0.001$). The AP360 were positively related ($p < 0.001$) to soluble phosphorus intake at the time 360 [AP360 = $0.41(0.063) + 0.104(0.03) \times SP360$, $n=32$, $R^2=0.33$, $rsd=0.19$]. The available P concentrations at the time 360 and IVDMI were correlated ($n=32$, $r=0.4$, $p=0.028$).

2.3.7 Ruminal bacteria

Quantity of organic matter of liquid-associated bacteria (OMLAB)

The Figure 7 shows the variations of quantity of OMLAB observed at different sampling times. The bacteria mass exhibited a rebound after the initial decrease between the time 0 and 90. No treatment effect ($p>0.05$) was observed on whole parameters of OMLAB (Table 5). These results indicate that LAB mass pattern was not modified by phosphate solubility.

The animal effect was significant ($p<0.05$) on the differences of OMLAB observed between the times 180-90 and those observed between the times 360-180 (DifOMLAB180-90 and DifMOLAB360-180, respectively).

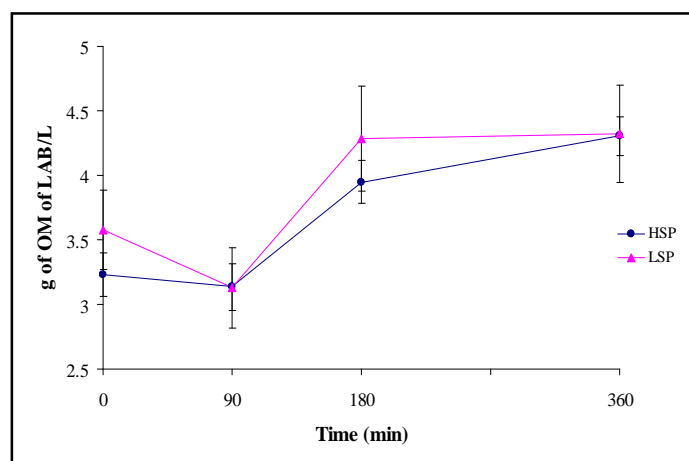


Figure 7. Organic matter of liquid-associated bacteria (OMLAB) recuperated from liquid rumen content from dairy goats fed diets containing high-(HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.

It was observed that high initial quantity of OMLAB (OMLABini) was partially associated ($n=32$, $r=0.4$, $p=0.036$) to high initial rates of DMI. Since microbial population activity determines rumen function, it also depends on feeds entry rate into rumen.

Phosphorus plays essential physiological and structural roles in bacteria. Hence the intra-animal relationship ($p<0.05$) between OMLABini and the initial concentration of AP (APini) (Figure 8) is logical. The treatment effect was significant on this relation ($p<0.05$).

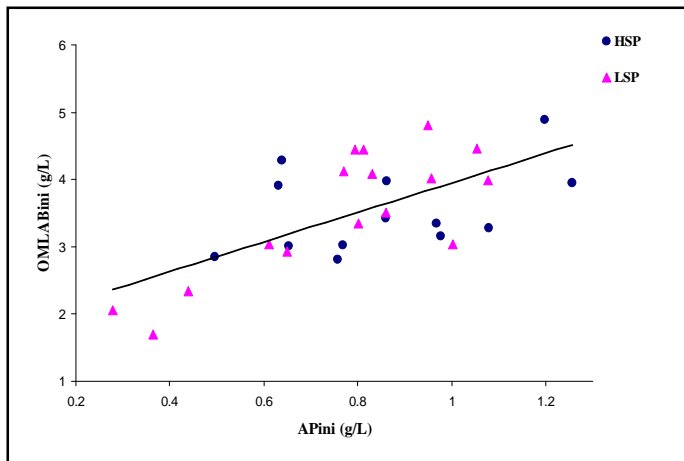


Figure 8. Intra-animal relationship between initial quantity of organic matter of liquid-associated bacteria (**OMLABini**) and initial available phosphorus concentrations (**APini**) for dairy goats fed diets containing high- (**HSP**) or low-soluble phosphate (**LSP**).

Phosphorus concentrations of liquid-associated bacteria (POMLAB)

The phosphorus concentrations of OMLAB are presented in Figure 9, where a global trend of having a rebound of P concentrations is shown. The initial phosphorus concentration in OMLAB from both experimental groups were not different ($p>0.05$) each other. However, those observed at the time 360 (POMLAB360) showed a trend ($p=0.054$) for the treatment effect (Table 5). The treatment effect ($p<0.05$) on the values of differences of POMLAB (DifPOMLAB) showed that liquid-associated bacteria from LSP presented more variations of their P content. The effect of animal ($p<0.05$) was observed on DifPOMLAB0-90 and DifPOMLAB180-90.

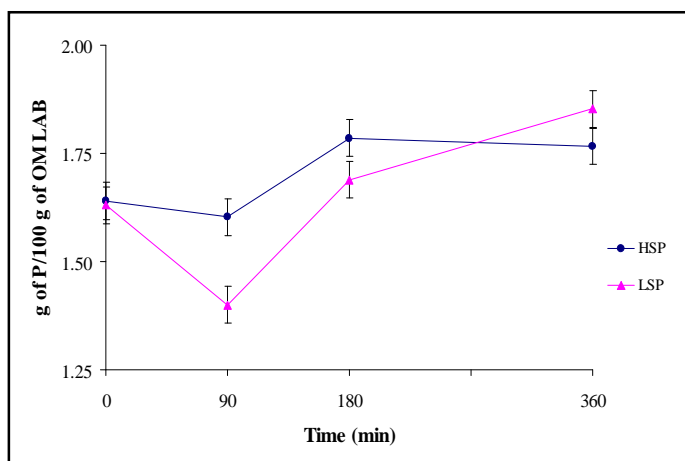


Figure 9. Phosphorus concentrations referred to organic matter of liquid-associated bacteria (**OMLAB**) of ruminal liquid from dairy goats fed diets containing high- (**HSP**) or low-soluble phosphate (**LSP**). Vertical bars represent standard error of the mean.

DifPOMLAB0-90 and DifPOMLAB360-180 were negatively correlated with soluble P intake at the time 360 (n=31, r=-0.4, p<0.05). These results mean that high SP360 were associated with increase in POMLAB between the times 0-90, and with decrease between the times 360-180. The initial P concentration of OMLAB were correlated with the difference of AP180-90 (n=31, r=-0.4, p<0.05). When POMLABini were high, AP increase weakly between the times 90 and 180. A correlation between DifPOMLAB360-180 and DifAP360-180 was established (n=32, r=-0.4, p<0.05). High increase of P content of OMLAB was associated to less increase of AP between the times 180 and 360.

Quantity of organic matter of solid-associated bacteria (OMSAB)

Purine and pyrimidine bases were used as indicators of bacterial recuperation from solid rumen content. The chromatograms showed that some sample compounds had retention times around those of cytosine and uracyle. Therefore guanine, thymine and adenine were used to estimate the percentage of nucleobase recuperation, which was of $56.72 \pm 1.09\%$. The bacterial recuperation was not different (p>0.05) neither between experimental groups nor sampling times.

The quantities of organic matter of SAB at the different sampling times are shown in Figure 10, they were unaffected (p>0.05) neither by the treatment nor by the animal (Table 5). The treatment and the animal effects on differences of OMSAB between the sampling times were not significant (p>0.05). These results implied that OMSAB mass in percent of DM rumen content did not significantly vary in the time.

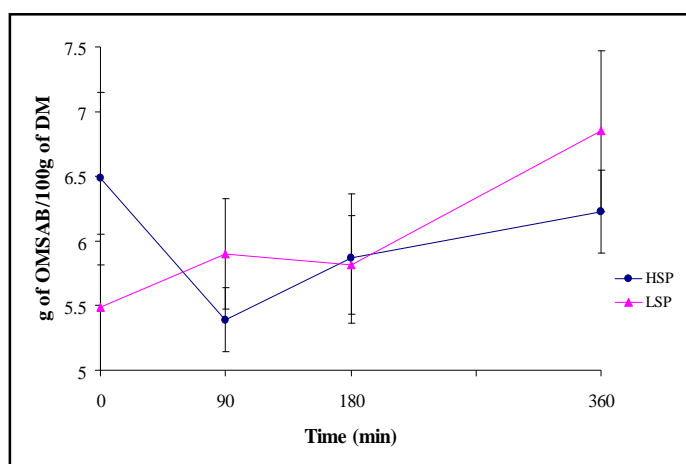


Figure 10. Organic matter of solid-associated bacteria (OMSAB) harvested from solid rumen content from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.

Animals having high values of initial dry matter intake rate (IVDMI) presented low OMSAB at 360 min after feeding [$\text{OMSAB}_{360} = 8.27(0.64) - 0.22(0.06) \times \text{IVDMI}$, $n=32$, $R^2=0.35$, $\text{rsd}=1.5$, $p=0.001$].

The relation between the quantities of OMSAB and initial concentrations of AP (APini) was only significant ($p < 0.001$) at the time 360 [$\text{OMSAB}_{360} = 10.6(0.87) - 5.1(1.04) \times \text{APini}$, $n=32$, $R^2=0.47$, $\text{rsd}=1.36$]. The SAB quantities observed at the times 0, 90 and 180 were not associated to APini. The initial quantities of OMLAB tended ($n=32$, $r=-0.4$, $p=0.06$) to be associated to OMSAB360.

Phosphorus concentrations of solid-associated bacteria (POMSAB)

The phosphorus concentrations in OMSAB are presented in Figure 11, they decreased at the time 90 and remained fairly constant until 360 min after feeding. In general, the treatment effect ($p > 0.05$) were not significant on whole parameters of P concentration of OMSAB (Table 5). The animal effect was observed ($p < 0.05$) on both POMSAB360 and the difference of POMSAB at the times 180-90. A trend ($p=0.092$) for the animal effect on POMSABini and DifPOMSAB0-90 was observed.

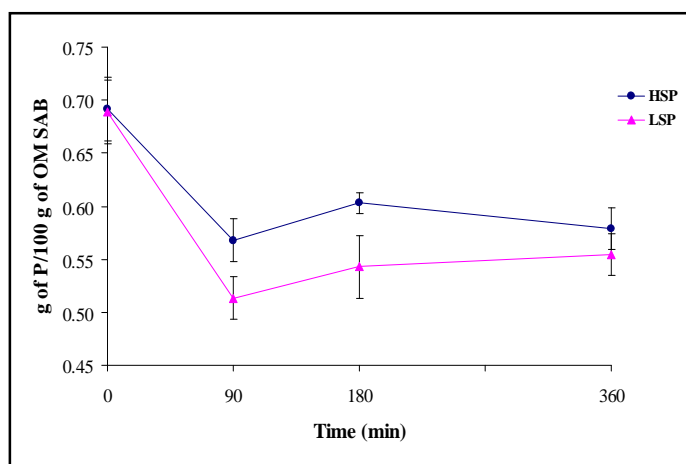


Figure 11. Phosphorus concentrations referred to organic matter of solid-associated bacteria (OMSAB) of ruminal solid content from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.

The Figure 12 shows the significant ($p < 0.001$) relationship between DifPOMSAB0-90 and POMSABini. High initial concentrations of POMSAB were associated to low differences of POMSAB0-90. That is to say, that high initial P bacterial contents decrease more quickly

between 0 and 90 minutes after feeding. Diminishing P content made steady when POMSABini was 0.54 g/100 g of OMSAB. The relation showed effects ($p < 0.05$) of both treatment and animal. The LSP had higher values of DifOMSAB0-90 (HSP=0.12, LSP=0.18, SEM=0.02).

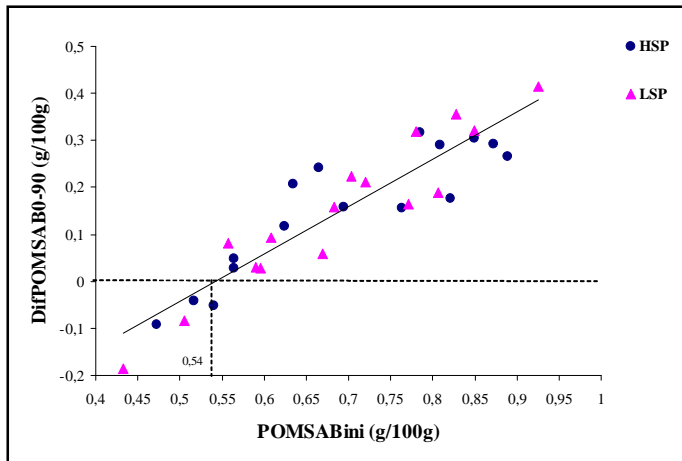


Figure 12. Intra-animal relationship between differences observed of phosphorus concentration in organic matter of solid-associated bacteria (**DifPOMSAB0-90**) and the initial phosphorus concentration in organic matter of solid-associated bacteria (**POMSABini**) from dairy goats fed diets containing high- (**HSP**) or low-soluble phosphate (**LSP**).

2.3.8 Ruminal fermentation

Volatile Fatty Acids (VFA)

The volatile fatty acids kinetics are presented in Figure 13. The LSP group presented higher values ($p < 0.05$) for both the synthesis (k_{synVFA}) and the disappearance (k_{absVFA}) rates (Table 6). A trend ($p = 0.056$) for the treatment effect was observed on the initial concentration of VFA (VFA_{ini}), which was lower for the LSP group. This group showed a trend ($p = 0.094$) to having high rate of increase concentration of VFA ($VIVFA$). The only one parameter of VFA kinetics affected by the animal ($p < 0.05$) was VFA_{ini} .

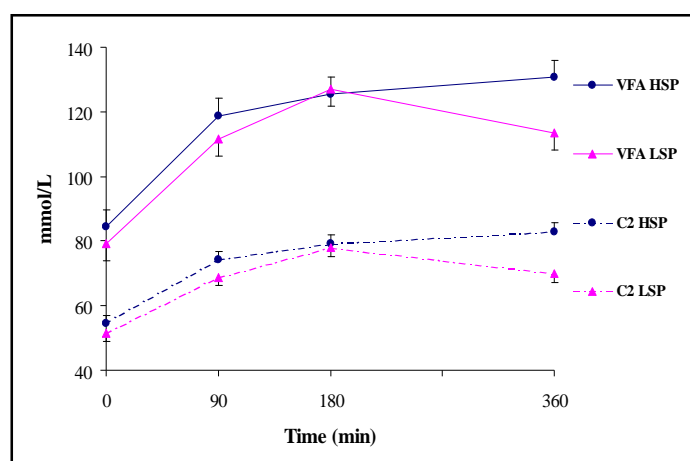


Figure 13. Volatile fatty acids (VFA) and acetic acid (C2) concentrations in rumen of dairy goats fed diets containing high-soluble phosphate (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.

A tendency ($p=0.073$) between formation rate of VFA (k_{synVFA}) and initial rate of DMI (IVDMI) was observed. The disappearance rate of VFA (k_{absVFA}) was related ($p<0.05$) to IVDMI. In our compartmental model used to adjust the kinetic parameters of VFA, the input was represented by k_{synVFA} , while the output was represented by k_{absVFA} . In this way, flows of VFA, mainly output was favored by fast initial feed intake. The rate of increase of VFA concentration (VIVFA) and initial concentration of available phosphorus (ITCAP) were correlated ($n=32$, $r=0.4$, $p=0.025$). This relation was established because both k_{synVFA} and k_{absVFA} were associated ($p<0.05$) to ITCAP.

Parameters of VFA kinetics were correlated ($p<0.05$) with the parameters of LAB and SAB. Thus, the average of VFA concentrations were related to quantity of OMLAB at the time 360 ($n=32$, $r=0.62$). The difference of P content of OMLAB between the times 0 and 90 (DifPOMLAB0-90) was correlated to VIVFA, k_{synVFA} and k_{absVFA} ($n=31$, $r=0.50$). The formation rate of VFA ($n=32$, $r=0.5$) was associated to differences of POMSAB360-180.

Acetic acid (C2)

The kinetics of acetic acid are shown in Figure 13, where the patterns of VFA and C2 curves are similar. In this study, the acetic, propionic and butyric acid concentrations represented 99.7% of VFA [$VFA=1.4(0.63)+1.02(0.01)\times C2+0.99(0.03)\times C3+1.42(0.06)\times C4$, $n=128$, $rsd=1.3$, $p<0.001$]. In fact, the VFA and C2 concentrations were the most closely related

[VFA=0.53(2.9)+1.6(0.04)×C2, n=128, R²=0.92, s=6.81, p<0.001]. Thus, the results of VFA and C2 kinetics were closed (Table 6). The LSP group showed a trend (p=0.069) to have a smaller averages of C2 (C2av). The acetic acid was the most abundant volatile fatty. Hence, its parameters considerably influenced the mentioned associations between VFA and the other studied parameters. The rate of increase of C2 concentration (VIC2) and initial concentration of available phosphorus (ITCAP) were correlated (n=32, r=0.4, p=0.04) such as it was observed for VIVFA.

Propionic acid (C3)

The Figure 14 shows kinetics of propionic acid. Results for kinetic parameters of C3 are shown in Table 6, they were similar to those of VFA. In this case a clear effect of the treatment was observed on the initial rate of increase of C3 concentrations (VIC3) which were higher (p<0.05) for the LSP group. The animal effect was significant (p<0.05) not only on C3ini, but also on ksynC3 and VIC3.

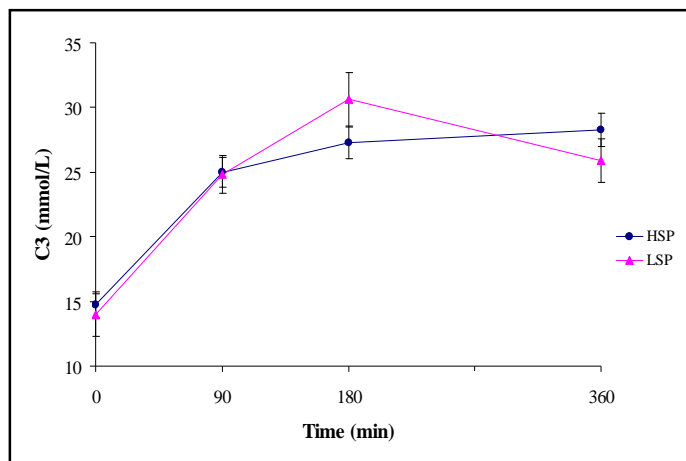


Figure 14. Propionic acid (C3) concentrations in rumen of dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.

As it was observed for VFA and C2, high flows of propionic acid were associated (p<0.05) to high initial concentrations of available phosphorus (ITCAP). The initial and average C2:C3 ratio were not affected (p>0.05) neither by T nor by A(T) (Table 6). The general means were 4.02±0.19 and 3.16±0.08 for C2:C3av and C2:C3ini, respectively.

Butyric acid (C4)

The Figure 15 presents butyric acid kinetics. In this case the disappearance rate ($k_{abs}C4$) was higher ($p=0.05$) for the HSP group. The effect of treatment showed a trend ($p=0.066$) on initial concentrations of C4 ($C4_{ini}$). The effect of A(T) was significant ($p<0.05$) on studied kinetic parameters except on $k_{abs}C4$ (Table 6).

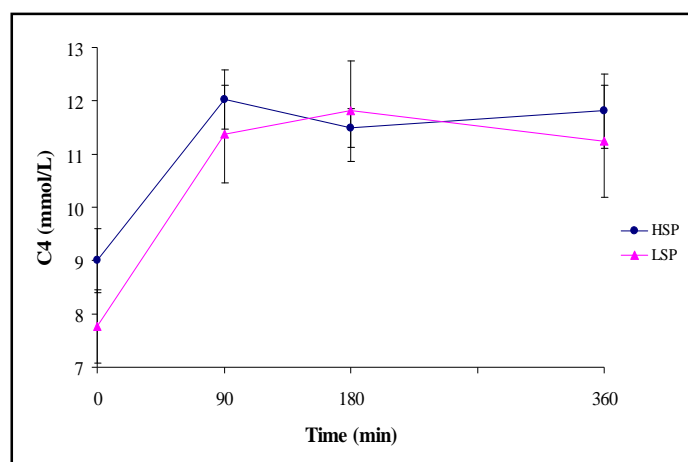


Figure 15. Butyric acid (C4) concentrations in rumen of dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP). Vertical bars represent standard error of the mean.

Minor volatile fatty acids

The results of minor volatile fatty acids (valeric, caproic, isobutyric and isovaleric acids) are shown in Table 7. None treatment effect ($p>0.05$) was observed on whole parameters of valeric acid (C5). However, the LSP group presented higher values ($p<0.05$) of formation ($k_{syn}C6$) and disappearance ($k_{abs}C6$) rates of caproic acid (C6). The same group had lower average concentrations of isobutyric acid ($IC4_{av}$) and higher values ($p<0.05$) of $k_{abs}IC4$. The average of isovaleric acid $IC5_{av}$ and $VIIC5$ were higher for the HSP group. The LSP group presented higher values of $k_{abs}IC5$. The animal effect was significant ($p<0.05$) on the average and initial concentrations of C5, $IC4$ and $IC5$. It also affected ($p<0.05$) k_{syn} (C6, $IC4$), k_{abs} (C6, $IC4$, $IC5$) and $VIC5$.

2.4 DISCUSSION

Milk composition from dairy cattle was not affected, either by P level (Lopez *et al.*, 2004) or by P source (Knowlton *et al.*, 2001). Valk and Šebek, (1999) have reported in dairy cows a decrease in milk yield as consequence of low DMI, due to low P feeding during long time (two lactations). In our study, neither variation of milk yield nor in milk composition were observed because of short experimental period (two weeks) and an adequate P supply.

The rations were formulated according to the last recommendations of P nutrition and feeding for ruminants (Meschy, 2003). According to goat daily DM ingestion mean (2.6 kg DM) and milk yield, the estimated requirement of absorbed P was 6 g/d. Considering a true absorption coefficient of 75% for experimental rations, the total P requirement was 8 g/d. In this work goats ingested 8.6 g/d which theoretically satisfied their phosphorus requirements. The positive effect of P on feed intake has already been reported (Valk and Šebek, 1999; Underwood and Suttle, 1999), it is principally attributed to an effect on bacterial activity. Our results led us to believe that, a high P water solubility is a factor which could enhance feed intake. The total P intake was similar for both the HSP and the LSP groups; in contrast, the rations largely differed in water solubility of P. The HSP group had more important values of DMI₃₆₀, DMI_{max} and a trend to eat slightly faster. Direct relationships currently observed between DMI parameters and milk yield are classical.

Phosphorus in rumen liquid has already been quantified under several experimental conditions (Bennink *et al.*, 1978; Witt and Owens, 1983) and the P concentrations observed in this study were similar. However, concerning AP proportion, our data differed with those from Durand *et al.* (1982) who observed that AP only represented 26% of TP. This difference could be explained because they only considered ultrafiltrable P as available for the bacteria. As the changes of TP parameters are mainly explained by those of AP, only AP results are discussed. It is logical that, the AP concentration remained higher for the HSP group, because of the differences in soluble P intake (HSP=2.98, LSP=0.87 g at time 360) and, the slow apparent fractional rate of disappearance of AP out of the rumen liquid (HSP=-0.64, LSP=-0.72%/h). Witt and Owens (1983) have also shown the *in vivo* impact of the differences of P availability of some phosphates (from 75 to 80% for mono-dicalcium and 40% for defluorinated rock phosphate) compared with sodium phosphate (100%).

Bennink *et al.* (1978) have observed that P concentration in rumen fluid is a function of several factors such as its dietary content and type of ration. In the relationship between AP360 and soluble P intake at the same time, 33% of available P in ruminal liquid was explained by soluble P intake. The remainder (67%) could be partially explained by other P source, probably the salivary P recycling, which can represent until 80% of endogenous P recycled in digestive system (Care, 1994). In the mentioned relationship, the AP360 concentration without soluble P intake was 0.41 g/L which is considerably higher than the inorganic P concentrations (from 0.075 to 0.1 g/L) considered as the minimal necessary in order to keep the optimal bacterial activity for degradation and microbial synthesis (Komisarczuk *et al.*, 1987a).

The decay in AP concentrations in the time is explained by several factors: dilution phenomenon of rumen content with feed entry rate, a passage of P content from the rumen to the other parts of gastrointestinal tract and by ruminal P absorption. Phosphorus absorption across the rumen wall occurs only above 0.127 g/L of P concentrations (Breves *et al.*, 1988; Beardsworth *et al.*, 1989), which are largely inferior to those observed on this study. In the intra-animal relationship between the fractional disappearance rate of AP (DRAP) and APini, a difference between experimental groups was found. High concentrations of AP increase its fractional disappearance rate after feeding. This fact suggests that in rumen, P disappearance could not follow a mass action law. Further investigation is needed to elucidate this aspect.

Bacteria in the liquid ruminal phase represent approximately 25% of microbial ruminal population (Ishler *et al.*, 1996); they only use soluble nutrients and attach to newly ingested feed particles (McAllister *et al.*, 1994). Moreover, they have higher P content than SAB (Merry and McAllan, 1983; Komisarczuk *et al.*, 1987a; Singh, 2005) and they could represent almost a half of bacterial P. The pattern of P concentration in LAB suggests that a major cause of change could be the cell volume and substances accumulation subsequent to the meal. This variation could be largely due to the transient storage of polysaccharides on both LAB and SAB populations (Craig *et al.*, 1987). POMLAB of the LSP group showed more important variations in time which could indicate that liquid-associated bacteria from this group could present a transient status of relative deficiency in P. The important increase of POMLAB between the times 90 and 180 observed for the LSP group could be explained either by the changes in rumen conditions which could favour dicalcium phosphate solubility improving P capture by LAB or a bacterial adaptation to low available phosphorus evolving mechanisms for P obtaining. Unfortunately, metabolism and nutrient transport of ruminal

bacteria are not fully understood. The correlations between differences of P concentration in LAB (DifPOMLAB) and differences in available P (DifAP) suggest that P content in LAB could increase at the expense of AP.

Solid-associated bacteria can make up as much as 70% of the microbial mass (Ishler *et al.*, 1996). Techniques to harvest SAB give different recovery rates from 18-24% (Legay-Carmier *et al.*, 1989) to 70% (Merry and McAllan, 1983). Using the Merry and McAllan's technique we recovered a lower bacterial mass (56.7%). We believe that, the negative relation between OMSAB360 and IVDMI was due to a delay of bacterial colonization. Adhesion of rumen cellulolytic bacteria is uneasy because they are non-motile (Miron *et al.*, 2001). In the nylon bag, the fractional colonization rate is approximately from 10 to 15%/h (Sauvant and van Milgen, 1995). The cellular mass of SAB observed at the time 360 would diminish if initial AP is high. We believe that at the beginning of the meal, solid-associated bacteria were in lag phase. Leedle *et al.* (1982) have observed that ratio of viable to total bacteria in the rumen decrease from ten to two after feed intake, it does not reflect the increasing bacterial activity. Wells and Russell (1994) have mentioned a high positive relation ($R^2=0.91$) between the lag phase of *F. succinogenes* and reducing number of viable bacteria. The inverse relations between cellular mass quantity of SAB observed six hours after feeding and OMLABini could be explained by reducing number of viable bacteria, because successful colonization of fibre substrates depends not only on size but also on number of viable cellulolytic unattached bacteria. The P content of OMSAB was not affected by P solubility and it was less variable than P content of OMLAB. Thus, solid-associated bacteria seem use not only P from ruminal milieu but also from ration ingredients as it was mentioned by Komisarczuk *et al.* (1987a). At the beginning of study, SAB had low initial P content present associated to low decrease of P content between the times 0 and 90. Both initial P content and difference of P concentration increase at the end of study (Fig. 12). These changes in initial content of P in OMSAB suggest that SAB could adapt, and they probably stored more P at the end of the experience. The LSP group tended to have higher values of DifPOMSAB0-90. This fact could indicate that low-soluble P was unavailable for the bacteria of the LSP group, and then they quickly use the stored P after feed ingestion.

A classical postprandial fluctuation of VFA and pH occurred in the rumen. The VFA concentrations increased and the pH diminished (data not shown). As the results of VFA and C2 were strongly related, only VFA are discussed. The formation and disappearance rates (k_{synVFA} and k_{absVFA} , respectively) were affected by P solubility. Moreover, initial concentrations of VFA and VIVFA showed a trend to be affected by the treatment. The LSP group had higher values of the parameters associated to VFA formation (k_{synVFA}) and to VFA disappearance (k_{absVFA}). Thus VFA pattern after feeding was much more marked for LSP than for HSP group. We think that bacteria adapt themselves to ruminal conditions, storing P when it was abundant (time 0). Bacteria could use stored P as fast as possible for fermentation activity when feed arrives into the rumen. However, if the P ruminal pool is depleted, bacteria fermentation activity diminished. This fact could explain the direct relation between VIVFA and APini. The associations observed between DifPOMLAB0-90 and k_{synVFA} and k_{absVFA} suggest that high values of k_{syn} or k_{abs} imply a rapid decrease of P concentration of OMLAB between the time 0 and 90. The cited relations could be explained either by bacterial adaptation to large variations in ruminal P concentrations or by the presence of bacteria strains with lower P requirements than another. These bacteria could maintain VFA concentrations through their fermentation activity (Komisarczuk *et al.*, 1987b). High values of VIVFA have a positive effect on P concentrations of SAB increases between the times 180 and 360. VanNevel and Demeyer (1977) have cited that P incorporation directly depend on energy production by fermentation.

The global pattern of the each individual VFA was mainly influenced by the whole VFA. However, some differences appeared. In the case of propionic acid, higher values of VIC3 for the LSP group were associated with higher values of k_{synC3} . The fact that HSP group had shown higher values of k_{absC4} led us to think that soluble P could modify C4 utilisation in rumen. The LSP group shows higher values of VIC4 because of a higher $k_{\text{synC4}}:k_{\text{absC4}}$ ratio (HSP=1.7, LSP=3.24). Dehority *et al.* (1967) showed that minor volatile fatty acids are required as growth factors by cellulolytic rumen bacteria. The experimental groups presented equilibrium between k_{synC6} and k_{absC6} values. In consequence, no differences were observed either on C6av or on C6ini. The average concentrations of IC4 were higher in the HSP group, because its $k_{\text{synIC4}}:k_{\text{absIC4}}$ ratio was higher. Similar situation was observed for IC5. Actually, in this study, the disappearance ratio of C6, IC4 and IC5 were higher in LSP group, probably to maintain the high k_{synVFA} .

2.5 CONCLUSION

In this study, extreme conditions which are not common in dairy goat nutrition was used; because, 71% of dietary P was supplied by an inorganic source such as soluble or insoluble P. The kinetics of DMI, P concentrations in ruminal liquid and VFA were related, and they were affected by P solubility. Although, slowing P liberation from feedstuffs could induce a transitory phase of P deficiency mainly in liquid-associated bacteria during the first postprandial phase, it seems that, both liquid- and solid-associated bacteria could adapt themselves to support postprandial variations of P concentrations. However, further research is needed in this area. This study was carried out using goats almost at lactation peak. At this time, a significant mineral mobilisation from bone is present.

Table 3. Dry matter and phosphorus intake in dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP)

Parameters	Treatment ¹			p value ²	
	HSP	LSP	SEM ³	T	A(T)
<i>DMI kinetics</i>					
DMI _{max} (g) ⁴	1067 ^a	855 ^b	65	0.029	0.205
ksat (%/min) ⁴	1.06	1.00	0.15	0.786	0.956
IVDMI (g/min) ⁴	11.33	7.84	1.32	0.075	0.716
DMI ₃₆₀ (g) ⁵	1017 ^a	829 ^b	51	0.023	0.006
Pint ₃₆₀ (g) ⁵	3.39	2.87	0.23	0.119	<0.001
SP ₃₆₀ (g) ⁵	2.98 ^a	0.87 ^b	0.16	<0.001	0.036

¹ HSP = high soluble phosphate (monocalcium phosphate), LSP = low soluble phosphate (dicalcium phosphate)

² T = treatment, A(T)= animal nested in treatment

³ SEM = standard error of the mean

⁴ DMI_{max} = Maximal dry matter intake

⁴ ksat = Satiety fractional rate

⁴ IVDMI = Initial dry matter intake rate

⁵ DMI₃₆₀ = Dry matter intake at the time 360

⁵ Pint₃₆₀ = Phosphorus intake at the time 360

⁵ SP₃₆₀ = Water-soluble phosphorus intake at the time 360

^{a, b} Mean values within a line not sharing a common superscript letter were significantly different $p < 0.05$

Table 4. Total and available phosphorus in ruminal liquid from dairy goats fed diets containing diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP)

Item	Treatment ¹			p value ²	
	HSP	LSP	SEM ³	T	A(T)
Total phosphorus (TP)					
ITCTP ⁴	0.27 ^a	0.23 ^b	0.10	0.007	0.010
TP _{ini} (g/L) ⁴	0.94 ^a	0.76 ^b	0.05	0.016	0.281
TP360 (g/L) ⁴	0.75 ^a	0.60 ^b	0.03	0.001	<0.001
DRTP (%/h) ⁴	-0.66	-0.58	0.17	0.738	0.098
DifTP 0-90 (g/L) ⁴	0.13	0.11	0.04	0.629	0.184
DifTP 180-90 (g/L) ⁴	-0.06	-0.03	0.02	0.147	0.709
DifTP 360-180 (g/L) ⁴	0.006	-0.021	0.02	0.369	0.062
Available phosphorus (AP)					
ITCAP ⁵	0.26 ^a	0.22 ^b	0.01	0.047	0.154
AP _{ini} (g/L) ⁵	0.87	0.71	0.06	0.069	0.619
AP360 (g/L) ⁵	0.69 ^a	0.53 ^b	0.03	0.002	<0.001
DRAP(%/h) ⁵	-0.64	-0.72	0.002	0.812	0.018
DifAP 0-90 (g/L) ⁵	0.14	0.11	0.05	0.633	0.118
DifAP 180-90 (g/L) ⁵	-0.04	-0.02	0.03	0.712	0.268
DifAP 360-180 (g/L) ⁵	0.002	-0.050	0.03	0.205	0.011

¹ HSP = high soluble phosphate (monocalcium phosphate), LSP = low-soluble phosphate (dicalcium phosphate)

² T = treatment, A(T)= animal nested in treatment

^{a, b} Mean values within a line not sharing a common superscript letter were significantly different p<0.05

³ SEM=Standard error of the mean

⁴ ITCTP=Initial adjust concentration of TP

⁴ TP_{ini}=Initial observed concentration of TP

⁴ DRTP=Fractional disappearance rate of TP

⁴ DifTP0-90=Difference of TP in ruminal liquid between 0 and 90min

⁴ DifTP180-90=Difference of TP in ruminal liquid between 180 and 90min

⁴ DifTP360-180=Difference of TP in ruminal liquid between 360 and 180min

⁵ ITCAP=Initial adjust concentration of AP

⁵ AP_{ini}=Initial observed concentration of AP

⁵ DRAP=Fractional disappearance rate of AP

⁵ DifAP0-90=Difference of AP in ruminal liquid between 0 and 90min

⁵ DifAP180-90=Difference of AP in ruminal liquid between 180 and 90min

⁵ DifAP360-180=Difference of AP in ruminal liquid between 360 and 180min

Table 5. Phosphorus content of liquid- (LAB) and solid-associated ruminal bacteria (SAB) from dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP)

Item	Treatment ¹			p value ²	
	HSP	LSP	SEM ³	T	A(T)
<i>OM of LAB (g/L of rumen liquid)</i>					
OMLABini ⁴	3.25	3.58	0.24	0.356	0.211
OMLAB360 ⁴	4.28	4.32	0.17	0.327	0.488
DifOMLAB 0-90 min ⁴	0.23	0.45	0.15	0.327	0.488
DifOMLAB 180-90 min ⁴	0.90	1.16	0.17	0.306	0.004
DifOMLAB 360-180 min ⁴	0.35	0.04	0.14	0.119	0.004
<i>g of P/100 g of OM of LAB</i>					
POMLABini ⁵	1.642	1.630	0.026	0.738	0.650
POMLAB360 ⁵	1.766	1.853	0.030	0.054	0.192
DifPOMLAB 0-90 min ⁵	0.037 ^a	0.231 ^b	0.026	<0.001	<0.001
DifPOMLAB 180-90 min ⁵	0.182 ^a	0.290 ^b	0.029	0.015	0.010
DifPOMLAB 360-180 min ⁵	-0.019 ^a	0.164 ^b	0.039	0.003	0.116
<i>OM of SAB (g/100 g of solid content)</i>					
OMSABini ⁶	6.54	5.49	0.47	0.659	0.817
OMSAB360 ⁶	6.22	6.85	0.34	0.625	0.826
DifOMSAB 0-90 min ⁶	0.53	-0.41	0.35	0.290	0.274
DifOMSAB 180-90 min ⁶	0.42	-0.08	0.38	0.870	0.766
DifOMSAB 360-180 min ⁶	0.89	0.93	0.59	0.896	0.745
<i>g of P/100 g of OM of SAB</i>					
POMSABini ⁷	0.692	0.689	0.031	0.957	0.092
POMSAB360 ⁷	0.579	0.554	0.016	0.300	0.039
DifPOMSAB 0-90 min ⁷	0.124	0.176	0.035	0.305	0.098
DifPOMSAB 180-90 min ⁷	0.035	0.029	0.022	0.856	0.022
DifPOMSAB 360-180 min ⁷	-0.024	0.012	0.025	0.309	0.180

¹ HSP = high soluble phosphate (monocalcium phosphate), LSP = low-soluble phosphate (dicalcium phosphate)

² T = treatment, A(T) = animal nested in treatment

^{a, b} Mean values within a line not sharing a common superscript letter were significantly different $p < 0.05$

³ SEM = Standard error of the mean

⁴ OMLABini = Initial quantity of organic matter of LAB ⁴ OMLAB360 = Organic matter of LAB observed at the time 360

⁴ DifOMLAB0-90 = Difference of organic matter of LAB observed between the times 0 and 90

⁴ DifOMLAB90-180 = Difference of organic matter of LAB observed between the times 90 and 180

⁴ DifOMLAB180-360 = Difference of organic matter of LAB observed between the times 180 and 360

⁵ POMLABini = Initial phosphorus concentration of OMLAB

⁵ POMLAB360 = Phosphorus concentration of OMLAB observed at the time 360

⁵ DifPOMLAB0-90 = Difference of phosphorus concentration of OMLAB observed between the times 0 and 90

⁵ DifPOMLAB90-180 = Difference of phosphorus concentration of OMLAB observed between the times 90 and 180

⁵ DifPOMLAB180-360 = Difference of phosphorus concentration of OMLAB observed between the times 180 and 360

⁶ OMSABini = Initial quantity of organic matter of SAB

⁶ OMSAB360 = Organic matter of SAB observed at the time 360

⁶ DifOMSAB0-90 = Difference of organic matter of SAB observed between the times 0 and 90

⁶ DifOMSAB90-180 = Difference of organic matter of SAB observed between the times 90 and 180

⁶ DifOMSAB180-360 = Difference of organic matter of SAB observed between the times 180 and 360

⁷ POMSABini = Initial phosphorus concentration of OMSAB

⁷ POMSAB360 = Phosphorus concentration of OMSAB observed at the time 360

⁷ DifPOMSAB0-90 = Difference of phosphorus concentration of OMSAB observed between the times 0 and 90

⁷ DifPOMSAB90-180 = Difference of phosphorus concentration of OMSAB observed between the times 90 and 180

⁷ DifPOMSAB180-360 = Difference of phosphorus concentration of OMSAB observed between the times 180 and 360

Table 6. Adjusted parameters of major volatile fatty acid kinetics in rumen of dairy goats fed diets containing high- (**HSP**) or low-soluble phosphate (**LSP**)

Item	Treatment ¹			p value ²	
	HSP	LSP	SEM ³	T	A(T)
<i>Volatile Fatty Acids (VFA)</i>					
VFAav (mmol/L) ⁴	116.20	112.90	2.56	0.396	0.359
VFAini (mmol/L) ⁴	89.61	79.63	3.33	0.056	0.010
ksynVFA (%/h) ⁴	1.70 ^a	3.25 ^b	0.46	0.030	0.187
kabsVFA (%/h) ⁴	0.93 ^a	1.80 ^b	0.24	0.023	0.402
VIVFA (mmol/h) ⁴	0.59	1.77	0.18	0.094	0.161
<i>Acetic acid (C2)</i>					
C2av (mmol/L)	71.95	67.76	1.48	0.069	0.180
C2ini (mmol/L)	54.94	49.42	1.91	0.065	0.028
ksynC2 (%/h)	1.30 ^a	2.61 ^b	0.38	0.030	0.218
kabsC2 (%/h)	0.65 ^a	1.44 ^b	0.20	0.013	0.296
VIC2 (mmol/h)	0.32	0.56	0.10	0.110	0.317
<i>Propionic acid (C3)</i>					
C3av (mmol/L)	23.19	24.47	0.89	0.345	0.271
C3ini (mmol/L)	15.40	13.26	1.11	0.211	0.023
ksynC3 (%/h)	1.37 ^a	2.29 ^b	0.20	0.005	0.005
kabsC3 (%/h)	0.48	0.44	0.09	0.746	0.638
VIC3 (mmol/h)	0.12 ^a	0.20 ^b	0.02	0.009	0.009
<i>Butyric acid (C4)</i>					
C4av (mmol/L)	10.78	10.84	0.46	0.931	0.033
C4ini (mmol/L)	9.19	7.68	0.52	0.066	0.033
ksynC4 (%/h)	0.92	1.07	0.10	0.308	0.001
kabsC4 (%/h)	0.54 ^a	0.33 ^b	0.05	0.021	0.441
VIC4 (mmol/h)	0.03	0.05	0.01	0.050	<0.001
<i>Acetic acid : propionic acid (C2:C3)</i>					
C2:C3av (mmol/L)	3.20	3.13	0.12	0.680	0.387
C2:C3ini (mmol/L)	3.69	4.34	0.28	0.124	0.191

¹ HSP = high soluble phosphate (monocalcium phosphate), LSP = low-soluble phosphate (dicalcium phosphate)

² T = treatment, A(T)= animal nested in treatment

^{a, b} Mean values within a line not sharing a common superscript letter were significantly different p<0.05

³ SEM=Standard error of the mean

⁴ av=Average concentration for each VFA

⁴ ini=Initial concentration for each VFA

⁴ ksyn=Formation rate for each VFA

⁴ kabs=Disappearance rate for each VFA

⁴ VI=Rate of increase for VFA concentration

Table 7. Adjusted parameters of minor volatile fatty acid kinetics in rumen of dairy goats fed diets containing high- (HSP) or low-soluble phosphate (LSP)

Item	Treatment ¹			p value ²	
	HSP	LSP	SEM ³	T	A(T)
<i>Valeric acid (C5)</i>					
C5 _{av} (mmol/L) ⁴	1.79	1.56	0.13	0.205	0.004
C5 _{ini} (mmol/L) ⁴	1.10	0.94	0.11	0.305	<0.001
ksynC5 (%/h) ⁴	4.81	9.73	2.67	0.206	0.268
kabsC5 (%/h) ⁴	1.72	3.63	0.85	0.124	0.153
VIC5 (mmol/h) ⁴	0.04	0.03	0.02	0.690	0.495
<i>Caproic acid (C6)</i>					
C6 _{av} (mmol/L)	3.24	3.24	0.07	0.834	0.213
C6 _{ini} (mmol/L)	2.88	2.84	0.16	0.867	0.221
ksynC6 (%/h)	3.25 ^a	5.61 ^b	0.78	0.042	0.001
kabsC6 (%/h)	2.94 ^a	5.31 ^b	0.72	0.028	0.001
VIC6 (mmol/h)	0.01	0.01	0.004	0.653	0.098
<i>Isobutyric acid (IC4)</i>					
IC4 _{av} (mmol/L)	1.17 ^a	0.93 ^b	0.07	0.038	<0.001
IC4 _{ini} (mmol/L)	1.13	1.10	0.08	0.792	0.001
ksynIC4 (%/h)	0.22	0.27	0.07	0.634	0.026
kabsIC4 (%/h)	0.10 ^a	0.24 ^b	0.04	0.020	0.012
VIIC4 (mmol/h)	0.001	0.001	0.001	0.871	0.197
<i>Isovaleric acid (IC5)</i>					
IC5 _{av} (mmol/L)	0.99 ^a	0.78 ^b	0.06	0.015	<0.001
IC5 _{ini} (mmol/L)	0.96	0.98	0.11	0.928	0.004
ksynIC5 (%/h)	5.74	9.55	1.60	0.115	0.129
kabsIC5 (%/h)	3.98 ^a	12.93 ^b	1.00	<0.001	0.001
VIIC5 (mmol/h)	0.01 ^a	-0.05 ^b	0.02	0.041	0.049

¹ HSP = high soluble phosphate (monocalcium phosphate), LSP = low-soluble phosphate (dicalcium phosphate)

² T = treatment, A(T)= animal nested in treatment

^{a, b} Mean values within a line not sharing a common superscript letter were significantly different p<0.05

³ SEM=Standard error of the mean

⁴ av=Average concentration for each VFA

⁴ ini=Initial concentration for each VFA

⁴ ksyn=Formation rate for each VFA

⁴ kabs=Disappearance rate for each VFA

⁴ VI= Rate of increase for VFA concentration

Chapitre 3

PARTIE EXPERIMENTALE II

L'Effet de la Solubilité du Phosphore Alimentaire sur
son Utilisation Digestive et Métabolique

3.1 INTRODUCTION

Le phosphore est présent dans toutes les cellules de l'organisme, c'est un composant structurel des os et dents, il est impliqué dans la quasi totalité des réactions métaboliques, il participe au système tampon de l'organisme, y compris celui du liquide ruminal et de la salive. Le phosphore est un composant important des acides nucléiques ADN et ARN, de même que de l'ATP et de l'ADP.

3.1.1 LE MÉTABOLISME DU PHOSPHORE CHEZ LES RUMINANTS

Les étapes de P dans l'organisme comprennent l'ingestion, l'utilisation digestive, l'utilisation métabolique et l'excrétion. Chez les ruminants, le processus métabolique est complexe parce que les glandes salivaires recyclent des quantités importantes de P et les bactéries ruminales sont capables d'incorporer une quantité significative de P d'origine salivaire ou alimentaire. Dans une revue de la littérature, Goff (2006) mentionne que, chez la vache laitière, les glandes salivaires recyclent entre 30 et 80 g de P/j du pool extracellulaire de P. Ainsi, elles contrôlent partiellement le métabolisme de P (Figure 16).

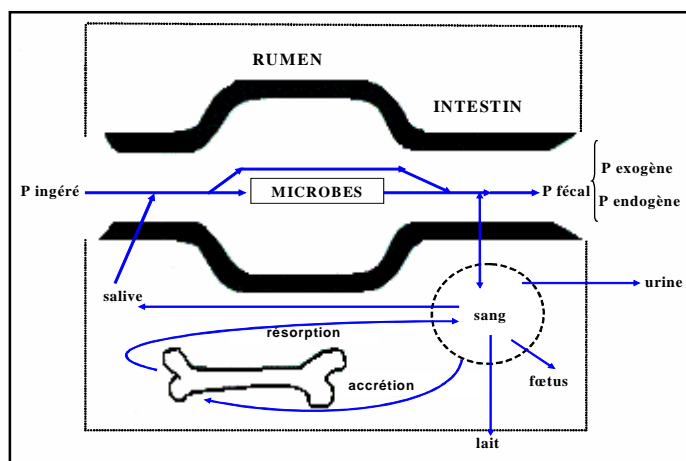


Figure 16. Métabolisme du phosphore chez la femelle ruminant (D'après Guéguen *et al.*, 1978)

3.1.2 DISPONIBILITÉ DIGESTIVE DU PHOSPHORE

Les valeurs du coefficient d'absorption réelle (CAR) précisent l'utilisation digestive de P ; pour les obtenir, il est nécessaire de connaître le P fécal d'origine endogène. Pour estimer cette fraction de P fécal des techniques radio isotopiques (^{32}P) sont utilisées. Les bilans digestifs globaux pour mesurer l'absorption apparente (CAA) ne donnent pas d'information sur les fractions de P fécal. Les valeurs de CAA sont plus faibles que celles de CAR. Il y a des différences entre les études sur la durée des expérimentations (Spiekers *et al.*, 1993 ; Valk *et al.*, 2002) et la méthode de collecte des fèces (Wu *et al.*, 2003 ; Morse *et al.*, 1992).

Du phosphore qui arrive au rumen, le P organique est hydrolysé en formes inorganiques par les bactéries. Lorsque les concentrations en P sont entre 0,127 et 0,489 g/L, P est partiellement absorbé dans le rumen (Breves *et al.*, 1988). Le phosphore organique non hydrolysé dans le rumen est solubilisé dans la caillette (Breves et Schroeder, 1991 ; Care, 1994). La disponibilité de P d'origine microbienne peut dépendre du pH. Dans le jéjunum proximal le pH, chez les ruminants, est à peu près de 4. Cette condition permet au P du contenu intestinal d'être sous forme de phosphate hydrogéné bivalent (HPO_4^{2-}), évitant sa précipitation en complexes avec Ca (Pfeffer *et al.*, 2006).

L'absorption a principalement lieu dans le duodénum et le jéjunum, selon deux mécanismes : lorsque les animaux sont alimentés avec de faibles quantités de P, un processus actif transcellulaire a lieu. L'autre mécanisme est un processus passif para-cellulaire prédominant quand l'apport en P alimentaire va de l'adéquat à l'excessif. L'absorption peut être liée aux concentrations dans l'intestin grêle et à la phosphorémie (Care *et al.*, 1980). L'absorption est positivement liée à l'apport alimentaire. La race, l'âge de l'animal et son stade physiologique, l'interaction avec les autres minéraux (fer, zinc, aluminium, Georgievskii, 1982), le pH de l'intestin.

3.1.3 UTILISATION MÉTABOLIQUE ET EXCRÉTION DU PHOSPHORE

L'utilisation métabolique, ou disponibilité métabolique ou efficacité métabolique de P, est l'utilisation de P absorbé (Bravo, 2003). Le phosphore qui ne sera plus utilisé par l'organisme et le P d'origine alimentaire qui n'a pas été absorbé lors de son passage intestinal sont

excrétés. Chez les pré-ruminants, l'excrétion principale est urinaire, et chez les adultes elle est fécale ; l'excrétion urinaire restant secondaire. Celle-ci prend de l'importance lorsque l'animal reçoit une alimentation riche en P (Morse *et al.*, 1992) comme dans le cas des rations riches en aliments concentrés. Une partie de P fécal constitue les pertes inévitables (P endogène fécal), qui peuvent représenter de 50% (Conrad, 1999 ; cité par Kincaid et Rodehutschord, 2006) jusqu'à 90% de P fécal total, avec rations pauvres en P (Underwood et Suttle, 1999). Une partie de P endogène dépend principalement de la concentration en P salivaire, de la quantité de salive produite et de la réabsorption de P salivaire (80% de P endogène est d'origine salivaire, Care, 1994), ainsi que de l'ingestion de MS et de P (NRC, 2001). Une autre composante des pertes inévitables est le P d'origine microbienne (0,9 g/kg de MOI, Kincaid et Rodehutschord, 2006), ce qui peut représenter deux tiers de la perte fécale inévitable de P (Rodehutschord *et al.*, 2000). Chez la brebis, la relation entre P endogène (62-112 mg/kg de PV par jour) et P ingéré (193-327 mg/kg de PV/j) est linéaire (Braithwaite, 1983) ; ainsi, l'apport excessif de P est inutile pour l'animal et préjudiciable à l'environnement. Spiekers *et al.*, (1993), suggèrent un fractionnement de P fécal dans trois compartiments : (a) la partie non disponible de P alimentaire ; (b) la perte inévitable, qui doit être excrétée sous les conditions nutritionnelles et physiologiques normales de l'animal et (c) la partie régulée ou homéostatique qui dépend de l'excès de l'apport alimentaire. Dou *et al.* (2002) proposent le P rapidement soluble dans l'eau comme une mesure qui reflète la partie soluble de la perte inévitable en P (une fraction de b) en incluant une quantité de P régulée (c). La fraction de P soluble dans l'eau est considérée la plus polluante pour le milieu ambiant.

3.1.4 LES SOURCES DE PHOSPHORE POUR LES RUMINANTS

Le phosphore est présent dans la quasi totalité des aliments. Dans les fourrages, les teneurs en P (dont, environ 75% de P soluble dans l'eau, Georgievskii, 1982) dépendent de l'espèce, la fertilité du sol et du stade de végétation. La concentration en P des céréales et tourteaux est moins variable: de 2,3 à 4,0 g de P/kg MS et de 6,0 à 13,0 g/kg MS (INRA-AFZ 2002). Le phosphore dans les grains est principalement sous la forme de phytate (80%), la proportion augmente dans le cas des sous produits riches en enveloppes comme les sons (90%). La vache laitière peut digérer entre 94 et 98% de phosphore phytique, lorsqu'il représente entre 28 et 57% de l'apport total de P (Morse *et al.*, 1992). Les fourrages de climat tempéré présentent

des CAR entre 60-70% (Meschy, 2007). Les CAR sont estimés à 75% pour les céréales et à 68% pour les tourteaux (INRA, 2007). Le système NRC (2001) considère globalement, 64 et 70% de CAR pour les fourrages et les concentrés, respectivement. Les CAR des aliments sont généralement difficiles à établir ; en plus, les conditions expérimentales pour les obtenir sont assez variables (Ekelund, 2003). Certains travaux (Field *et al.*, 1984 ; Samuels *et al.*, 1991 ; Bueno *et al.*, 2002 ; Bravo *et al.*, 2003) montrent des différences de l'utilisation digestive de P des aliments chez les petits ruminants.

Les rations des animaux requièrent des sources supplémentaires de P pour répondre à la croissance et à la qualité d'os de l'animal et surtout à la production laitière chez les ruminants (Jongbloed *et al.*, 2002). Les plus importantes sont les phosphates (calcium, ammonium et sodium). Presque tous les composants sous la forme de phosphate peuvent être utilisés pour l'alimentation phosphorée du ruminant en accordant une attention spéciale à leur teneur en fluor. La valeur de CAR des sources de P inorganique est de 75% (phosphate mono sodique ; Guéguen *et al.*, 1976), 68% (phosphate bicalcique, Guéguen et Durand, 1976 ; Guéguen et Bouchet, 1980 ; Meschy *et al.*, 2000) et 70% (phosphate monocalcique, Guéguen et Durand, 1976 ; Meschy *et al.*, 2000). La disponibilité de P varie selon la source, surtout entre les phosphates de Ca, puisque leur composition chimique inclut différents types de phosphate (Lima *et al.*, 1997). Certaines études comparent l'utilisation digestive de P provenant des sources inorganiques et organiques (Shanklin, 2001 ; Knowlton *et al.*, 2001 ; Ekelund *et al.*, 2003) et ont donné des résultats similaires pour les deux sources. D'autres travaux (Guéguen et Durand, 1976 ; Hemingway et McLaughlin, 1979) montrent aussi que l'utilisation digestive de différentes sources inorganiques de P de bonne qualité chez les ruminants est comparable. Cependant, il y a des travaux (Meschy *et al.*, 2000) qui ont montré des différences de la rétention de P du phosphate bicalcique anhydre par rapport à sources de P de bonne qualité (bicalcique hydraté, monocalcique, monobicalcique et phosphates magnésiens).

3.1.5 LES TISSUS OSSEUX ET LA PRODUCTION LAITIÈRE

Pour maintenir le pool de P extracellulaire, l'organisme doit remplacer : la perte endogène fécale, la perte urinaire et le P élimé dans le lait, avec le P absorbé de la ration. La concentration en P plasmatique normale est de 40 à 80 mg/L. Chez la chèvre, pendant les deux derniers mois de la gestation, le besoin quotidien de minéralisation de l'utérus gravide est 0,6 à 1,0 g de P

absorbable, et de 1 à 2,0 g de Ca absorbable (INRA, 2007). Chez la chèvre, la production du lait nécessite 0,95 g de P/L (Pfeffer et Rodehustcord, 1998). Ces augmentations des besoins en P et Ca de l'animal le prédisposent à une chute de la concentration plasmatique en P et Ca.

La sécrétion de minéraux (P et Ca), principalement au début de lactation, ne peut être compensée uniquement par les minéraux ingérés. Ainsi, des quantités considérables de P et de Ca sont mobilisées à partir de l'os. Pour maintenir l'homéostasie et la sortie de P et Ca au pic de lactation, la vache et la brebis doivent mobiliser 0,7% de leurs réserves osseuses par jour (Suttle, 1987 cité par Underwood et Suttle, 1999). Ternouth (1989) suggère que la vache laitière perd plus de 30% de P osseux durant le début lactation.

L'os de type spongieux est métaboliquement plus actif, il mobilise Ca et P pour maintenir la calcémie et la phosphorémie dans des valeurs physiologiques. L'os est actif pendant toute la vie de l'individu, son remodelage requière deux processus : la formation conduite par les ostéoblastes et la résorption conduite par les ostéoclastes. Ils sont bien coordonnés et restent en équilibre chez les individus sains et sous conditions normales. La résorption osseuse augmente par rapport à la formation, de la fin de la gestation au début de la lactation et pendant la plus forte production laitière, les réserves diminuent pour satisfaire l'excrétion de Ca et P dans le lait et maintenir l'homéostasie sanguine. Cette résorption ne met pas en péril la vie de l'animal, si l'os peut restaurer ses réserves pendant les périodes où l'animal présente des besoins en Ca et P moindres, notamment au tarissement. La contribution de P osseux au lait présente des caractéristiques différentes par rapport à celle de Ca : **1)** Il semble ne pas être sous le contrôle de la PTH dont les concentrations diminuent en cas d'hypophosphatémie (Sommerville *et al.*, 1985). **2)** La résorption osseuse apporte moins de P car la proportion Ca : P dans l'os est 2 : 1. **3)** L'utilisation des réserves de P est moins efficace, puisque la partie majoritaire de P mobilisé est excrétée (Underwood et Suttle, 1999).

L'étude du métabolisme osseux est facilitée par l'utilisation récente des marqueurs biochimiques. L'ostéocalcine et la phosphatase alcaline osseuse sont des marqueurs de l'accrétion tandis que différents épitopes du téléopeptide carboxyterminal de collagène mature de type I sont marqueurs (Risteli et Risteli, 1993) de la résorption. Ces marqueurs ont été très utilisés chez l'homme depuis les années 80 et clairement orientés vers la clinique. Récemment, des marqueurs osseux ont été utilisés chez la vache (Liesegang *et al.*, 1998, 2000), la brebis et la chèvre (Liesegang *et al.*, 2005, 2006, 2007). L'âge, le sexe, l'état

nutritionnel, l'activité physique, la gestation, la lactation, certaines maladies, les traitements, la survenue d'une fracture sont des facteurs qui interviennent dans la variabilité des niveaux de marqueurs osseux (Garnero *et al.*, 2000).

Des incertitudes subsistent sur l'utilisation de P de différentes sources inorganiques de bonne qualité, principalement sur la rétention. Ainsi, et en prenant en compte la relation métabolique de Ca et P, notre deuxième essai expérimental a eu comme premier objectif d'étudier, en utilisant des bilans digestifs globaux, l'effet de la différence de solubilité des phosphates inorganiques sur l'utilisation digestive et métabolique de P à des stades clés du cycle de production chez la chèvre laitière. Le second objectif était de préciser, chez la chèvre laitière, le cycle de mobilisation/restauration des réserves minérales osseuses au cours de la lactation. Pour cela, nous avons associé aux bilans globaux des mesures des teneurs plasmatiques de P et de Ca et d'un marqueur de la résorption osseuse (cross links du collagène I).

3.2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.2.1 Animaux

Cette étude s'est déroulée à la chèvrerie expérimentale de Grignon (UMR INRA-Agro Paris Tech, Physiologie de la Nutrition et Alimentation). Douze chèvres primipares et deux chèvres multipares (quatre de race Alpine et dix de race Saanen) ont été utilisées. Cette expérience a commencé après la mise bas quand l'ingestion de MS a été stabilisée, chez les animaux au début lactation (56 jours de lactation). Les animaux ont été assignés à un des deux groupes expérimentaux (**MONO** et **BIC**) de sept chèvres chacun. Les groupes ont été constitués sur la base du poids vif (57 ± 7 kg). Par lot expérimental, les chèvres ont été hébergées en cases collectives pendant toute la période expérimentale, sauf pendant les périodes de bilans digestifs. Les chèvres ont été traitées à la machine deux fois par jour (08h00 et 16h00). Entre le 195^{ème} et le 197^{ème} jour de lactation une éponge intra-vaginale (acétate de flurogestone, FGA, 45 mg) a été mise en place ; neuf jours après 500 UI de PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) et 50 µg de cloprosténol ont été appliqués séparément par voie IM. L'éponge a été enlevée 11 jours après sa mise en place. L'œstrus a été détecté 28 h après le retrait de l'éponge. Les chèvres ont été inséminées artificiellement (IA) 13 jours après le début de ce traitement. Le premier diagnostic de gestation a été réalisé pour la non-observation de l'œstrus 17 jours après insémination, puis une échographie a été pratiquée six semaines après l'IA.

3.2.2 Aliments et Alimentation

Après une période d'adaptation aux rations expérimentales (similaires à celles de l'expérience I), cette étude a été poursuivie pendant 343 jours. Les rations ont été formulées sur la base de la matière sèche (MS) avec 35% d'ensilage de pulpe de betteraves, 15% de foin de graminées, 20% de foin de luzerne et 30% de concentré expérimental riche en P (69% de P total de la ration ont été apportés par les concentrés). L'aliment concentré a été formulé avec les ingrédients utilisés pour la première expérience, les mêmes types de phosphates ont été utilisés : **phosphate monocalcique** [$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$] et **phosphate bicalcique** dihydraté [$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$], sources de P soluble et insoluble dans l'eau, respectivement. Les concentrés ont été présentés en poudre, pour cette raison, de l'huile de maïs n'a pas été incluse dans les rations (Tableau 8). L'apport de P et de Ca a été conforme aux dernières

recommandations de l'INRA pour les chèvres en lactation (Meschy, 2002 ; Meschy et Corrias, 2005), environ 2,5 g de P absorbé et 4,4 g de Ca absorbé par kg de MS. La ration a été distribuée en deux repas égaux (8h00 et 15h00) sous forme de ration complète mélangée. Les caractéristiques des rations expérimentales et de leurs valeurs nutritionnelles sont présentées au Tableau 8. Les aliments et l'eau de boisson ont été disponibles à volonté. Les chèvres ont reçu un pré-mélange minéral et vitaminique sans phosphore (10 g/kg de MS), dont la composition a été la suivante : sodium (bicarbonate, 150 g/kg), magnésium (oxyde, 100 g/kg), zinc (sulfate anhydre, 5 g/kg), manganèse (sulfate mono hydraté, 4 g/kg), cuivre (sulfate penta-hydraté, 1 g/kg), cobalt (carbonate, 0,03 g/kg), iode (iodate de potassium, 0,1 g/kg), sélénium (sélénite de sodium, 0,03 g/kg), vitamine A (300000 UI), vitamine D (80000 UI), vitamine E (3000 UI). De l'amidon de maïs a été utilisé comme support du pré-mélange.

La seule différence entre les groupes expérimentaux a été la nature de la source de P alimentaire, ils ont été identifiés comme groupe **MONO** (phosphate monocalcique) et groupe **BIC** (phosphate bicalcique dihydraté).

Tableau 8. Composition des aliments concentrés et valeurs nutritionnelles des rations expérimentales

	MONO	BIC
ALIMENT CONCENTRE (g/kg MS)		
Amidon de maïs	583,2	584,6
Caséine chlorhydrique (HCl)	367,0	368,0
Carbonate de calcium	13,6	0,0
Phosphate monocalcique	36,2	0,0
Phosphate bicalcique dihydraté	0,0	47,4
VALEUR NUTRITIONNELLE DES RATIONS (g/kg MS)		
MAT (g/kg MS)	174,20	174,40
UFL	1,00	1,00
PDIA (g/kg MS)	25,30	25,32
PDIN (g/kg MS)	111,00	111,20
PDIE (g/kg MS)	85,40	85,50
NDF (g/kg MS)	374,30	374,30
ADF (g/kg MS)	226,00	226,00
Ca total (g/kg MS)	10,90	11,00
P total (g/kg MS)	3,60	3,70
MONO=phosphate monocalcique BIC=phosphate bicalcique dihydraté		

3.2.3 Mesures et prélèvements

Bilans digestifs

Cinq chèvres de chaque groupe expérimental ont été utilisées dans les études de bilans. Les quatre animaux qui n'ont pas été utilisés, ont continué à recevoir la ration expérimentale et ont été maintenus en réserve. Initialement, cinq périodes de bilan étaient prévues aux stades clé du cycle de production : début de lactation (**DEB**), pic de lactation (**PIC**), pleine lactation (**PLAC**), fin de lactation (**FIN**) et fin de gestation (**GEST**). Pour des raisons d'organisation, nous avons dû décaler la période DEB à la lactation suivante. Des événements imprévus ont fortement perturbé la période GEST, ils ne nous permettent pas de présenter les résultats correspondants. Chaque période de bilan comprenait deux sous périodes (Période 1 et 2) de cinq jours consécutifs chacune. Chronologiquement le premier bilan (PIC) a débuté à 56j de lactation, le deuxième (PLAC) à 122j, le troisième (FIN) à 276j et le bilan DEB à la deuxième semaine de la lactation suivante (Figure 17). Une semaine avant le début de chaque bilan, les animaux ont été placés dans des cages à métabolisme pour s'y adapter.

Pendant les périodes de bilan, les mesures suivantes ont été réalisées quotidiennement : a) les quantités d'aliment distribué et b) d'aliment refusé, c) la quantité de fèces produites, d) la consommation d'eau de boisson (utilisation de compteurs automatiques), e) la production d'urine. La production laitière a été enregistrée deux fois par sous période.

Le protocole habituel des mesures de digestibilité a été utilisé et les prélèvements suivants ont été faits : a) aliment distribué : un échantillon quotidien pour chaque régime (MONO et BIC) par sous période ; b) refus : un échantillon par jour et par animal ; c) fèces : un échantillon par jour et par animal ; d) urine : un échantillon par jour et par animal (l'urine a été récupérée totalement) ; e) lait : deux échantillons par sous-période et par animal. Une quantité proportionnelle de MS refusée journalière, de fèces et d'urine a été prélevée pour constituer un échantillon moyen par animal et par sous période. Les échantillons solides (rations, refus et fèces) ont été déshydratés à 103°C à poids constant et broyés (grille de 1 mm) et conservés dans des sacs en matière plastique pour analyses ultérieures. Les échantillons de lait et d'urine ont été préservés à -20°C pour le dosage ultérieur de P, P soluble dans l'eau et Ca. Les animaux ont été pesés une fois par semaine et des prises de sang ont été réalisées selon le calendrier (Figure 17). Pendant les périodes de bilans quatre prises de sang par animal (deux vacutainer héparinés de 10 mL par prise) ont été effectuées à 11h00, la séparation du

plasma (1800×g×10 min) a été immédiate. Les plasmas de chaque chèvre ont été répartis en tubes en polystyrène de 5 mL, deux tubes avec 2 mL de plasma (dosage de P et Ca) et 4 tubes avec 1 mL de plasma (dosage des marqueurs de la résorption osseuse). Les plasmas ont été congelés à -20°C pour être analysés ultérieurement au laboratoire.

Hors bilans digestifs

Hors des périodes de bilan, les chèvres ont été pesées et la production laitière enregistrée une fois par semaine. Des prélèvements sanguins ont été réalisés (voir calendrier, Figure 17) quatre prises de sang par animal (deux vacutainers héparinés de 10 mL par prise) ont été effectuées à 11h00 et la séparation du plasma (1800×g×10 min) a été immédiate. Les plasmas ont été congelés à -20°C pour dosage ultérieur de P et Ca.

3.2.4 Analyses

Glucides pariétaux

La teneur en NDF, ADF et ADL des échantillons de ration distribuée, de refus et de fèces a été obtenue selon la méthode de Van Soest *et al.* (1991).

Composition du lait

Les solides totaux (ST) ont été obtenus par le séchage de l'échantillon pendant 12 h à 103°C. Les analyses de taux butyreux et taux protéique, de même que la teneur en cellules ont été fournies par le Contrôle Laitier.

Phosphore et Calcium totaux

Les échantillons de lait et d'urine ont été décongelés à température ambiante. Six mL de lait et dix-huit mL d'urine ont été prélevés et séchés pendant 12 h à 103°C. Les échantillons ont été calcinés à 550°C pendant la nuit (12 h) et les cendres ont été reprises dans une solution d'acide nitrique à 10% (vol/vol). Le phosphore total (TP) a été dosé par photo colorimétrie, méthode au molybdovanadate (méthode 965.17 AOAC®, 2000, spectrophotomètre Cary 50 Probe, Varian, Palo Alto CA, US) et le Ca total par spectrométrie d'absorption atomique (AA 220 FS, Varian, Palo Alto CA, US).

Bilan Pic de lactation (PIC)																	
Mois	Janvier				Février				Mars					Avril			
Semaine 2005	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	P I C																
Dates de prise de sang		Mise bas							2	7 et 11	14 et 18		30		12		26

Bilan Pleine lactation (PLAC)																		
Mois	Mai					Juin					Juillet				Août			
Semaine 2005	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
	P L A C																	
Date de prise de sang			16	27		7		21		5		19		2		16		30
Reproduction													FGA		IA			DG

Bilan Fin de lactation (FIN)								
Mois	Septembre				Octobre			
Semaine 2005	36	37	38	39	40	41	42	43
	F I N							
Date de prise de sang		13		27		10	21	28
Reproduction			Echo					

Bilan Fin de gestation (GEST)*										
Mois	Novembre						Décembre			
Semaine 2005	44	45	46		47	48	49	50	51	52
	G E S T *									
Date de prise de sang		8			22		5	12 et 16	19 et 23	28
Reproduction			Tarisement							

Bilan Début de lactation (DEB)								
Mois	Janvier				Février			
Semaine 2006	1	2	3	4	5	6	7	8
	D E B							
Dates de prise de sang	3	10	17	23 et 27	30 et 3			
Reproduction	Mise bas							

FGA : acétate de flurogestone
 IA : insémination artificielle
 DG : diagnostic de gestation
 Echo : échographie
 * Données non présentées

Figure 17. Calendrier des bilans digestifs et de prélèvements sanguins

Phosphore et Calcium plasmatiques

Les plasmas destinés au dosage de P inorganique ont été déproteinisés à l'acide trichloracétique à 10% (p/v) (1 mL de plasma + 9 mL d'acide) et centrifugés à 2500 trm × 10 min (MR23i, Jouan SA, Saint Herblain, France). Le surnageant récupéré a été utilisé pour le dosage de P plasmatique selon la méthode de Harris et Popat (Miles *et al.*, 2001). Le Ca plasmatique total a été dosé par colorimétrie en utilisant un automate (Beckman Coulter CPA LS, Fullerton CA, US).

Phosphore soluble dans l'eau

Dans l'hypothèse que la fraction de P fécal soluble dans l'eau s'approche de la fraction de P fécal régulée (Spiekers *et al.*, 1993), la fraction de P soluble dans l'eau (Psol) a été extraite des rations expérimentales, des aliments refusés et des fèces, en suivant la méthode décrite par Dou *et al.* (2002) et des parties aliquotes du filtrat final ont été utilisées pour le dosage de Psol avec la méthode de Harris et Popat (Miles *et al.*, 2001).

pH

Le pH a été mesuré dans les rations expérimentales, les refus et les fèces. La mesure a été faite sur 10 g d'échantillon sec suspendus dans 100 mL d'eau déionisée (Mettler Delta 345, Mettler Toledo, Royaume Uni).

Marqueur de la résorption osseuse

Les échantillons de plasma ont été décongelés à 20°C et ont été analysés pour les cross-links du collagène de type I (Serum Cross Laps® ELISA, Osteometer BioTech A/S, Herlev, Denmark) selon le protocole préconisé par le fabricant. Cet essai de type immunoenzymatique utilise deux anticorps monoclonaux hautement spécifiques dirigés contre le peptide qui possède la séquence d'acides aminés Glu-Lys-Ala-His-Asp-β-Gly-Gly-Arg du peptide C-terminal du collagène de type I dans le sérum ou le plasma humains. La réactivité croisée pour la chèvre a été prouvée chez l'entreprise.

Analyses Statistiques

Les données des quatre bilans de la lactation ont été analysées en utilisant le module GLM de MINITAB (Minitab pour Windows 95 /NT, version 12.2 ; Minitab, Inc., 1998). Le modèle suivant a été utilisé :

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + (T \times B)_{ij} + \varepsilon_{ijl}$$

Où

μ = moyenne,

T_i = effet du traitement (i = MONO et BIC),

B_j = effet du Bilan (j = PIC, PLAC, FIN, DEB),

$(T \times B)_{ij}$ = effet de l'interaction de T_i et B_j ,

ε_{ijkl} = erreur expérimentale $\sim N(0, \sigma_e^2)$

La production laitière a été analysée avec PROC MIXED (SAS Institute, 1999-2000), suivant le modèle :

$$Y_{ijkl} = \mu + C_i + T_j + S_k + (T \times S)_{jk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Où

μ = moyenne,

C_i = effet aléatoire dû à la chèvre ($i = 1$ to 8),

T_j = effet dû au traitement (j = MONO et BIC),

S_k = effet de la semaine de prélèvement,

$(T \times S)_{jk}$ = effet de l'interaction de T_j et S_k et

ε_{ijkl} = erreur expérimentale $\sim N(0, \sigma_e^2)$.

Les concentrations plasmatiques en P et Ca ont été analysées avec PROC MIXED (SAS Institute, 1999-2000), selon le modèle :

$$Y_{ijkl} = \mu + C_i (T_j) + T_j + D_k + (T \times S)_{jk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Où

μ = moyenne,

$C_i (T_j)$ = effet aléatoire dû à la chèvre dans le traitement,

T_j = effet dû au traitement (j = MONO et BIC),

D_k = effet du jour de prélèvement,

$(T \times D)_{jk}$ = effet de l'interaction de T_j et D_k et

ε_{ijkl} = erreur expérimentale $\sim N(0, \sigma^2_e)$.

Le niveau de signification des différences retenu a été $p < 0,05$ et pour les tendances à $p \leq 0,1$.

Le test de Tukey a été utilisé pour les différences entre moyennes.

Des analyses des corrélations (coefficient de Pearson) et régression entre les variables de réponse ont été réalisées (Minitab Inc., 1998).

3.3 RÉSULTATS

La durée de cette expérience (343 jours) a naturellement conduit à des difficultés dans sa réalisation : deux chèvres sont mortes, une ne s'est jamais adaptée aux cages à bilan et deux se sont révélées non gestantes. Cette situation a conduit à l'utilisation d'animaux « de réserve » ; qui ont toutefois reçu la même alimentation pendant toute la durée de l'essai, ayant pour conséquence une modification du nombre et de la structure des groupes expérimentaux. Ainsi 5 chèvres par lot ont été utilisées aux bilans pic de lactation (PIC) et pleine lactation (PLAC), 5 (lot MONO) et 4 (lot BIC) en fin de lactation (FIN) et 4 par lot en début de lactation suivante (DEB).

Des variations de la composition chimique des rations expérimentales au cours de l'essai ont été observées ; elles sont présentées au Tableau 9. Des différences de poids vif (PV, Figure 18) intra et inter lots expérimentaux ont également été enregistrées ; elles proviennent principalement de l'évolution pas toujours synchrone du stade physiologique des chèvres mais surtout des aléas expérimentaux rencontrés pendant le déroulement de l'essai qui nous ont amené à utiliser des chèvres de remplacement. Pour éviter un éventuel biais dû au PV, les données seront rapportées au kg de PV excepté pour les coefficients.

Tableau 9. Composition chimique et pH des rations distribuées au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)

Item	PIC		PLAC		FIN		DEB	
	MONO	BIC	MONO	BIC	MONO	BIC	MONO	BIC
<i>g/kg de MS</i>								
NDF	348,70	377,00	370,97	337,00	333,78	346,52	342,90	331,34
ADF	185,33	187,70	176,05	167,90	168,49	167,37	174,33	160,42
<i>Minéraux</i>								
Ca total	10,01	10,50	12,20	13,50	9,51	11,86	9,09	9,49
P total	4,40	3,78	4,42	4,55	4,33	4,36	4,29	3,65
Psol	3,00	2,10	2,83	1,89	2,87	2,03	2,67	1,67
pH	5,00	5,01	5,09	5,16	4,95	5,07	5,07	5,13

MONO=phosphate monocalcique BIC=phosphate bicalcique dihydraté

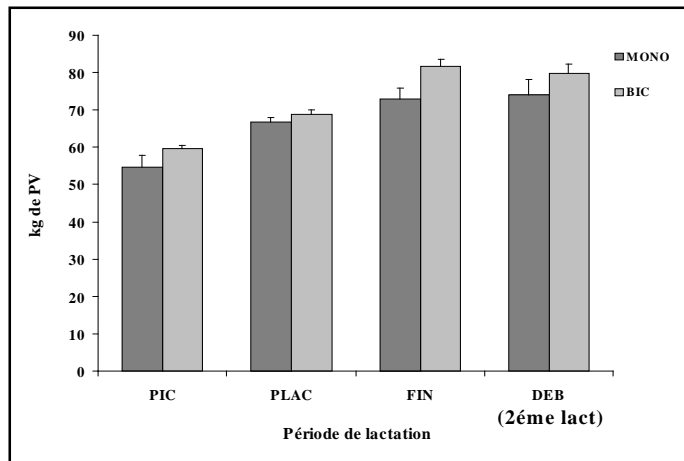


Figure 18. Variation du poids vif (PV) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)

3.3.1 Matière Sèche Ingérée (MSI)

L'ingestion de matière sèche (Tableau 10) n'a pas été différente entre traitements, mais un effet de la période de bilan a été observé. La MSI à PLAC a été plus importante que à FIN et à DEB ; PIC n'étant pas différent de ces deux groupes.

3.3.2 Production et Caractéristiques du Lait

Aucun effet significatif du traitement n'ayant été observé pour ces paramètres (Tableau 10) nous ne commenterons que les différences liées au stade de lactation

Production laitière brute (PLB)

La courbe de lactation pour les deux groupes est présentée à la Figure 19. La première lactation a été de 294 jours et la moyenne de PLB a été de 962 ± 46 L/animal. La PLB à partir de la sixième semaine de lactation (début de la période expérimentale) a été de 819 ± 44 L/animal. La PLB enregistrée aux périodes de bilans digestifs n'a pas été différente entre les traitements. La PLB de FIN a été significativement inférieure à celles des autres périodes de bilan. Il n'y a pas de différence significative pour la PLB des bilans PIC, PLAC et DEB même si des différences numériques peuvent être notées.

Tableau 10. Matière sèche ingérée (**MSI**), production laitière brute (**PLB**), caractéristiques du lait et efficacité de production (litres de lait par kg de MSI) observées au cours de la lactation, pic (**PIC**), pleine (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (**MONO**) ou insoluble (**BIC**)

Item	Traitement				Bilan								Valeur de p		
	MONO (n=38)		BIC (n=36)		PIC (n=20)		PLAC (n=20)		FIN (n=18)		DEB (2éme) (n=16)		T	Bilan	T×B
	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM			
MSI (g/kgPV/j)	33,95	0,87	34,36	0,89	35,31 ^{ab}	1,19	38,07 ^a	1,19	29,89 ^b	1,26	33,35 ^b	1,33	0,741	<0,001	0,546
PLB (mL/kgPV/j)	50,3	1,7	50,2	1,8	60,7 ^a	2,4	54,1 ^a	2,4	28,0 ^b	2,5	58,2 ^a	2,7	0,966	<0,001	0,690
Efficacité															
L lait : kg MS	1,46	0,03	1,44	0,04	1,73 ^a	0,05	1,43 ^b	0,05	0,92 ^c	0,05	1,74 ^a	0,05	0,754	<0,001	0,830
<i>Caractéristiques du lait (g/L)</i>															
Solides Totaux	127,80	1,40	129,10	1,44	132,30 ^b	1,92	114,10 ^d	1,92	123,80 ^c	2,04	143,70 ^a	2,15	0,510	<0,001	0,580
Taux butyreux	39,70	1,01	40,92	1,02	42,72 ^b	1,42	32,25 ^c	1,17	36,30 ^c	1,76	49,95 ^a	1,31	0,399	<0,001	0,493
Taux protéique	33,57	0,57	34,89	0,58	31,93 ^b	0,80	32,82 ^{ab}	0,67	35,38 ^a	0,10	36,79 ^a	0,75	0,111	<0,001	0,992
P	1,04	0,02	1,04	0,02	1,14 ^a	0,03	0,92 ^b	0,03	1,05 ^a	0,03	1,04 ^{ab}	0,04	0,907	<0,001	0,371
Ca	1,15	0,02	1,17	0,02	1,43 ^a	0,03	0,97 ^c	0,03	1,00 ^c	0,03	1,25 ^b	0,03	0,482	<0,001	0,387
Ca:P	1,12	0,02	1,13	0,02	1,26 ^a	0,03	1,06 ^b	0,03	0,97 ^b	0,03	1,21 ^a	0,03	0,763	<0,001	0,338
Cellules (log10)	2,47	0,09	2,68	0,09	2,37 ^b	0,12	2,63 ^{ab}	0,10	2,94 ^a	0,15	2,35 ^b	0,11	0,091	0,009	0,942

MONO=phosphate monocalcique BIC=phosphate bicalcique dihydraté

¹ T = traitement, B = bilan, T×B interaction traitement×bilan

^{a,b,c,d} Les chiffres sur les lignes affectées d'une lettre différente sont significativement différentes (p<0,05)

Efficacité de production laitière

L'efficacité de la production laitière n'a pas été différente entre les groupes ($1,45 \pm 0,04$), mais, entre bilans. La production laitière a été plus efficace ($p < 0,05$) au DEB et PIC par rapport au PLAC et FIN. L'efficacité la plus faible ($p < 0,05$) a été observée à la fin de la lactation.

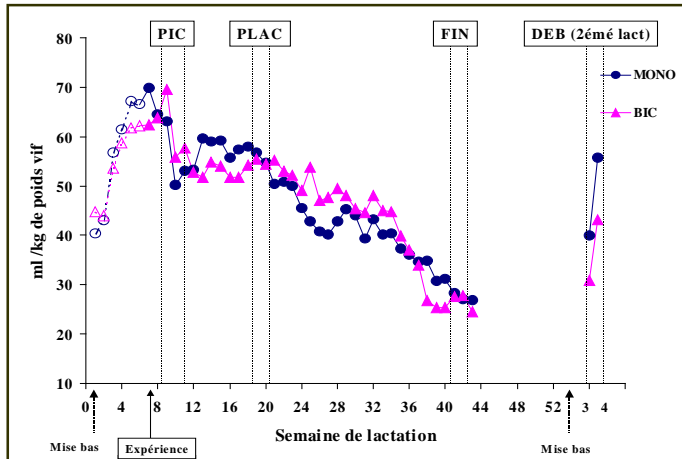
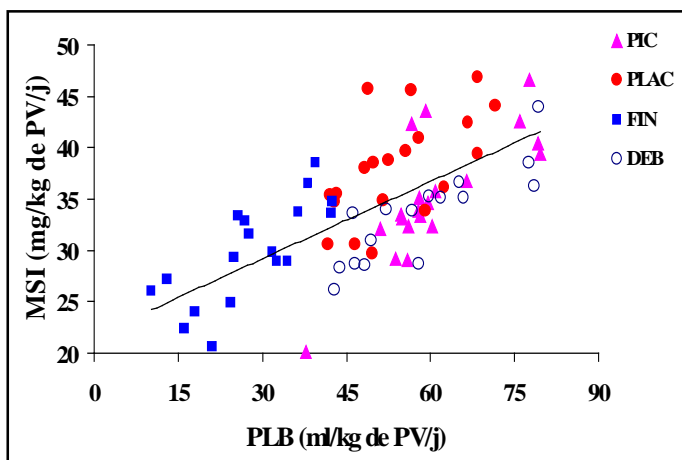


Figure 19. Production laitière brute au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)

L'ingestion de matière sèche et la production laitière (Figure 20) ont été significativement ($p < 0,001$) liées. Un effet de la période de lactation a été observé ($p < 0,001$). Les quantités de MSI plus importantes ont été associées aux fortes productions laitières (PIC, PLAC et DEB).



$$\text{MSI} = 21,7(1,62) + 0,25(0,03) \times \text{PLB}$$

$n=74 \quad R^2=0,48 \quad \text{rsd}=15,68$

Figure 20. Relation entre la matière sèche ingérée (MSI) et la production laitière (PLB) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières

Solides totaux (ST)

Les périodes de bilan montrent des différences significatives (Figure 21). La teneur en ST en ordre décroissant est la suivante : DEB, PIC, FIN, PLAC.

Taux butyreux

La teneur en matière grasse du lait a varié de façon similaire aux ST (Figure 21), le lait le plus riche en matière grasse a été observé aux premiers stades de lactation (DEB>PIC) et les moins riches pendant la seconde partie de la lactation (PLAC≈FIN). Les ST ont globalement été liés aux taux butyreux [$ST=69,9(4,26)+1,44(0,1) \times \text{taux butyreux}$; $p<0,001$; $R^2=0,77$; $rsd=6,97$].

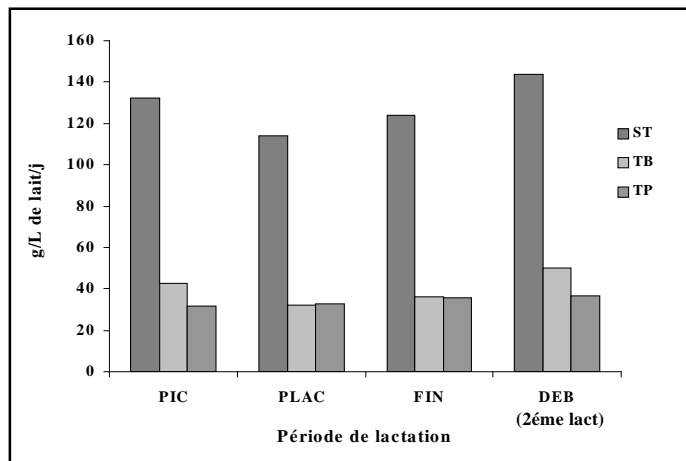


Figure 21. Teneur en solides totaux (ST), taux protéique (TP) et taux butyrique (TB) du lait, au cours de la lactation : pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)

Taux protéique

Un effet significatif du stade de lactation a été enregistré : les taux protéiques de FIN et de DEB sont supérieurs à PIC, il n'y a pas de différence entre le taux protéique de PLAC et ceux des autres périodes de bilan.

Phosphore (P)

Les variations de la teneur en P aux différents bilans sont présentées à la Figure 22, les concentrations plus élevées ont été observées à PIC et à FIN, tandis que la concentration la plus faible a été celle de PLAC. La concentration de P observée au bilan DEB a été intermédiaire. Les teneurs en protéines ont été associées aux concentrations en P du lait [$\text{Taux protéique}=23,6(2,67)+10,2(2,58) \times P \text{ lait (g/L)}$; $p<0,001$; $R^2=0,22$; $rsd=3,11$].

Calcium (Ca)

La Figure 22 présente les variations de la teneur en Ca au cours de la lactation, les laits de PIC ont des teneurs en Ca significativement plus élevées que celles des autres bilans suivis de DEB puis de PLAC et FIN.

Le rapport Ca : P n'a pas été affecté ($p > 0,05$) par le traitement (Tableau 10), mais par le bilan ($p < 0,05$). Les rapports Ca : P observés au PIC et DEB ont été plus importants ($p < 0,05$) en comparaison à ceux de PLAC et FIN (Figure 22).

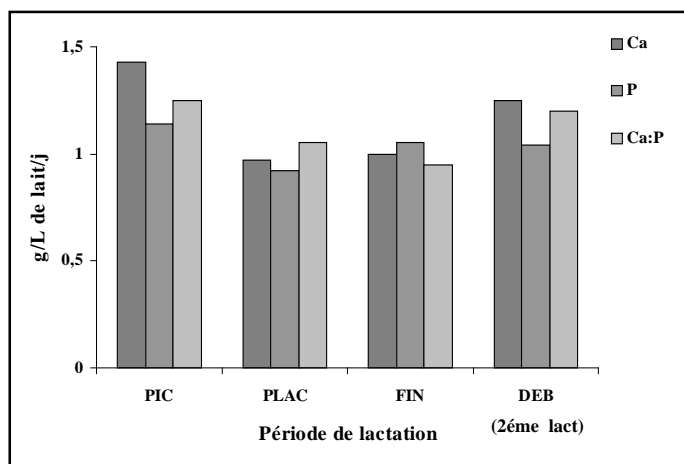


Figure 22. Teneur en calcium (Ca), phosphore (P) et proportion Ca : P (Ca : P) du lait, au cours de la lactation : pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)

Cellules somatiques

Les laits de DEB, PIC et PLAC n'ont pas montré de différence entre eux ; FIN a présenté un taux cellulaire plus élevé que PIC et PLAC.

3.3.3 Digestibilité Apparente des Rations

Aucun effet significatif du traitement n'ayant été observé pour ces paramètres (Tableau 11) nous ne commenterons que les différences liées au stade de lactation.

Matière sèche (dMS) et matière organique (dMO)

La digestibilité de la MS a varié au cours des différentes périodes de bilans, la dMS observée à PIC n'a pas été différente de celle de FIN, mais, elle a été significativement supérieure de celles de PIC et de DEB. Les dMO ont été plus élevées à PIC et à FIN par rapport à DEB. La dMO observée à PLAC a été intermédiaire.

Parois végétales

L'effet du traitement sur la digestibilité du NDF a montré une tendance ($p=0,078$) à être plus importante chez les animaux du groupe BIC. La digestibilité du NDF qui a été plus élevée à PIC par rapport à DEB ; les autres bilans PLAC et FIN n'ont pas été différents de PIC ou DEB. L'interaction T×B a été significative sur la digestibilité du NDF (Figure 23). La valeur la plus élevée a été enregistrée pour le groupe BIC à PIC ($68,49 \pm 0,98$ g/100), et la plus faible a été pour MONO à DEB ($62,02 \pm 1,1$ g/100). La digestibilité la plus élevée de la ADF a été observée à PIC et la plus faible à DEB.

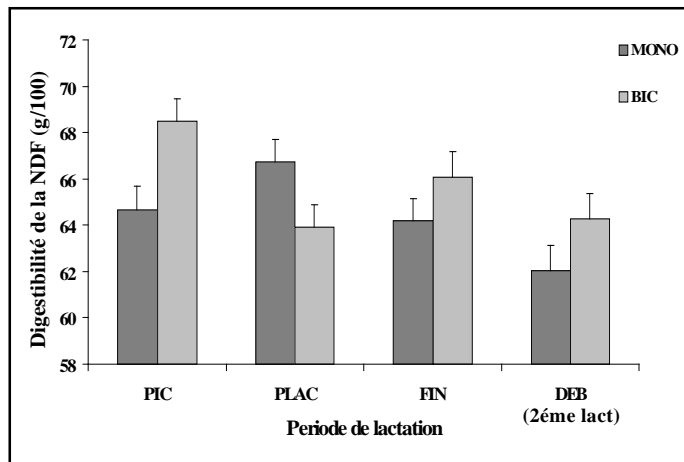


Figure 23. Digestibilité du NDF au cours de la lactation : pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)

Tableau 11. Digestibilités de la matière sèche (**dMS**), de la matière organique (**dMO**), parois totales (**NDF**), lignocellulose (**ADF**) observées au cours de la lactation, pic (**PIC**), pleine (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (**MONO**) ou insoluble (**BIC**)

Item	Traitement				Bilan								Valeur de P		
	MONO (n=38)		BIC (n=36)		PIC (n=20)		PLAC (n=20)		FIN (n=18)		DEB(2ème) (n=16)		T	Bilan	T×B
	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM			
dMS (g/100)	74,1	0,3	74,2	0,3	75,2 ^a	0,4	73,6 ^{bc}	0,4	74,9 ^{ab}	0,4	73,0 ^c	0,4	0,841	<0,001	0,891
dMO (g/100)	76,6	0,3	77,1	0,3	77,5 ^a	0,4	76,5 ^{ab}	0,4	78,0 ^a	0,4	75,3 ^b	0,4	0,267	<0,001	0,793
NDF (g/100)	64,4	0,5	65,7	0,5	66,6 ^a	0,7	65,3 ^{ab}	0,7	65,1 ^{ab}	0,7	63,1 ^b	0,8	0,078	0,016	0,009
ADF (g/100)	58,2	0,5	58,7	0,5	61,2 ^a	0,7	58,6 ^b	0,7	59,9 ^{ab}	0,7	54,1 ^c	0,8	0,513	<0,001	0,719

MONO=phosphate monocalcique BIC=phosphate bicalcique dihydraté

¹ T = traitement, B = bilan, T×B interaction traitement×bilan

^{a,b,c} Les chiffres sur les lignes affectées d'une lettre différente sont significativement différentes (p<0,05)

3.3.4 Bilan du Phosphore

Phosphore total

Seule l'excrétion urinaire de P a présenté un effet significatif du traitement (Tableau 12) ; à l'exception de ce paramètre, nous ne commenterons que les différences liées au stade de lactation.

L'ingestion de phosphore (**Ping**) la plus importante a été observée en pleine lactation (PLAC), tandis qu'elle n'a pas été différente aux autres stades de lactation.

L'excrétion journalière fécale de P (**Pfec**) correspond en moyenne à 66,8% de P ingéré. Les variations de **Pfec** observées au cours des périodes de bilans suivent celles de **Ping**. L'excrétion fécale de P a été plus élevée à PLAC. Elle n'a pas été différente pour les autres bilans.

L'absorption apparente de P (**Pabs**) a été plus importante à PLAC et à DEB et plus faible à FIN. La valeur observée à PIC a été intermédiaire.

Tableau 12. Bilans de phosphore total (**P**) et soluble (**Psol**) observées au cours de la lactation, pic (**PIC**), pleine (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (**MONO**) ou insoluble (**BIC**)

Item	Traitement				Période								Valeur de P		
	MONO (n=38)		BIC (n=36)		PIC (n=20)		PLAC (n=20)		FIN (n=18)		DEB (2ème) (n=16)		T	Bilan	T×B
	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM			
<i>Phosphore (mg/kg PV/j)</i>															
P ingéré	141,0	4,3	138,1	4,4	134,5 ^b	5,9	166,2 ^a	5,9	127,7 ^b	6,2	130,0 ^b	6,5	0,639	<0,001	0,210
P fécal	93,0	3,2	92,8	3,3	86,4 ^b	4,3	115,3 ^a	4,3	94,2 ^b	4,6	75,7 ^b	4,9	0,964	<0,001	0,433
P absorbé apparent	48,0	3,1	45,3	3,1	48,1 ^{ab}	4,2	51,0 ^a	4,2	33,4 ^b	4,4	54,3 ^a	4,7	0,543	0,009	0,359
P lait	51,7	1,8	52,2	1,9	69,0 ^a	2,5	50,0 ^b	2,5	29,0 ^c	2,7	60,1 ^a	2,8	0,830	<0,001	0,149
P urinaire	2,2 ^a	0,7	0,3 ^b	0,7	3,8 ^c	0,9	0,4 ^{cd}	0,9	0,1 ^d	0,9	0,8 ^{cd}	1,0	0,047	0,028	0,053
Rétention	-5,9	2,3	-7,2	2,3	-24,7 ^b	3,1	0,9 ^a	3,1	4,3 ^a	3,3	-6,6 ^a	3,5	0,695	<0,001	0,713
CAA %	33,6	1,6	35,2	1,7	35,0 ^{ab}	2,2	30,4 ^b	2,2	26,1 ^c	2,4	40,9 ^a	2,5	0,684	<0,001	0,903
<i>Phosphore soluble (mg/kg PV/j)</i>															
Psol ingéré	94,1 ^a	2,4	67,6 ^b	2,5	85,7 ^{cd}	3,6	90,2 ^c	3,6	74,7 ^d	3,6	72,9 ^d	3,7	<0,001	0,002	0,072
Psol fécal	13,3 ^a	0,3	12,1 ^b	0,3	15,2 ^c	0,4	13,2 ^d	0,4	11,4 ^e	0,5	11,1 ^e	0,5	0,015	0,002	0,848
Psol absorbé apparent	80,8 ^a	2,4	55,5 ^b	2,4	70,5 ^{cd}	3,2	77,0 ^c	3,2	63,3 ^d	3,4	61,8 ^d	3,6	<0,001	0,008	0,064
CAA %	85,5 ^a	0,5	81,8 ^b	0,5	81,6 ^d	0,7	84,6 ^c	0,7	84,2 ^{cd}	0,7	83,9 ^{cd}	0,8	<0,001	0,016	0,454

MONO=phosphate monocalcique BIC=phosphate bicalcique dihydraté

¹ T = traitement, B = bilan, T×B interaction traitement×bilan

^{a,b,c,d,e} Les chiffres sur les lignes affectées d'une lettre différente sont significativement différentes (p<0,05)

Les quantités de phosphore excrétées dans le lait (**Plait**) ont été plus importantes aux premiers stades de lactation (PIC et DEB) et plus faibles ensuite (PLAC et FIN).

L'excrétion du phosphore par la voie rénale (**Puri**) a été affectée par le traitement, le groupe MONO a présenté des valeurs de Puri près de 8 fois plus élevées que BIC qui ont représenté 4,69% et 0,64 de **Pabs** pour MONO et BIC respectivement. Ce résultat est explicable en partie par la présence dans le groupe MONO d'une chèvre « excrétrice urinaire de P » ; la différence reste significative en excluant cet animal de l'analyse (MONO=1,02 vs 0,29, $p=0,013$). Le phosphore excrété dans l'urine a varié au cours de la lactation, la valeur la plus faible obtenue en fin de lactation (FIN) est significativement différente des autres périodes de bilan qui ne présentent pas de différence entre elles.

La rétention du phosphore total a été négative pour les deux premières périodes de bilan (DEB et PIC) et positive ensuite (PLAC et FIN). La rétention au pic de lactation, fortement négative, est significativement inférieure à celles mesurés aux autres stades de lactation qui ne montrent pas de différence entre elles.

Les valeurs de coefficient d'absorption apparente (CAA) ont été plus élevées en première partie de lactation (DEB et PIC). La valeur de CAA significativement la plus forte a été obtenue en début de lactation (DEB) et la plus faible au bilan FIN.

Phosphore soluble dans l'eau

Conformément au schéma expérimental, les animaux ont ingéré de quantités différentes de phosphore soluble (**Psol**) dans l'eau selon les régimes expérimentaux (Tableau 12). Les résultats pour l'ingestion de **Psol** suivent ceux du phosphore total.

Le phosphore fécal soluble dans l'eau a été affecté par le traitement, le groupe MONO a présenté des valeurs plus importantes de **Psol** dans les fèces. Le phosphore fécal soluble dans l'eau a représenté 14,12 et 17,95% de **Psol** ingéré pour le groupe MONO et BIC respectivement. L'excrétion fécale de **Psol** a varié au cours de la lactation, elle a été plus importante aux périodes de bilans PIC et PLAC plus faibles aux bilans FIN et DEB.

L'absorption apparente des Psol a été affectée par le traitement et par la période de bilan. Le phosphore soluble apparemment absorbé est plus élevé pour le groupe MONO. La quantité de Psol absorbée au bilan PIC a été plus élevée que celles observées à FIN et DEB.

Les coefficients d'absorption apparente (CAA) du phosphore soluble dans l'eau a été affectée par le traitement et par la période le bilans. Le CAA de **Psol** été plus élevé chez les chèvres du groupe MONO, de même celui observé en pleine lactation (PLAC) a été plus fort que celui de PIC. Les coefficients d'absorption de **Psol** ont présenté un coefficient de variation faible (**Psol** =4,5%).

3.3.5 Bilan du Calcium

Les effets du traitement (T), des périodes de bilans (B) et de l'interaction T×B sur les bilans du calcium (Ca) sont présentés au (Tableau 13). Les effets du traitement et des périodes de bilans ont été significatifs sur l'ingestion de calcium (**Ca ing**), les animaux du groupe BIC ont ingéré des quantités plus élevées de Ca (12%). L'ingestion de Ca a également été plus importante au bilan PLAC, l'ingestion de calcium pour les autres périodes de bilan (PIC, FIN, DEB) n'a pas été significativement différente.

L'excrétion fécale de Ca (**Ca fec**) a été significativement plus élevée chez les animaux du groupe BIC. Ca fec a été plus important au bilan PLAC.

L'absorption apparente de Ca (**Ca abs**) n'a pas été affectée par la solubilité de P, en revanche elle l'a été par le stade de lactation. Les quantités de Ca abs ont été plus élevées aux bilans PLAC et PIC.

Aucun effet significatif du traitement n'a été observé pour l'excrétion de Ca dans le lait (**Ca lait**). L'effet significatif de la période de bilans a été enregistré pour Ca lait. L'excrétion de Ca dans le lait a été en ordre décroissant PIC, DEB, PLAC, FIN.

L'excrétion urinaire de calcium (**Cauri**) n'a pas été affectée par le traitement, par contre elle l'a été par les périodes de bilan. Le bilan PIC a montré les valeurs les plus élevées de **Cauri**, tandis que celles des autres périodes de bilans n'ont pas été significativement différentes.

Le traitement n'a pas eu d'effet significatif sur la rétention du calcium. Un effet significatif de la période de bilans a été observé, des rétentions négatives ont été observés en première partie de lactation (PIC et DEB), elles ont été significativement inférieures à celles de PLAC et FIN.

La tendance ($p=0,071$) de l'effet du traitement a été observée sur le coefficient d'absorption apparente du calcium (CAA Ca).

Tableau 13. Bilans de calcium (Ca), observées au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)

Item	Treatment				Bilan								Valeur de p		
	MONO (n=38)		BIC (n=36)		PIC (n=20)		PLAC (n=20)		FIN (n=18)		DEB (2ème) (n=16)		T	Bilan	T×B
	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM			
<i>Calcium (mg/kg PV/j)</i>															
Ca ingéré	350,0 ^b	10,3	392,7 ^a	10,6	361,5 ^d	14,2	486,2 ^c	14,2	327,6 ^d	15,1	310,2 ^d	15,9	0,005	<0,001	0,386
Ca fécal	296,7 ^b	8,9	348,8 ^a	9,2	303,0 ^d	12,3	424,9 ^c	12,3	279,8 ^d	13,0	283,2 ^d	13,7	<0,001	<0,001	0,718
Ca absorbé apparent	53,3	5,1	43,9	5,3	58,4 ^a	7,0	61,2 ^a	7,0	47,8 ^{ab}	7,4	27,0 ^b	8,6	0,206	0,008	0,425
Ca lait	59,4	2,0	60,0	2,1	86,6 ^a	2,8	52,3 ^c	2,8	28,0 ^d	2,9	71,9 ^b	3,1	0,831	<0,001	0,227
Ca urinaire	1,1	0,1	1,2	0,1	1,8 ^a	0,1	1,0 ^b	0,1	0,9 ^b	0,1	0,9 ^b	0,1	0,286	<0,001	0,526
Rétention	-7,2	5,1	-17,3	5,3	-29,9 ^b	7,0	7,9 ^a	7,0	18,9 ^a	7,4	-45,8 ^b	7,8	0,174	<0,001	0,490
CAA %	14,7	1,4	11,0	1,4	15,9	1,9	12,3	1,9	14,2	2,0	9,0	2,1	0,071	0,103	0,490

MONO=phosphate monocalcique BIC=phosphate bicalcique dihydraté

¹ T = traitement, B = bilan, T×B interaction traitement×bilan

^{a,b,c,d,e} Les chiffres sur les lignes affectées d'une lettre différente sont significativement différentes (p<0,05)

3.3.6 Paramètres Plasmatiques

Phosphore (P plasma)

Les effets du traitement (T), des périodes de bilans digestifs (B) et de l'interaction T×B sur les concentrations plasmatiques en phosphore inorganique sont présentés au Tableau 14. Le groupe MONO a présenté des concentrations plasmatiques de P supérieures à celles du groupe BIC. La Figure 24 présente les variations des phosphatémies au cours de la totalité de la période expérimentale (29 mesures par chèvre). L'analyse de ces données a montré une tendance ($p=0,065$) à un effet de la source de P, le groupe MONO aurait des concentrations plus élevées (MONO=58,49 ; BIC=51,23, SEM=2,4 mg de P/L de plasma). Les concentrations plasmatiques en P ont aussi été affectées par le jour de prélèvement ($p<0,001$), cet effet est rapporté à la Figure 24.

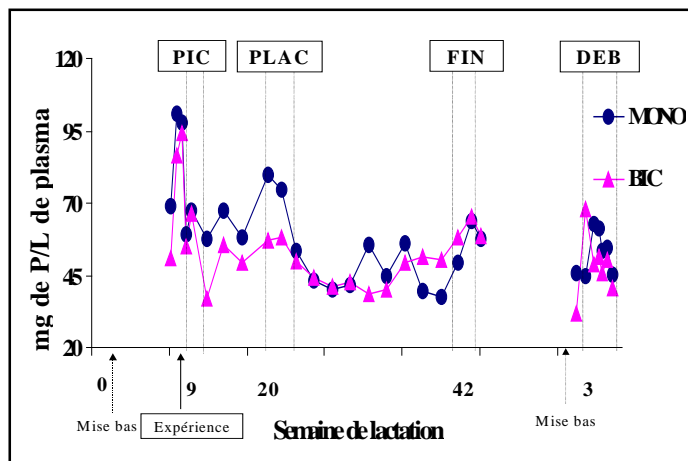


Figure 24. Concentration plasmatique en phosphore (P) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)

Tableau 14. Concentrations plasmatiques en phosphore (**P plasma**), calcium (**Ca plasma**) et cross-links de collagène du type I (**CTX**), observées au cours de la lactation, pic (**PIC**), pleine (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (**MONO**) ou insoluble (**BIC**)

Item	Treatment				Bilan								Valeur de p		
	MONO (n=38)		BIC (n=36)		PIC (n=20)		PLAC (n=20)		FIN (n=18)		DEB (2éme) (n=16)		T	Bilan	T×B
	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM			
P plasma (mg/L)	68,75 ^a	2,78	59,16 ^b	2,86	68,90	3,81	64,01	3,81	60,55	4,04	62,37	4,26	0,019	0,476	0,170
Ca plasma (mg/L)	100,03	1,32	102,22	1,36	98,59 ^a	1,82	104,9 ^a	1,82	104,30 ^a	1,93	96,97 ^b	2,03	0,253	0,008	0,353
CTX (ng/mL)	1,53 ^a	0,07	1,29 ^b	0,07	1,89 ^c	0,09	1,28 ^d	0,09	0,74 ^d	0,10	1,72 ^c	0,10	0,018	<0,001	0,046

MONO=phosphate monocalcique BIC=phosphate bicalcique dihydraté

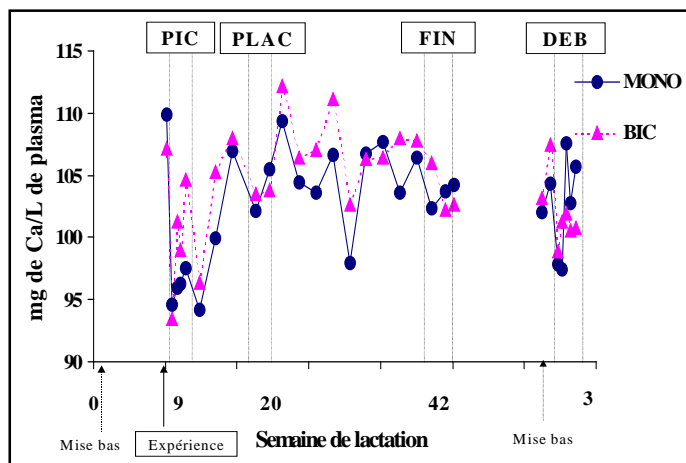
¹ T = traitement, B = bilan, T×B interaction traitement×bilan

^{a,b,c} Les chiffres sur les lignes affectées d'une lettre différente sont significativement différentes (p<0,05)

Calcium (Ca plasma)

Les effets du traitement, des périodes de bilans et l'interaction traitement et bilan sur la concentration plasmatique de Ca sont présentés au Tableau 14. La source de phosphore alimentaire n'a pas eu d'effet significatif sur la calcémie.

L'effet de la période de bilans a été significatif, les concentrations plasmatiques de Ca ont été significativement les plus faibles au bilan DEB. Les calcémies des autres périodes de bilans n'ont pas été différentes entre elles. Les variations des concentrations en Ca plasmatique au cours de la lactation sont présentées à la Figure 25, leur analyse n'a pas montré d'effet significatif du traitement, mais du jour de prélèvement ($p < 0,001$). La concentration la plus faible a été observée le premier jour du bilan PIC ($92,31 \pm 2,82$ mg de Ca/L de plasma) et la concentration la plus élevée ($p < 0,05$) a été observée 11 jours après le bilan PLAC ($110,77 \pm 2,74$ mg/L de plasma).



concentrations en CTX observées chez le groupe BIC au bilan FIN ($0,54 \pm 0,15$ ng/mL de plasma) ont été significativement inférieures à celles observés pour les deux groupes aux autres périodes de bilans (PIC, PLAC et DEB).

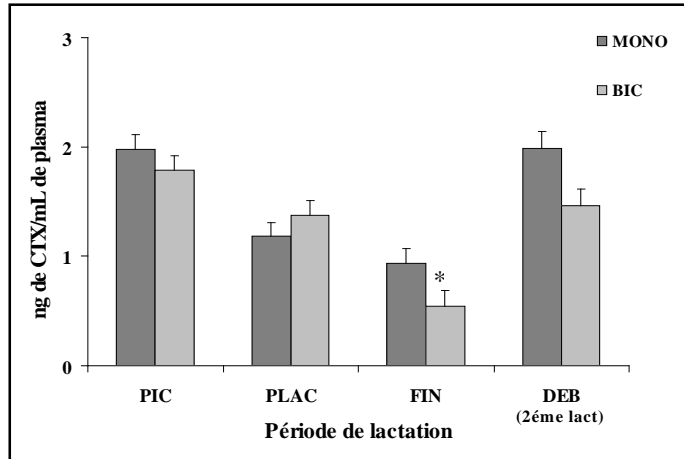
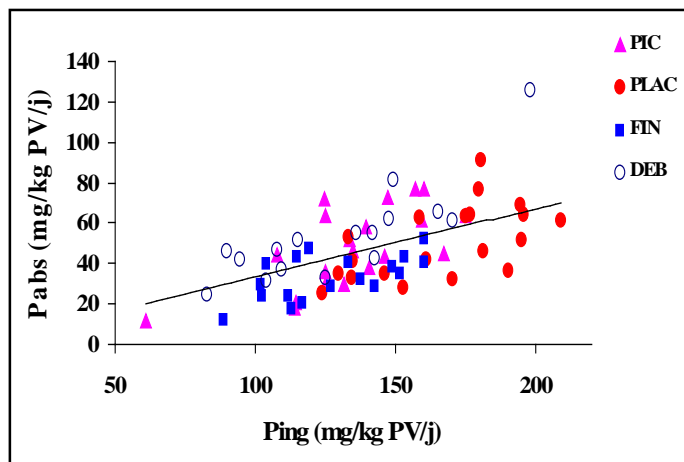


Figure 26. Concentration plasmatique en cross links de collagène de type I (CTX) au cours de la lactation, pic (PIC), pleine (PLAC), fin (FIN) et début (DEB), chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC). * Significativement différent ($p < 0,05$)

3.3.7 Les Lois Générales de Réponse

Absorption apparente de P ingéré

La relation globale entre l'absorption apparente et l'ingestion de P (Figure 27) a montré l'effet significatif ($p < 0,001$) de la période. L'absorption apparente de P ingéré a été plus importante à DEB. L'absorption de P a diminué aux derniers stades de lactation PLAC et FIN. Un animal a montré au bilan DEB une absorption spécialement importante ($126,4 \pm 6,13 \text{ mg/kg de PV}$).



$$\text{Pabs} = -10,34(8,66) + 0,41(0,06) \times \text{Ping}$$

$n=74 \quad R^2=0,39 \quad \text{rsd}=15,68$

Figure 27. Relation entre l'absorption apparente du phosphore (**Pabs**) et l'ingestion du phosphore (**Ping**) au cours de la lactation : pic (**PIC**), plein (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières

Absorption apparente de phosphore et la sécrétion dans le lait

Le phosphore éliminé dans le lait a été lié ($p < 0,001$) à son absorption apparente, l'effet de la période a été significatif. L'élimination la plus importante en relation à P abs, a été observée à PIC et la plus faible à FIN, [$\text{Plait} = 26,2(4,51) + 0,56(0,09) \times \text{Pabs}$; $n=74$; $R^2=0,35$; $\text{rsd}=15,11$].

Le coefficient d'absorption apparente de P a été directement associé à la perte de P dans le lait (Figure 28), la période de lactation a été significative ($p < 0,05$), la relation la plus faible a été observée pour PLAC (équation à la Figure 28).

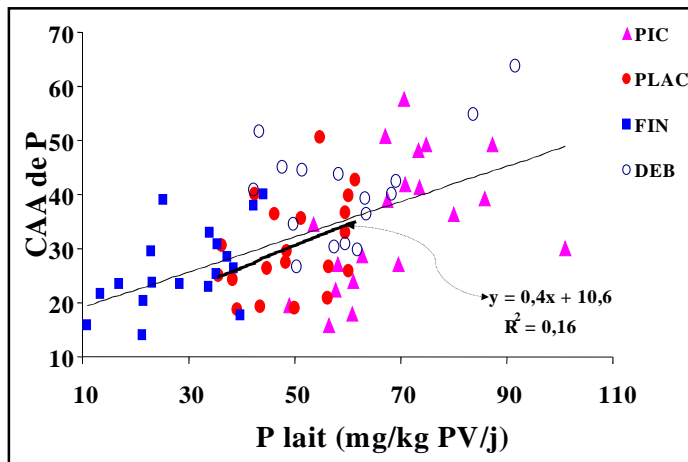
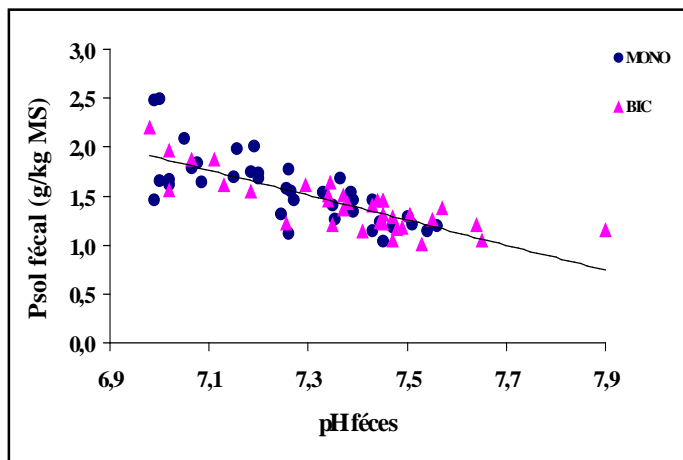


Figure 28. Relation entre le coefficient d'absorption apparente de phosphore (CAA P) et la perte de phosphore dans le lait (**Plait**) au cours de la lactation, pic (**PIC**), pleine (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières

Excrétion fécale de phosphore soluble dans l'eau en réponse au pH fécal

La concentration fécale en P_{sol} a été négativement associée ($p < 0,001$) au changement de pH fécal (Figure 29). Les concentrations les plus élevées ont été observées aux valeurs de pH plus acides.



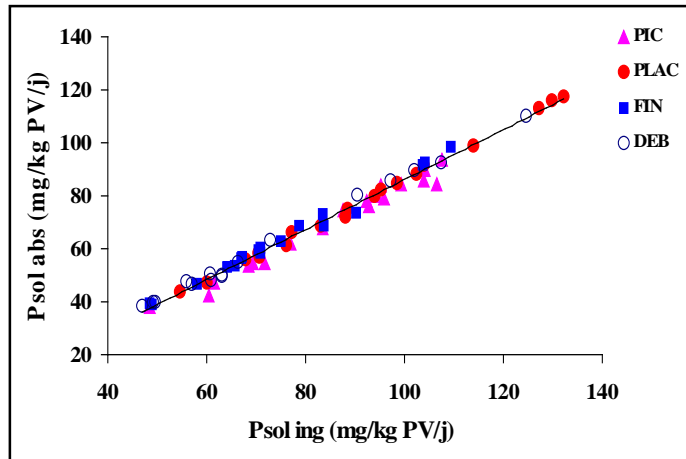
$$\text{Psol fécal} = 10,8(0,9) - 1,27(0,12) \times \text{pH fécal}$$

n=74 R²=0,60 rsd=0,2

Figure 29. Relation globale entre la concentration en phosphore soluble fécal (**Psol fécal**) et le pH des fèces au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (**MONO**) ou insoluble (**BIC**)

Phosphore soluble absorbé en réponse à l'ingestion de phosphore soluble dans l'eau

La Figure 30 présente la relation entre l'absorption apparente de P_{sol} et son ingestion ($p < 0,001$). L'effet de la période de lactation a été significatif ($p < 0,001$) sur la relation, les valeurs les plus importantes de P_{sol} absorbé ont été observées à DEB.



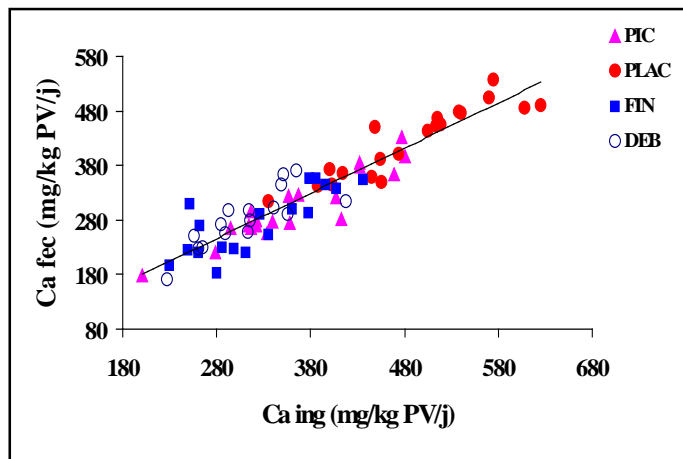
$$\text{Psol abs} = -8,2(1,05) + 0,94(0,01) \times \text{Psol ing}$$

n=74 R²=0,99 rsd=2,27

Figure 30. Relation entre l'absorption apparente de phosphore soluble (**Psol abs**) et son ingestion (**Psol ing**) au cours de la lactation, pic (**PIC**), pleine (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières

Excrétion fécale de calcium ingéré

L'excrétion de Ca par la voie fécale a été positivement liée ($p < 0,001$) à son ingestion (Figure 31). L'effet du traitement ($P < 0,05$) et de la période de lactation ($P < 0,001$) a été observé sur cette relation. L'excrétion fécale de Ca ingéré la plus faible a été observée à DEB.



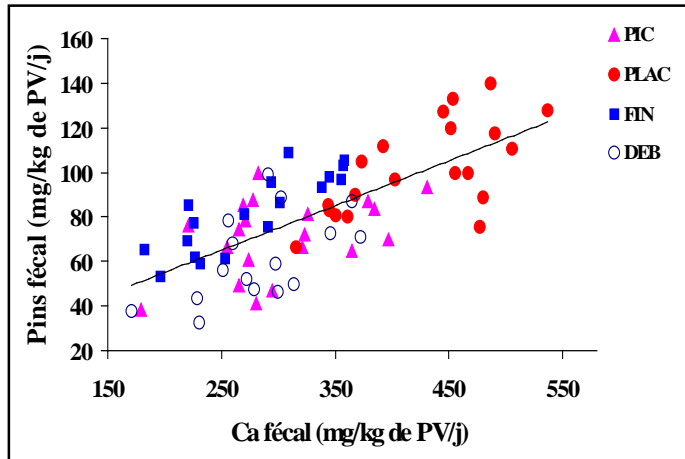
$$\text{Cafec} = 0,87(0,01) \times \text{Caing}$$

n=74 R²=0,87 rsd=29,53

Figure 31. Relation entre l'excrétion fécale (**Cafec**) et le calcium ingéré (**Caing**) au cours de la lactation, pic (**PIC**), pleine (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières

Relation entre l'excrétion de phosphore insoluble dans l'eau et l'excrétion de calcium

L'excrétion fécale de P et l'excrétion fécale de Ca ont montré une liaison positive ($p < 0,001$, Figure 32), avec l'effet du traitement et de la période de lactation ($p < 0,001$). La plus forte excrétion fécale de P a été observée à FIN.



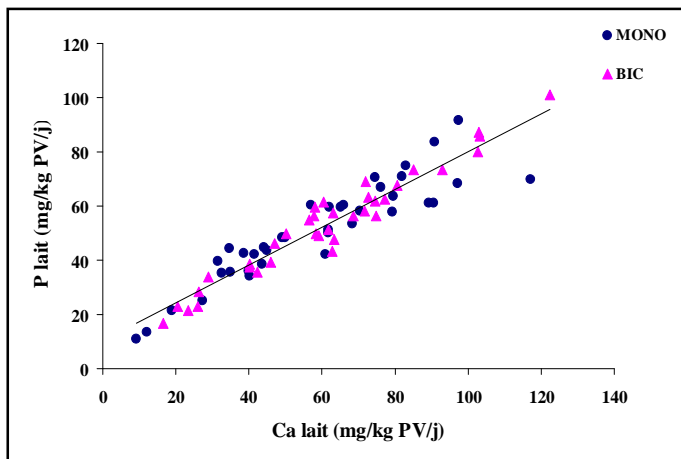
$$\text{Pinsfec} = 118,42(24,55) + 2,58(0,29) \times \text{Cafec}$$

n=74 $R^2=0,52$ $\text{rsd}=59,88$

Figure 32. Relation entre l'excrétion fécale de phosphore insoluble (**Pins fec**) et l'excrétion fécale de calcium (**Cafec**) au cours de la lactation, pic (**PIC**), pleine (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières

Perte de calcium et phosphore dans le lait

La Figure 33 présente la relation étroite entre la perte dans le lait de P ($p < 0,001$) et celle de Ca. La relation n'a été affectée ni par le traitement, ni par le stade de lactation.



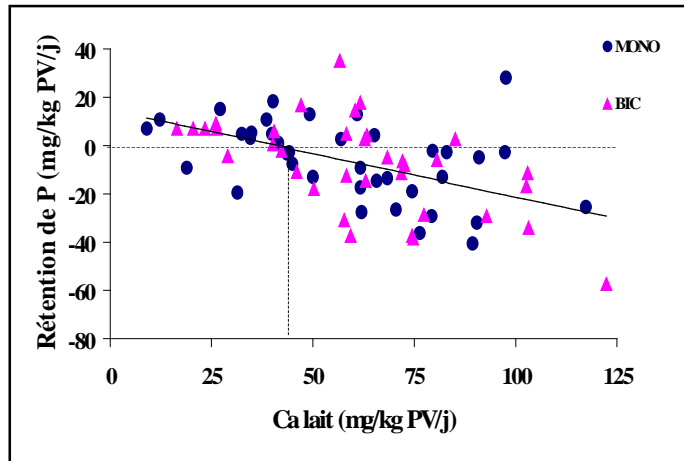
$$\text{Plait} = 10,53(1,87) + 0,69(0,03) \times \text{Calait}$$

n=74 $R^2=0,89$ $\text{rsd}=6,24$

Figure 33. Relation globale entre la perte de phosphore (**Plait**) et de calcium dans le lait (**Calait**) au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (**MONO**) ou insoluble (**BIC**)

Rétention de phosphore en réponse à l'élimination de Ca dans le lait

La rétention de P a été négativement affectée ($p < 0,001$) par la perte de Ca dans le lait (Figure 34). La sortie de Ca par le lait a favorisé les rétentions négatives. L'état d'équilibre (bilan nul) a été observé avec une perte de Ca de 44,5 mg/kg de PV par jour.



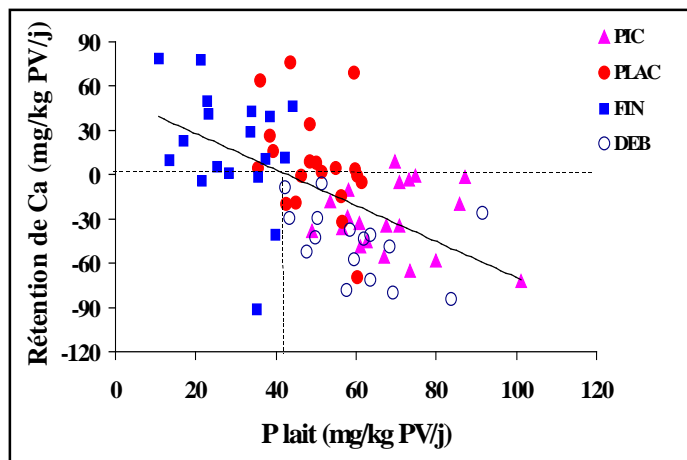
$$\text{Rétention P} = 14,86(4,58) - 0,36(0,07) \times \text{Calait}$$

$n=74 \quad R^2=0,27 \quad \text{rsd}=15,26$

Figure 34. Relation globale entre la rétention de phosphore (**Rétention de P**) et l'élimination de calcium dans le lait (**Calait**) au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (**MONO**) ou insoluble (**BIC**)

Rétention de calcium en réponse à la perte du phosphore dans le lait

La rétention de Ca a été négativement affectée ($p < 0,001$) par la perte de P dans le lait (Figure 35). L'importante sortie de P dans le lait a favorisé les rétentions négatives. L'état d'équilibre (bilan nul) a été observé avec une perte de P de 41,0 mg/kg de PV par jour. Cette association a montré l'effet de la période de lactation ($p < 0,05$). Une rétention fortement négative associée à la forte perte de P par le lait a été observée à DEB.



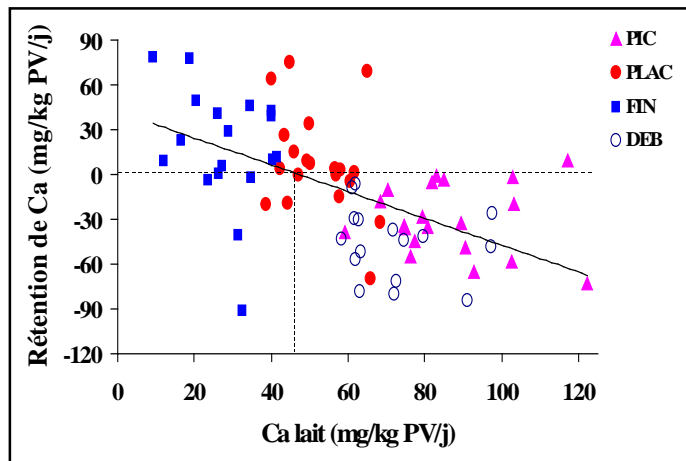
$$\text{Rétention Ca} = 52,2(11,62) - 1,22(0,21) \times \text{Plait}$$

$n=74 \quad R^2=0,33 \quad \text{rsd}=32$

Figure 35. Relation entre la rétention de calcium (**Rétention de Ca**) et l'élimination de phosphore dans le lait (**Plait**) au cours de la lactation, pic (**PIC**), pleine (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières

Rétention de calcium en réponse à son élimination dans le lait

La Figure 36 présente la relation globale entre la rétention de Ca et son élimination dans le lait ($p < 0,001$). La forte perte de Ca dans le lait a été associée aux rétentions négatives. L'effet du stade de lactation a été significatif ($p < 0,01$) sur la relation. L'état d'équilibre (bilan nul) a été observé avec une sortie de Ca de 45,0 mg/kg de PV par jour.



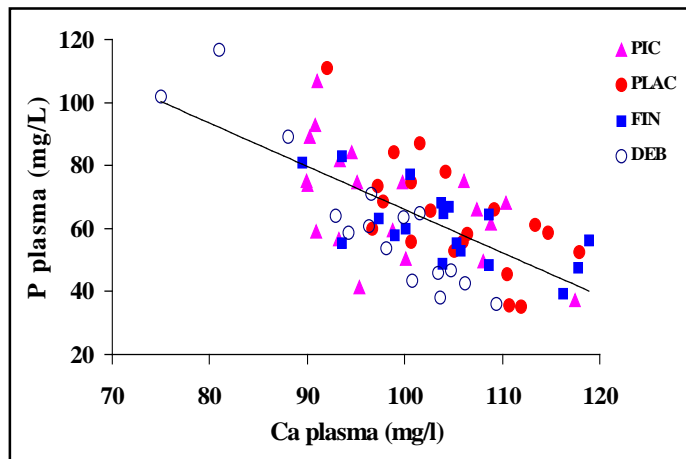
$$\text{RétentionCa} = 42,3(10,05) - 0,9(0,16) \times \text{Calait}$$

$n=74 \quad R^2=0,32 \quad \text{rsd}=33,47$

Figure 36. Relation globale entre la rétention de calcium (**Rétention de Ca**) et l'élimination de calcium dans le lait (**Calait**) au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (**MONO**) ou insoluble (**BIC**)

Relation entre le phosphore et le calcium plasmatiques

La relation inverse a été observée entre la concentration plasmatique en P et celle en Ca (Figure 37). Les effets de T et B, et leur interaction ($T \times B$) ont été significatifs ($p < 0,05$) sur la relation. La concentration en P la plus élevée a été observée chez le lot BIC à DEB ($49,68 \pm 4,18$ mg/L) et la plus élevée chez les animaux du lot MONO à PLAC ($77,79 \pm 3,84$ mg/L).



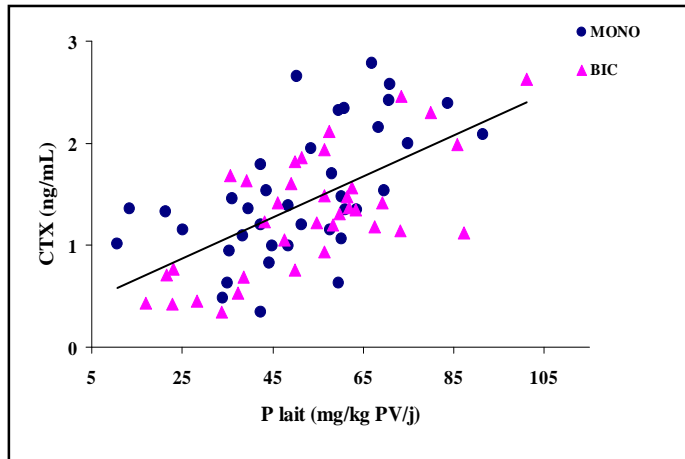
$$\text{Pplasma} = 202,7(18,24) - 1,37(0,18) \times \text{Caplasma}$$

$n=74 \quad R^2=0,45 \quad \text{rsd}=13,27$

Figure 37. Relation entre la concentration plasmatique en phosphore (**Pplasma**) et la concentration plasmatique de calcium (**Caplasma**) au cours de la lactation, pic (**PIC**), pleine (**PLAC**), fin (**FIN**) et début (**DEB**), chez des chèvres laitières

Cross links en réponse à l'élimination de phosphore dans le lait

Les concentrations plasmatiques de CTX ont été globalement associées ($p < 0,05$) à la perte de P dans le lait (Figure 38).



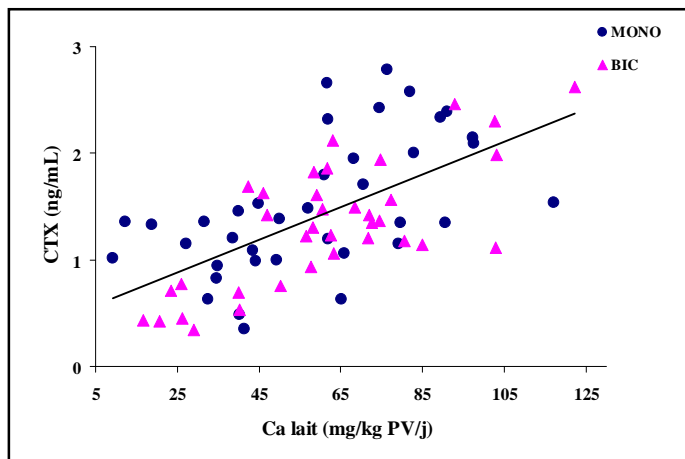
$$\text{CTX} = 0,5(0,14) + 0,02(0,002) \times \text{Plait}$$

$n=74 \quad R^2=0,4 \quad \text{rsd}=0,48$

Figure 38. Relation globale entre les cross links plasmatiques du collagène de type I (CTX) et l'excrétion de phosphore dans le lait (Plait) au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)

Cross links en réponse à l'élimination de calcium dans le lait

Les concentrations plasmatiques de CTX ont aussi été associées ($p < 0,001$) à la perte de Ca dans le lait (Figure 39).



$$\text{CTX} = 0,36(0,17) + 0,02(0,003) \times \text{Plait}$$

$n=74 \quad R^2=0,37 \quad \text{rsd}=0,49$

Figure 39. Relation globale entre les cross links plasmatiques du collagène de type I (CTX) et l'élimination de calcium dans le lait (Plait) au cours de la lactation, chez des chèvres laitières alimentées avec du phosphate soluble (MONO) ou insoluble (BIC)

3.4 DISCUSSION

3.4.1 Matière Sèche Ingérée (MSI) et Production Laitière Brute (PLB)

L'absence de différence significative entre traitements peut sembler contradictoire avec l'étude sur le rumen qui a montré un effet positif de la solubilité dans l'eau du phosphate sur l'ingestion de MS. Il faut souligner que la durée des expériences a été très différente, pendant la première expérience les animaux ont reçu les rations expérimentales pendant 4 semaines (deux semaines d'adaptation et deux semaines de prélèvements) alors que pendant la deuxième expérience, les chèvres ont été alimentées pendant 51 semaines (dont deux semaines d'adaptation). Il est possible que les bactéries ruminales se soient adaptées sur le plus long terme à la différence de solubilisation des phosphates dans le rumen en limitant ainsi un effet sur la MSI.

Les faibles ingestions enregistrées à DEB et à FIN ont probablement des origines différentes. En début de lactation la capacité d'ingestion est limitée par le volume du rumen. L'ingestion de MS à DEB a néanmoins augmenté de façon importante par rapport à celle des trois dernières semaines de gestation ($20,76 \pm 0,95$ mg/kg de PV/j). La capacité d'ingestion augmente lentement pour atteindre son maximum entre la 5^{ème} et la 8^{ème} semaine de lactation. Le bilan énergétique négatif pendant cette période, entraîne la mobilisation des réserves corporelles qui n'est pas favorable à la reprise de l'ingestion (Morand-Fehr et Sauvant, 1988). En fin de lactation la faible production laitière associée à des besoins nutritionnels réduits correspond à une valeur inférieure de MSI comparée à la pleine lactation.

Valk et Šebek (1999) rapportent, sur un relatif long terme (deux lactations), une réduction de la production laitière chez la vache en réponse à la diminution de la MSI due aux faibles apports alimentaires de P (67% de l'apport recommandé). Dans notre essai, la production de lait a été positivement liée à la MSI et affectée par le stade de lactation. Nous retrouvons l'évolution classique de la lactation (Figure 19).

3.4.2 Composition du Lait

La solubilité de la source de P alimentaire n'a pas modifié la composition physico-chimique du lait. Chez la vache laitière la composition du lait n'est affectée ni par le niveau de P alimentaire lorsqu'il satisfait les besoins des animaux (0,37 ou 0,57% de la MS, Lopez *et al.*, 2004) ni par la source de P soit inorganique (mono- et bicalcique) ou organique (son de blé) (Knowlton *et al.*, 2001). La composition du lait dépend de plusieurs facteurs comme l'élevage, la race, l'alimentation, le climat et le stade de lactation. Les variations de composition du lait sont à attribuer principalement ici au stade de lactation. Les solides totaux, les taux butyreux et protéique ont montré une évolution similaire à celle observée par Guo *et al.* (2001) qui ont étudié la variation saisonnière de la composition chimique du lait de chèvre de collecte.

Les concentrations en phosphore et calcium du lait sont en accord avec valeurs moyennes généralement reportées (0,97 g de P et 1,26 g de Ca par litre, Guéguen, 1997), elles sont relativement constantes et peu influencées par le type d'alimentation (Guéguen, 1997, McDowell, 2003). La concentration en minéraux du lait a montré une évolution classique durant le cycle de lactation, les laits les plus riches en P et Ca sont ceux des premiers stades de lactation (PIC et DEB), puis les teneurs en minéraux diminuent en pleine lactation et augmentent vers la fin de la lactation (Guéguen, 1997). La relation entre les concentrations en P du lait et le taux protéique pourrait trouver une explication dans le fait que, environ 25% du phosphore du lait sont présents sous forme de phosphate de caséine (Barry, 1951) Le rapport Ca : P suit une évolution similaire à celles de P et Ca. En début de lactation, la mobilisation des éléments minéraux est vitale pour maintenir la calcémie et la phosphatémie dans des limites physiologiques face à la forte excrétion minérale dans le lait. Cette mobilisation expliquerait partiellement la teneur en Ca du lait légèrement plus élevée que celle en P à PIC et DEB. Cependant, avec le développement de la lactation, les minéraux provenant de l'os contribuent à un moindre degré à l'équilibre phosphocalcique du sang et à l'exportation dans le lait comme l'indiquent la diminution de la concentration en cross links du collagène dans le sang du lait alors que l'absorption intestinale y participe de façon plus importante en accord avec l'évolution de l'utilisation métabolique de P. L'évolution des cross links au cours de la lactation est similaire à celle observé par Liesegang *et al.* (2006, 2007).

Cellules somatiques

Chez la chèvre laitière, le système de sécrétion lactée est de type apocryne, d'importantes quantités de cellules épithéliales peuvent être observées dans le lait. Zeng et Escobar (1995) et Wilson *et al.* (1995) mentionnent l'effet direct du stade de lactation sur les taux cellulaires chez des chèvres sans problèmes inflammatoires de la mamelle, les taux sont plus élevés aux stades avancés de la lactation comme nous l'avons observé dans des conditions sanitaires comparables.

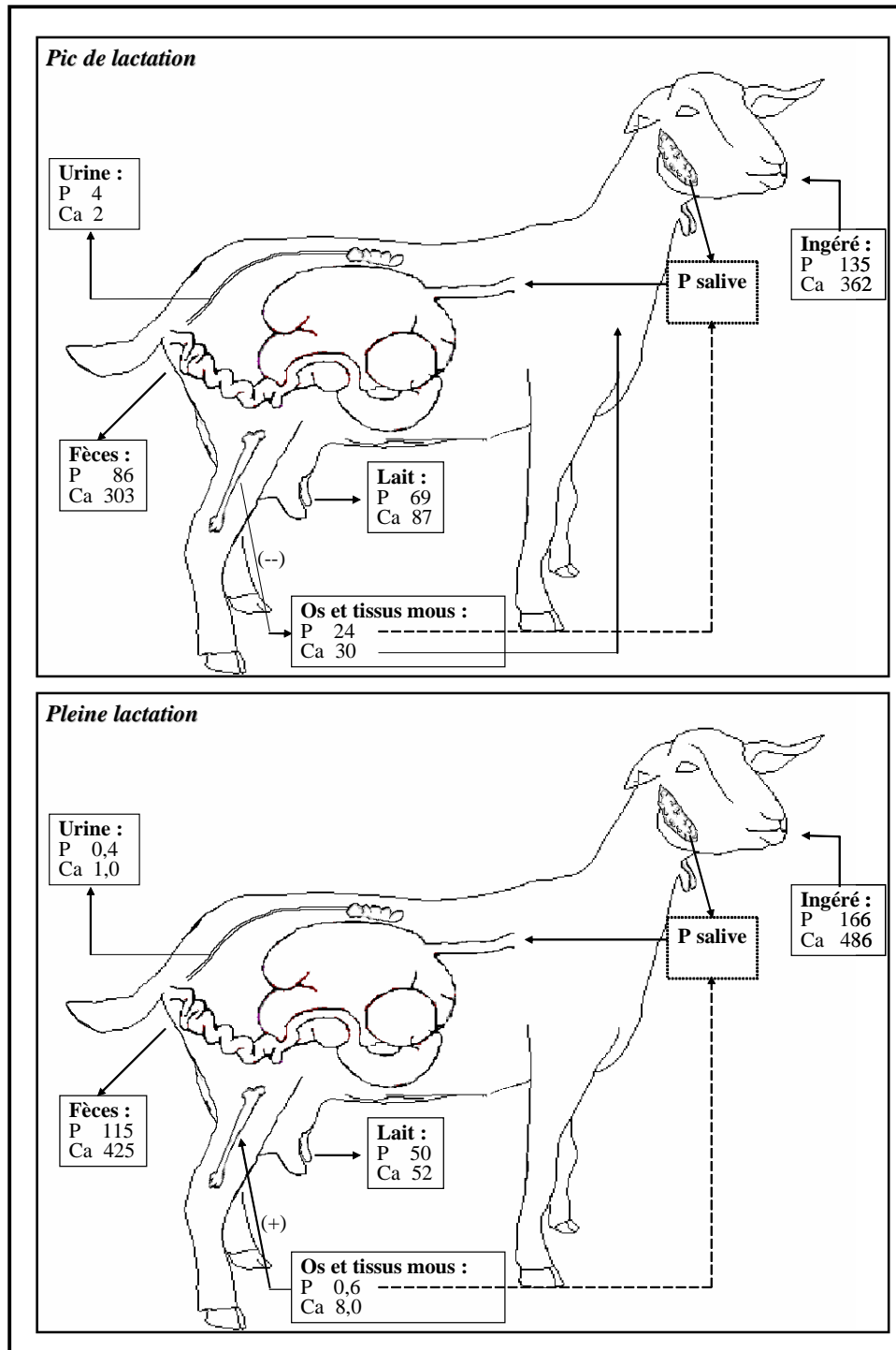
3.4.3 Digestibilité Apparente des Rations

L'absence d'effet de la solubilité de l'apport alimentaire du phosphore sur la digestibilité des différentes fractions de la MS est probablement en accord avec l'hypothèse d'adaptation des bactéries puisque nous avons enregistré dans l'essai précédent une augmentation des VFA et de l'acétate que l'on peut considérer comme des indicateurs de la dégradation des structures pariétales. Nous n'expliquons pas la tendance à la supériorité du phosphate bicalcique pour la digestibilité de NDF.

Les variations de digestibilité sont principalement attribuées aux adaptations de l'organisme en réponse à la lactation. Après la mise-bas, l'augmentation progressive de la MSI est accompagnée dans le même sens par celle du contenu du système digestif. En fin de lactation, la MSI diminue et la dMS, dMO et dNDF augmentent probablement par un accroissement du temps de rétention comme cela a été rapporté chez la vache (ARC, 1980) et la brebis laitière (Molina *et al.*, 2001).

3.4.4 Bilans Minéraux

La Figure 40 rappelle l'ensemble des résultats des bilans de P et Ca aux différents stades de lactation.



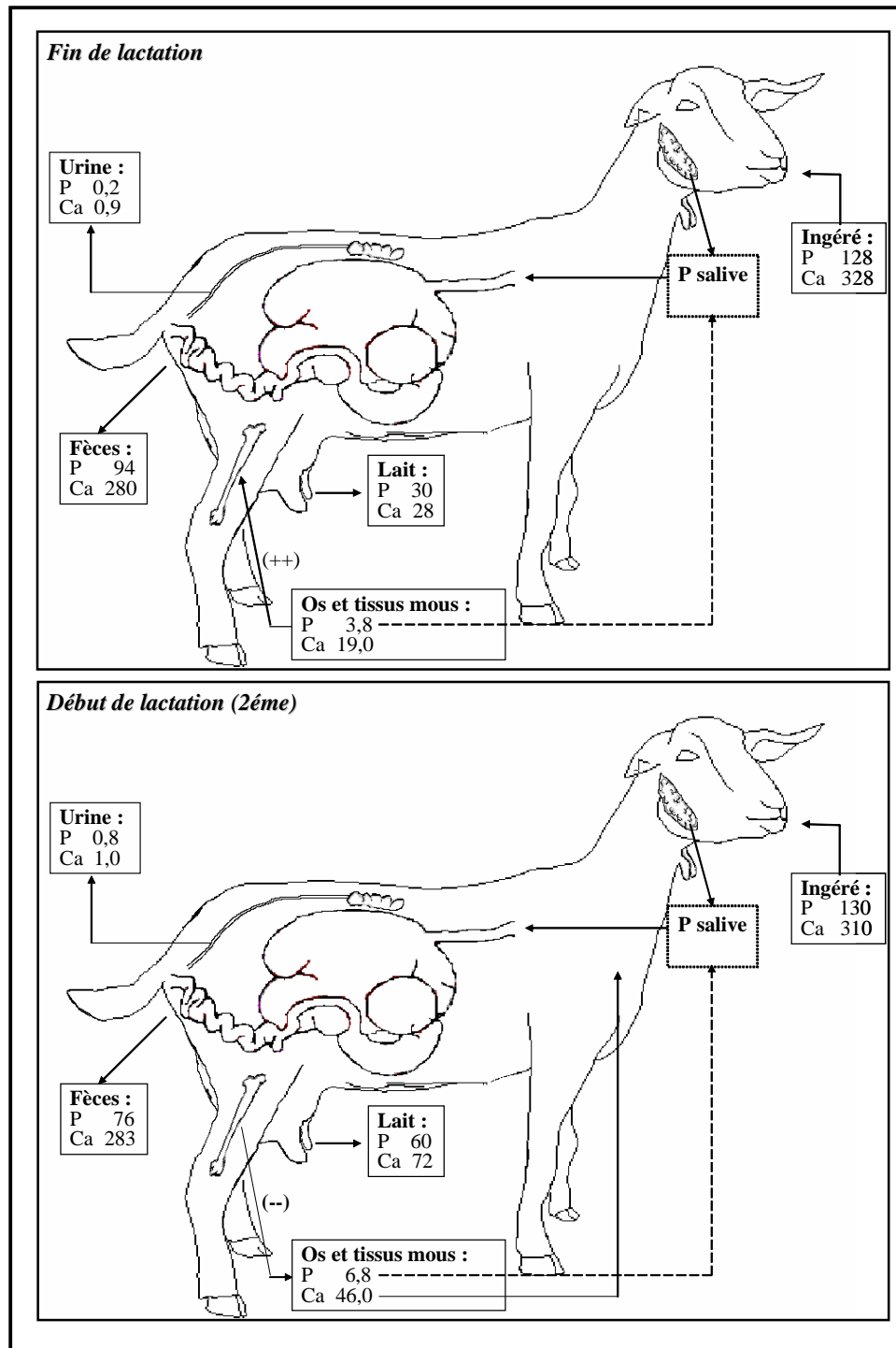


Figure 40. Bilans du phosphore (P) et calcium (Ca) au cours de la lactation, chez la chèvre laitière.

Contrairement à ce que l'on peut observer chez les espèces monogastriques (Jongbloed *et al.*, 2002) cette étude confirme l'absence de différence d'utilisation digestive entre phosphates mono et bicalcique déjà mentionnée dans la littérature (Guéguen et Durand, 1976, Hemingway et McLaughlin, 1979, Meschy *et al.*, 2000). La valeur moyenne du CAA est

légèrement supérieure à celle de la bibliographie (environ 30 %) mais s'inscrit dans la plage de variation des valeurs publiées (de 25 % environ pour Guéguen et Bouchet, 1980 à 40% pour Tillman et Brethour, 1958).

Pour l'ensemble de la période expérimentale, 800 à 900 g de P sont perdus dans le lait, ce qui représente environ une fois et demie la totalité des réserves de P de l'organisme. La rétention de P est déterminée par l'évolution de la production laitière. La très forte demande de P observée aux premiers stades de lactation (DEB et PIC) conduit à une rétention négative et indique une contribution du tissu osseux à l'exportation de P dans le lait (Braithwaite, 1983). Les concentrations sanguines élevées de P et de CTX (négativement corrélée à la rétention) à ces stades supportent cette hypothèse. Pour la rétention la plus négative (PIC), l'excrétion urinaire de P augmente fortement, ce qui est cohérent avec l'augmentation de la phosphorémie (Bravo *et al.*, 2003) résultant de la mobilisation des réserves minérales osseuses. La reconstitution des réserves minérales osseuses (rétention positive) commence à partir de la pleine lactation où les rétentions sont d'autant plus positives que la production laitière décroît ; elle se poursuit pendant le tarissement (en moyenne 19,0 mg de P/kg PV par jour, résultats non présentés). Sur la base de ces données nous avons estimé grossièrement le bilan mobilisation/accréation osseuse de P sur l'ensemble du cycle de production qui est très légèrement négatif (Tableau 15). Selon cette estimation, la rétention globale de P présente un déficit d'environ 6% des réserves totales de P. La rétention globale de Ca et les proportions Ca : P retenues seront discutées avec les résultats de Ca.

Tableau 15. Estimation de la rétention globale pendant le cycle productif chez la chèvre laitière.

	LACTATION	GESTATION*	Rétention globale (g/animal**)
Durée de la période (semaines)	43	11	
Rétention de P (g/animal)	-138	103	-35
Rétention de Ca (g/animal)	-207	276	+69
Rapport Ca : P	1,5	2,8	3,0

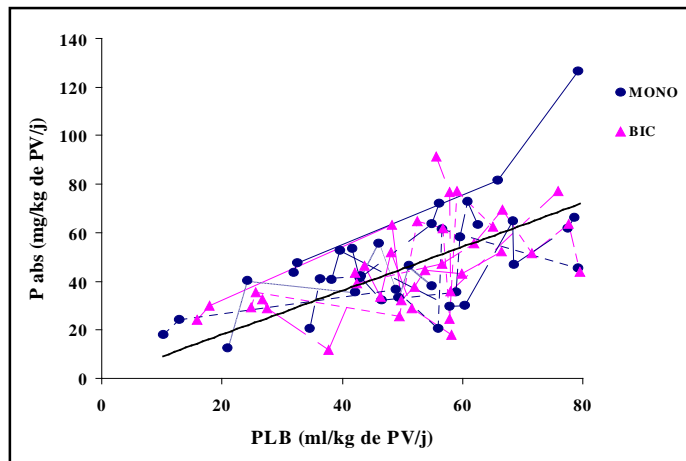
*résultats non présentés

** animal=69kg de PV

Bravo *et al.* (2003) ont observé chez des moutons alimentés avec du phosphate bicalcique des concentrations plasmatiques en P plus faibles (50 mg/L) par rapport à ceux alimentés avec du tourteau de colza (53 mg/L). Le phosphore du tourteau est solubilisé dans le rumen tandis que le phosphate bicalcique est solubilisé dans la caillette. Le phosphore bactérien serait mieux utilisé par l'animal. Chez nos chèvres, le groupe MONO a présenté les concentrations plasmatiques de P et de CTX plus élevées. La différence entre groupes a été de 10 mg de P/L, ce qui suggère une contribution osseuse à la phosphorémie élevée au cours des bilans digestifs, et la tendance pendant toute la période expérimentale. L'utilisation de P incorporé aux bactéries du rumen (Bravo *et al.*, 2003) nous semble possible. Nous avons observé à 90 minutes après le repas des teneurs en P plus élevés dans les bactéries associées aux liquides du groupe MONO (Expérience I).

Nous retrouvons chez la chèvre en lactation la relation entre P ingéré et P absorbé décrite chez la vache laitière (Wu *et al.*, 2000, Knowlton et Herbein, 2002, Dou *et al.*, 2003) qui semble indiquer une composante passive de l'utilisation de P chez le ruminant. L'absorption active augmente avec des apports alimentaires faibles (Care *et al.*, 1980) ce qui n'a pas été le cas dans notre étude. Cette relation est plus forte et robuste en début de lactation (R^2 de 0,7 et 0,5 respectivement pour DEB et PIC) que pour les stades suivants ($R^2=0,35$) ce qui pourrait indiquer une véritable adaptation digestive à la forte demande métabolique de P en début de lactation. L'augmentation du coefficient d'absorption apparente observé à DEB et PIC résulte de l'accroissement de l'absorption apparente de P.

Nous retrouvons une tendance similaire entre le CAA et la production laitière, principale composante du besoin en P ($CAA \% = 21,1 + 0,26 PLB (mL/kg PV, p<0,001, R^2=0,49)$). Cette relation prend bien sûr en compte l'effet du stade de lactation, mais l'étude des données individuelles (Figure 41) montre que les animaux les plus productifs sont ceux qui s'adaptent le mieux à la forte demande minérale, comme cela a été rapporté pour le calcium chez la vache laitière en début de lactation (Vant'Klooster, 1976). Il est à souligner que l'adaptation digestive intervient, chez la chèvre, dès le début de la lactation, contrairement aux observations de Braithwaite (1983) chez la brebis où l'augmentation de l'efficacité de l'absorption intestinale n'est enregistrée que vers la mi-lactation. Il est vrai que la perte totale de P dans le lait est sensiblement plus faible chez la brebis.



$$P_{abs} = 0,9(0,04) \times PLB$$

$$n=74 \quad R^2=0,3 \quad rsd=16,56$$

Figure 41. Relation entre le phosphore apparemment absorbé (P_{abs}) et la production laitière (PLB), chez des chèvres en lactation.

La solubilité des phosphates dans le contenu intestinal est un des facteurs qui conditionnent leur absorption (Barlet *et al.*, 1995 ; McDowell, 2003). Chez les ruminants, les différentes formes de P peuvent être utilisées puisqu'elles peuvent être solubilisées soit dans le rumen (phosphates solubles), soit dans la caillette (phosphates insolubles), ce qui contribue à expliquer l'absence de différence d'utilisation digestive pour les phosphates de bonne valeur nutritionnelle. Dans cette étude, une pré-solubilisation de P du phosphate bicalcique à l'auge a été observée, elle est attribuée au pH de la ration influencé par l'ensilage de pulpe de betteraves. La très forte relation entre l'ingestion de P_{sol} et son absorption ne peut pas être généralisée, puisque, selon le type de ration utilisé, l'absorption apparente de P_{sol} est variable (Kebreab *et al.*, 2005) dans la mesure où l'accroissement du phosphore salivaire des rations grossières n'est pas comptabilisé dans l'ingéré.

Les fractions de P alimentaire qui ne peuvent pas être utilisées sont excrétées par la voie fécale (première fraction de P fécal, Spiekens *et al.*, 1993). La relation entre $P_{ins\ fec}$ - P_{ing} [$P_{ins\ fec}(mg/kgPV/j) = 0,57(0,01) \times P_{ing}(mg/kgPV/j)$; $n=74$; $R^2=0,53$; $rsd=16,37$] supporte cette affirmation. Le phosphore fécal contient une fraction d'origine bactérienne, entre 75% (Rodehutsord *et al.*, 2000) et 50% (Conrad, 1999 cité par Pfeffer *et al.*, 2006), qui peut être modifiée par l'alimentation. Le phosphore fécal d'origine bactérienne a été estimé à 32,8 mg/kg de PV/j \pm 0,75 [$P_{fec\ bact}(mg/j) = 0,0037 \times MS\ fécale\ (g/d)$, Conrad, 1999 cité par Wu *et al.*, 2000]. Le phosphore insoluble fécal a montré une relation positive avec le $P_{fec\ bact}$ estimé [$P_{ins\ fec}(mg/kg\ PV/j) = 2,43(0,07) \times P_{fec\ bact}(mg/kgPV/j)$].

La faible variabilité du coefficient d'absorption apparente de Psol est expliquée principalement par l'absorption stable de Psol. La faible excrétion fécale de Psol semble en contradiction avec des travaux qui rapportent cette fraction comme étant la principale de P fécal (Dou *et al.*, 2002 ; Chapuis-Lardy *et al.*, 2004) ; là encore, la composante salivaire de l'excrétion fécale, qui peut être modifiée par l'alimentation, explique probablement ces divergences. D'autre part, cette fraction est considérée comme la plus agressive en termes de pollution des eaux de surface. Dans notre hypothèse, la quantité de P régulée représente surtout le P salivaire non réabsorbé (troisième fraction, Spiekers *et al.*, 1993), et une partie soluble de la perte inévitable en P (deuxième fraction, Spiekers *et al.*, 1993). Un excès en P alimentaire augmenterait le P salivaire non réabsorbé. Dans cette étude, les quantités de P alimentaire n'ont pas varié de façon importante, les caractéristiques des rations utilisées pendant la période expérimentale ont été similaires et l'excrétion fécale de Psol a été peu variable (15-18%). Ces résultats indiquent que nos rations ont satisfait les besoins des animaux d'une part, et d'autre part que notre hypothèse et celle de Dou *et al.* (2002) sont plausibles, cette fraction représente une composante à forte régulation métabolique. Il faut souligner que les méthodes de dosage de Psol dans l'eau peuvent être fort différentes selon les études, la comparaison des résultats doit demeurer prudente.

Kebreab *et al.* (2005) mentionnent la formation possible de phosphates insolubles de Ca ou de magnésium favorisée par le pH alcalin de l'intestin qui pourrait expliquer la relation observée entre en P_{ins fec} et le Ca_{fec}. Les complexes de Ca deviennent solubles si le pH diminue (Chapuis-Lardy *et al.*, 2004). Dans des solutions aqueuses à pH entre 4 et 10 (Figure 42), les formes principales de phosphate inorganique sont le phosphate dihydrogéné monovalent ($H_2PO_4^-$) et le phosphate monohydrogéné bivalent (HPO_4^{2-}) (Biochemistry Dictionary). Le phosphate monovalent ne forme pas de complexes avec le calcium et reste soluble dans l'eau. Même si les fèces ne sont pas une solution aqueuse, leur humidité n'est pas négligeable ($\approx 68\%$). Cette teneur en humidité et la présence de bactéries peuvent favoriser la poursuite de leur fermentation après leur excrétion, ce qui permettrait la solubilisation de certaines formes de phosphates dans les fèces, augmentant leur caractéristique polluante.

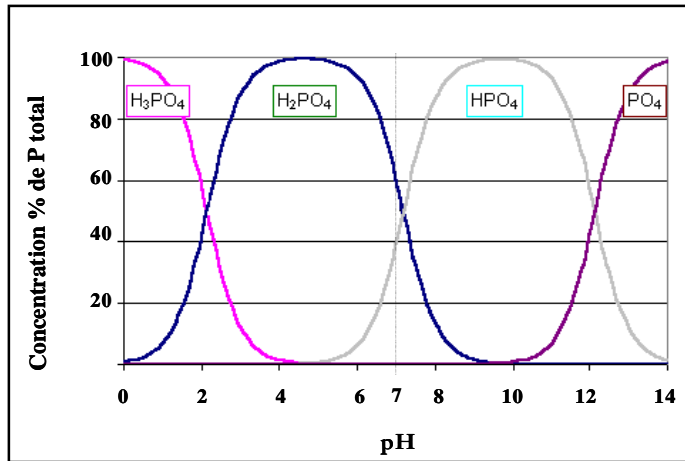


Figure 42. Dissociation des espèces de phosphate dans l'eau face aux changements de pH à 25°C et 1 atm (D'après Vanden Bossche, 1999)

La demande de Ca est multipliée par 3 à 6 (Meschy et Guèguen, 1995) à l'entrée en lactation, elle est satisfaite par le Ca alimentaire et la mobilisation du calcium osseux. Les relations observées entre les rétentions de P et de Ca et l'élimination de Ca dans le lait montrent que le facteur principal qui affecte l'état calcique chez la chèvre en lactation est la perte de Ca dans le lait. Dans cette étude, elle a été entre 950 et 1150 g pendant la période expérimentale, ce qui représente environ 80% de Ca de l'organisme de la chèvre. La forte perte de Ca dans le lait à DEB et PIC a conduit à des bilans fortement négatifs, traduisant la mobilisation des réserves osseuses de Ca, confirmée par les concentrations plasmatiques élevées en CTX et leur relation positive avec la fuite lactée de Ca. Malgré la mobilisation minérale, la concentration plasmatique à DEB a été la plus faible au démarrage de la production laitière, comme c'était rapporté par Goff *et al.* (2002) chez la vache laitière. Nous n'avons pas d'explication à la forte excrétion de Ca urinaire et à la calcémie faible observées à PIC. La relation entre la sécrétion de Ca dans le lait et la rétention de Ca permet de considérer que les animaux sont en bilan positif à partir d'une valeur inférieure à environ 55 mg de Ca/kg de PV par jour, conditions observées à PLAC et FIN, où le Pabs et le Ca abs sont sensiblement supérieurs à leurs sécrétions dans le lait, ce qui représente la possibilité de restaurer les réserves osseuses. Les concentrations plus faibles en CTX plasmatiques supportent cette affirmation. Nous avons estimé la rétention globale positive de Ca pour le cycle de production (Tableau 15) qui représente la reconstitution des réserves osseuses (5% environ du calcium total de l'organisme). La différence entre la rétention globale de Ca et celle de P est expliquée par le CAA de Ca observé à GEST (24%), qui a été le plus important enregistré pendant tout le cycle de production. Tandis que le CAA de P, pour la même période n'a pas été différent de celui de FIN (22%). Les rapports Ca : P observés montrent que le dépôt des deux minéraux

n'est pas exactement 2 : 1. Puisque le squelette stocke uniquement 78% des réserves totales de P et que le 20% restant est déposé dans les tissus mous, il est très probable que tout le P retenu ne soit pas stocké dans l'os. Le NRC (2001) mentionne une accréation Ca : P de 10 : 6.

En considérant que dans l'os, le rapport Ca : P est de 2 : 1, les ratios Ca : P estimés de mobilisation (PIC=1,25 et DEB=6,76) ou d'accréation (PLAC=13,3 et FIN=5) suggèrent la possibilité d'une contribution importante des tissus mous associée à l'apport osseux pour maintenir l'équilibre de P. Les contributions en P seraient recyclées par la salive qui peut représenter jusqu'à 50% du P qui arrive au rumen (Figure 40).

Dans cet essai, l'absorption de Ca particulièrement faible peut être attribuée à l'apport majoritaire de Ca (59%) de la ration par la pulpe des betteraves et le foin de luzerne dont le calcium n'est pas très disponible (Meschy et Corrias, 2005). La variabilité de l'efficacité de l'absorption de Ca a été différente de celle de P. Pendant PIC, PLAC et FIN, l'absorption de Ca semble mieux contrôlée puisque la variation a seulement été de 3 points de pourcentage. Le calcium est absorbé dans le duodénum par un système de transport actif dépendant de la vitamine D₃ ou par un transport paracellulaire passif dans le jéjunum et l'iléon (Bronner et Pansu, 1999). L'absorption la plus faible a été observée à DEB, accompagnée de valeurs basses de la calcémie associées à des phosphorémies élevées. Les concentrations plasmatiques élevées de P, inhibent l'effet de l'hydroxylase de la 25 hydroxyvitamine D au niveau rénal (Kichura *et al.*, 1982). Le CAA de Ca n'est pas en relation avec le Ca lait, ce qui souligne la possibilité que la sécrétion de Ca dans le lait soit sujet d'autres types de contrôle.

3.5 CONCLUSIONS

Dans le cadre de nos conditions expérimentales où 69% de P de la ration ont été apportés par des phosphates inorganiques sous la forme soluble ou insoluble dans l'eau, l'utilisation digestive apparente n'est pas affectée par la solubilité de P. Cependant, les différences sur la phosphorémie et les cross links observées chez les animaux alimentés avec le phosphate monocalcique, suggèrent des différences dans l'utilisation métabolique des phosphates pendant la lactation. Une forte mobilisation des minéraux osseux est observée aux premiers stades de lactation, elle semble être régulée principalement par le métabolisme de Ca qui est affecté par la forte perte de calcium due à la production laitière. L'adaptation digestive pour l'absorption de P chez la chèvre laitière est plus rapide que chez la brebis, et commence dès le début de la lactation. L'excrétion fécale du phosphore soluble dans l'eau est favorisée par la solubilité de la source de P alimentaire. Cependant, d'autres facteurs de la ration (teneur en P, fibrosité, taille des particules), peuvent affecter de façon plus importante l'excrétion de P soluble fécal qui est considéré comme la fraction la plus polluante de P fécal.

Chapitre 4

DISCUSSION GÉNÉRALE

DISCUSSION

Les travaux réalisés pour étudier l'effet de P sur la cellulolyse (Burroughs *et al.*, 1951 ; Anderson *et al.*, 1956), la disponibilité des différentes formes chimiques de P pour les bactéries ruminales (Anderson *et al.*, 1956 ; Hall *et al.*, 1961 ; Chicco *et al.*, 1965 ; Vitti *et al.*, 1988 ; Martinez de Acurero *et al.*, 1993), de même que pour déterminer le besoin en P des bactéries ruminales (Komisarczuk, 1985), et la disponibilité de P alimentaire pour l'écosystème ruminal (Konishi *et al.*, 1999 ; Park *et al.*, 2000 ; Bravo *et al.*, 2000) ont été réalisés en *in vitro* ou en sachet de nylon. Le premier travail répond à la question qui se posait : Est-ce qu'*in vivo*, la différence de solubilité dans l'eau de P a un impact sur l'activité bactérienne ?

Par ailleurs, des incertitudes subsistent sur l'utilisation de P provenant de sources inorganiques de bonne qualité. Est-ce que la différence de solubilité dans l'eau de P affecte l'utilisation digestive et métabolique de P ? La deuxième étude traite de cette question.

Dans nos essais, la majorité de P alimentaire (69 à 71%) a été apportée par des sources inorganiques (phosphates monocalcique et bicalcique), conditions considérées extrêmes, puisque dans les élevages, le P inorganique représente une moindre proportion de P total de la ration. Le modèle animal a été la chèvre laitière qui pendant son cycle de production présente des ajustements physiologiques en réponse à la lactation et à la gestation (données non rapportées), aux stades physiologiques et où la demande en nutriments et la mobilisation des réserves corporelles sont particulièrement importantes.

L'ingestion de MS a été mesurée dans les deux essais. Les résultats semblent contradictoires, puisque dans l'étude I, un effet positif du phosphate monocalcique sur la MSI a été observé, et que cet effet n'a pas été retrouvé dans l'étude II. L'effet de P sur l'ingestion de MS est bien documenté (Ternouth et Sevilla, 1990 ; Bortolussi *et al.*, 1996 ; Underwood et Suttle, 1999 ; Valk et Šebek, 1999). Il est attribué à l'activité des bactéries ruminales et en conséquence à la digestibilité de la MS. Mais, un effet sur le métabolisme intra cellulaire de l'hôte (Bortolussi *et al.*, 1996) doit être considéré vis-à-vis du rôle de P dans le métabolisme énergétique. Dans les cas de carence en P, la diminution de la MSI n'est observée qu'à partir de 7 semaines (Bortolussi *et al.*, 1996). Dans ces essais, l'effet de la solubilité de P sur la MSI

observé à court terme (4 semaines, étude I) a été due à un effet positif sur les bactéries du rumen, puisque les résultats de cinétiques du phosphore disponible dans le rumen, teneur en P de LAB et les cinétiques des VFA ont été plus marqués chez les animaux du lot MONO. L'effet sur la MSI n'est pas retrouvé à long terme (51 semaines, étude II), cette différence peut être expliquée par une possible adaptation des bactéries à la différence de la solubilisation de P en évitant l'effet sur la MSI. En plus, le contrôle de l'ingestion de MS à long terme implique d'autres mécanismes que le P (Faverdin, 1999 ; Ingvarsten et Andersen, 2000). Durand *et al.* (1982) mentionnent que le phosphate bicalcique est pratiquement insoluble dans le rumen, Vitti *et al.* (1988) montrent *in vitro* en utilisant ^{32}P la capacité des bactéries à utiliser le P du phosphate bicalcique. Existe-t-il la possibilité de la solubilisation de P bicalcique dans le rumen ? Avec les données originales une association entre le P disponible au temps 180 et le pH dans la plage de 5,3 et 6,6 a été observée [$\text{PDg/L}=3,7-0,53(\text{pH})$; $n=32$; $R^2=0,6$; $\text{rsd}=0,15$] ; ainsi, la diminution de P disponible en réponse à l'augmentation de pH montre le passage de la forme dihydrogénée (H_2PO_4^-) vers la monohydrogénée (HPO_4^{2-}), qui peut se complexer avec Ca (Pfeffer *et al.*, 2006) et devenir insoluble. Ces changements d'états d'hydrogénation associés au pH pourraient favoriser la solubilisation de P bicalcique dans le rumen en évitant l'effet négatif sur la MSI à long terme.

Bennink *et al.* (1978) rapportent des variations postprandiales de la teneur en P du liquide ruminal qui dépendent de la ration. L'étude I apporte les premières données sur les taux fractionnaires de disparition de P dans le rumen. La disparition de P disponible du liquide ruminal est favorisée par des concentrations initiales élevées en P disponible. Au temps 90, la concentration de P dans le rumen tend à se stabiliser. Ce comportement pose une nouvelle question, la disparition de P du liquide ruminal obéit-elle à la loi d'action de masse ? Pour répondre à cette question, des recherches complémentaires sont nécessaires. La contribution de P d'origine salivaire au pool de P dans le rumen pourrait être importante puisque chez des chèvres proches du pic de lactation, une forte mobilisation des minéraux osseux recyclés par la salive est attendue.

Komisarczuk *et al.*, (1987) ont montré *in vitro* que la carence en P (0 mg de P/L de milieu), diminue la proportion d'azote bactérien incorporé directement à partir des acides aminés ou des peptides alimentaires ; elle est plus importante chez les SAB que chez les LAB. Cela suggère que les SAB ont utilisé préférentiellement le P alimentaire. Dans cette étude, les SAB

ont montré moins de variations de leur teneur en P, tandis que chez les LAB, l'effet de la solubilité a été observé principalement pendant les premières minutes après le repas. Ainsi, les SAB utilisent l'azote (Komisarczuk *et al.*, 1987) mais aussi P alimentaires. Ce fait permet d'envisager une capacité des bactéries (notamment SAB) de s'adapter aux variations de P dans le milieu ruminal. La relation observée chez SAB entre la différence de la teneur en P aux premières minutes après le repas et leur teneur initiale supporte cette hypothèse d'adaptation. Komisarczuk *et al.* (1987) montrent que les effets de la carence en P (0 mg/L de milieu) est réversible avec l'addition de P dans le milieu (120 mg/L). Ils suggèrent la sélection des populations à moindres besoins de P. Ce travail est le premier où les variations postprandiales *in vivo* de P des bactéries associées à la phase liquide et solide ont été étudiées.

L'effet de la solubilité de P sur l'activité fermentaire des bactéries (représenté par les cinétiques des VFA) a été mesuré. Dans le modèle à un compartiment, le phosphate insoluble dans l'eau a favorisé l'entrée mais aussi les sorties des VFA. Sauf C3 et C4, les ratios formation : disparition ont été plus faibles par rapport à ceux du phosphate soluble. Ces résultats confirment l'effet positif des sources solubles dans l'eau sur la cellulolyse observé *in vitro* par Martinez de Acurero *et al.* (1993).

Les différentes relations établies entre les variables étudiées permettent de conclure que les cinétiques des VFA, le P du liquide ruminal de même que le P des SAB et LAB sont étroitement reliés.

Chez les ruminants, les utilisations digestive et métabolique des phosphates monocalcique et bicalcique ne sont pas différentes (Guèguen et Durand, 1976 ; Hemingway et McLaughlin, 1979), mais des incertitudes subsistent (Meschy *et al.*, 2000) notamment chez la chèvre en lactation. Nos résultats des variables zootechniques, digestibilité et bilan de Ca et P totaux confirment l'absence de différence entre les deux sources avec un CAA de 33%. Witt et Owens (1983) mentionnent que la disponibilité de P dans le rumen peut être moins importante que sa disponibilité dans le tractus digestif total pour déterminer l'efficacité de P alimentaire pour les ruminants. Ce fait implique que les réserves de P des tissus peuvent être mobilisées avant que la digestibilité des nutriments soit réduite. Un tel mécanisme doit permettre à l'animal de s'adapter aux périodes de carence en P. Des résultats des variables associées à l'homéostasie de P posent la question sur des différences d'utilisation métabolique. Puisque l'excrétion urinaire de P, P plasmatique, et les concentrations en CTX ont été affectées par la

source de P. Le lot MONO présente les concentrations en CTX les plus élevées, ce qui indique une résorption osseuse plus importante, donc des concentrations plasmatiques en P plus élevées, qui augmentent son excrétion urinaire. En général, le plasma est considéré comme un indicateur de l'apport alimentaire de P très influencé par P de la ration, mais d'autres facteurs (âge, production laitière, gestation, saison et race) peuvent modifier les concentrations plasmatiques en P (Georgievskii, 1982). Dans cette étude, le P plasmatique pourrait être le reflet de la résorption osseuse suggéré par les concentrations en CTX. Si les concentrations sanguines en P augmentent, l'excrétion urinaire de P devient significative (Georgievskii, 1982). Des différences pour P ont été observées, mais pas pour Ca qui est sous un fort contrôle endocrine.

L'effet de la période de lactation a été observé sur toutes les variables étudiées, indiquant que chez la femelle en lactation, la production laitière est la principale responsable des modifications du métabolisme (Goff *et al.*, 2002). Des différences importantes par rapport au métabolisme de la brebis et de la vache laitière ont été observées. Principalement les modifications des CAA qui montrent une adaptabilité plus précoce de la chèvre (au début de lactation) à la demande forte de P. Tandis que chez la brebis, cette adaptabilité est observée à la deuxième moitié de la lactation (Braithwaite, 1983), chez la vache laitière cette adaptation est progressive vers la fin de lactation (Ekelund, 2003). A travers les différentes lois générales de réponse, l'effet de la sécrétion de Ca dans le lait et son influence sur l'utilisation digestive et métabolique de P a été souligné.

Les marqueurs de résorption osseuse se sont révélés bien associés à la sécrétion des minéraux (P et Ca) par le lait. Holtenius et Ekelund (2005) proposent que la variabilité de la production d'estrogènes et non le flux calcique dans le lait soit le principal facteur régulateur de la dynamique osseuse chez la vache laitière.

Chapitre 5

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION

Ces études ont montré que la solubilité de P (71% de P total de la ration) affecte l'activité fermentaire du rumen, mais pas l'utilisation digestive et métabolique. Cependant, les résultats obtenus avec les marqueurs de la résorption osseuse suggèrent une possible différence de l'utilisation métabolique des sources de P inorganique de bonne qualité. La différence de solubilité de P de la source alimentaire dans le rumen peut provoquer des stades transitoires de carence en P chez les bactéries, principalement celles qui sont associées à la phase liquide. L'effet de la solubilité de P sur l'activité fermentaire du rumen a été observé sur l'ajustement en cinétiques des concentrations des VFA. Cette étude est la première où le taux fractionnaire de disparition de P du liquide ruminal est rapporté, de même que l'évolution postprandiale *in vivo* des concentrations en P des populations bactériennes.

La contribution du recyclage salivaire de P à l'apport alimentaire est encore imprécise et mériterait d'être précisée pour une meilleure connaissance du métabolisme de cet élément chez le ruminant. Le cycle de mobilisation - restauration osseuse qui semble être sous le contrôle du métabolisme de Ca entraîne des variations des flux de P. Nos résultats suggèrent que l'étude de l'alimentation phosphorée qui consiste à moduler les apports du minéral, et éventuellement de Ca, par rapport aux besoins stricts selon les stades physiologiques (et la capacité d'absorption correspondante) devrait être approfondie chez la chèvre qui a montré une adaptation digestive plus rapide que la brebis ou la vache face à la demande en minéraux pour la production laitière.

6. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références

- Agricultural and Food Research Council (ARC). (1991) Technical committee on responses to nutrients, report 6. A reappraisal of the calcium and phosphorus requirements of sheep and cattle. *Nutr. Abstr. Rev (series B)* 61, 573-612.
- Agricultural Research Council (1980) The nutrient requirements of ruminant livestock. Commonwealth Agricultural Bureaux. England.
- Anderson R., Cheng E., Burroughs W. (1956) A laboratory technique for measuring phosphorus availability of feed supplements fed to ruminants. *J. Anim. Sci.* 15, 489-495.
- Association of Official Analytical Chemists International (2000) Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th edition, Gaithersburg, MD, USA., Official Method 965.17
- Barlet J.P., Theriez M., Molenat G. (1973) L'urolithiase ovine. Effets d'un phosphonate de sodium et du chlorure d'ammonium. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 13, 627-641.
- Barlet J.P., Davicco M.J., Coxam V. (1995) Physiology of intestinal absorption of phosphorus in animals. *Reprod. Nutr Dev.* 35, 475-489.
- Barry J.M. (1951) The source of lysine, tyrosine, and phosphorus for casein synthesis. *J. Biol. Chem.* 795-803.
- Beardsworth, L.J., Beardsworth, P.M., Care, A.D., 1989. The effect of ruminal phosphate concentration on the absorption of calcium, phosphorus and magnesium from the reticulo-rumen of the sheep. *Br. J. Nutr.* 61, 715-723.
- Beaumatin P. (1981) Influence du phosphore alimentaire sur la digestion et la protéosynthèse microbiennes dans le rumen du mouton. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse.
- Bennink M.R., Tyler T.R., Ward G.M., Johnson D.E. (1978) Ionic milieu of bovine and ovine rumen as affected by diet. *J. Dairy Sci.* 61, 315-323.
- Biochemistry Dictionary. [<http://guweb2.gonzaga.edu/faculty/cronk/biochem/P-index.cfm>, consulté le 13 septembre 2006].
- Bortolussi G., Ternouth J.H., McMeniman N.P. (1996) Dietary nitrogen and phosphorus depletion in cattle and their effects on liveweight gain, blood metabolite concentrations and phosphorus kinetics. *J. Agr. Sci. Camb.* 126, 493-501.
- Braithwaite G.D. (1983) Calcium and phosphorus requirements of the ewe during pregnancy and lactation. 2. Phosphorus. *Br. J. Nutr.* 50, 723-736.
- Bravo D., Bogaert C., Meschy F., Sauvant D. (2003) Plasma phosphorus content and dietary phosphorus availability in adult sheep. *Anim. Res.* 52, 427-435.
- Bravo D., Meschy F., Bogaert C., Sauvant D. (2000) Ruminal phosphorus availability from several feedstuffs measured by the nylon bag technique. *Reprod. Nutr. Dev.* 40, 149-162.
- Bravo D., Sauvant D., Bogaert C., Meschy F. (2003) III. Quantitative aspects of phosphorus excretion in ruminants. *Reprod. Nutr. Dev.* 43, 285-300.

- Bravo, (2003) Contrôle nutritionnel des flux de phosphore chez le ruminant. Thèse de Doctorat, Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris.
- Breves G., Holler H., Packeheiser P., Gabel G., Martens H., (1988) Flux of inorganic phosphate across the sheep rumen wall in vivo and in vitro. *Q. J. Exp. Physiol.* 73, 343-351.
- Breves G., Schroeder B. (1991) Comparative aspects of gastro-intestinal phosphorus metabolism. *Nutr. Res. Rev.* 4, 125-140.
- Bronner F., Pansu D., (1999) Nutritional aspects of calcium absorption. *J. Nutr.* 129:9-12
- Broudiscou L.P., Papon Y., Broudiscou A.F. (1998) Effets de la supplémentation minérale sur le métabolisme azoté des micro-organismes du rumen, étude en fermenteur à effluent double. *Renc. Rech. Ruminant.* 5, 249.
- Broudiscou L.P., Papon Y., Broudiscou A.F. (1999) Effects of minerals on feed degradation and protein synthesis by rumen micro-organisms in a dual effluent fermenter. *Reprod. Nutr. Dev.* 39, 255-268.
- Bueno M.S., Ferrari E. Jr., Bianchini D., Leinz. F.F., Rodrigues C.F.C. (2002) Effect of replacing corn with dehydrated citrus pulp in diets of growing kids. *Small Rumin. Res.* 46, 179-185.
- Burroughs W., Latona A., DePaul P., Gerlaugh P., Bethke R.M. (1951) Mineral influences upon urea utilization and cellulose digestion by rumen microorganisms using the artificial rumen technique. *J. Anim. Sci.* 10, 693-705.
- Care A.D. (1994) The absorption of phosphate from the digestive tract of ruminant animals. *Br. Vet. J.* 150, 197-205.
- Care A.D., Barlet J.-P., Abdel-Hafez H.M. (1980). Calcium and phosphate homeostasis in ruminants and its relation relationship to the aetiology and prevention of parturient paresis. En: Y. Ruckebusch et P. Td, editeurs. *Digestive Physiology and metabolism in ruminants*, 429-446. MTP Press, Lancaster, England.
- Carter R.R., Allen O.B., Grovum W.L. (1990) The effect of feeding frequency and meal size on amounts of total and parotid saliva secreted by sheep. *Br. J. Nutr.* 63, 305-318.
- Chapuis-Lardy L., Fiorini J., Toth J., Dou. Z. (2004) Phosphorus concentration and solubility in dairy feces: variability and affecting factors. *J. Dairy Sci.* 87,4334-4341.
- Chicco C.F., Ammerman C.B., Moore, J.E., Van Wallegghem P.A., Arrington L.R., Shirley R.L. (1965) Utilization of inorganic ortho-, meta- and pyrophosphates by lambs and by cellulotic rumen microorganisms in vitro. *J. Anim. Sci.* 24, 355-363.
- Christenson R.H. (1997) Biochemical markers of bone metabolism : an overview. *Clin. Biochem.* 30, 573-593.
- Craig W.M., Brown D.R., Broderick G.A., Ricker D.B. (1987) Post-prandial compositional changes of fluid- and particle-associated ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.* 65, 1042-1048.
- Dehority B.A. (2004) *Rumen microbiology*. Nottingham University Press, Nottingham.
- Dehority B.A., Scott H.W., Kowaluck P. (1967) Volatile fatty acid requirements of cellulolytic rumen bacteria. *J. Bacteriol.* 94, 537-543.

- Dou Z., Knowlton K.F., Kohn R.A., Wu Z., Satter L.D., Zhang G., Toth J.D., Ferguson J.D. (2002) Phosphorus characteristics of dairy feces affected by diets. *J. Environ. Qual.* 31,2058-2065.
- Durand M., Beaumatin P., Dumay C. (1983) Estimation in vitro à l'aide du phosphore radioactif des besoins en phosphore des microorganismes du rumen. *Reprod. Nutr. Dev.* 23, 727-739.
- Durand M., Beaumatin P., Dumay C., Meschy, F., Komisarczuk, S. (1986) Influence de l'addition de phosphore sur la digestion d'une paille traitée à l'ammoniac par les microorganismes du rumen en fermenteur semi-continu. *Reprod. Nutr. Dev.* 26, 297-298.
- Durand M., Bertier B., Hannequart G., Guéguen L. (1982) Influence d'une subcarence en phosphore et d'un excès de calcium alimentaire sur la phosphatémie et les teneurs en phosphore et calcium des contenus de rumen du mouton. *Reprod. Nutr. Dev.* 22, 865-879.
- Durand M., Dumay C., Beaumatin P., Morel M.T. (1988) Use of the rumen simulation technique (RUSITEC) to compare microbial digestion of various by-products. *Anim. Feed Sci. Technol.* 21, 197-204.
- Durand M., Kawashima R. (1980) Influence of the major minerals in rumen microbial digestion. En : Ruckebusch Y., Thivend P. (Eds), *Digestive physiology and metabolism in ruminants*. MTP Press. Lancaster, England, 375-408.
- Durand M., Stevani J., Komisarczuk S. (1987) Effect of some major minerals on rumen microbial metabolism in a semi-continuous fermentor (RUSITEC). *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent.* 52, 1655-1663.
- Ekelund A. (2003) Phosphorus and the dairy cow. Influence of intake level, source and stage of lactation on apparent digestibility and bone turnover. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala
- Ekelund E., Spöndly R., Valk H., Murphy M. (2003) Influence of feeding various phosphorus sources on apparent digestibility of phosphorus in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 109, 95-104.
- Faverdin P. (1999) The effect of nutrients on feed intake in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 58, 523-531.
- Field A.C., Wooliams J.A., Dingwall R.A., Munro C.S. (1984) Animal and dietary variation in the absorption and metabolism of phosphorus by sheep. *J. Agric. Sci.* 103, 283-291
- Fonty G., Forano E., Gaudet G., Komisarczuk S., Gouet Ph. (1988) Données nouvelles sur les bactéries cellulolytiques du rumen. *Reprod. Nutr. Dev.* 28 (Suppl. 1), 19-32.
- Garnero P., Bianchi F., Carlier M.-C., Genty V., Jacob N., Kamel S., Kindermans C., Plouvier E., Pressac M., Souberbielle J.-C. (2000) Biochemical markers of bone turnover: preanalytical variability and recommendations for use. *Ann. Biol. Cli.* 58, 683-704.
- Georgievskii V.I. (1982) The physiological role of macroelements. En: Georgievskii V.I., Annenkov B.N., Samokhin V.T., (Eds), *Mineral Nutrition of Animals*. Butterworths, Great Britain, 91-170.
- GfE (2003). Recommendations for the supply of energie and nutrients to goats. No.9 DLG Verlag. Frankfurt am Main 121 pp.

- Godoy S., Meschy F. (2001) Utilisation of phytate phosphorus by rumen bacteria in a semicontinuous culture system (RUSITEC) in lactating goats fed on different forage to concentrate ratios. *Reprod. Nutr. Dev.* 41, 259-265.
- Goff J.P. (2006) Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126, 237-257.
- Goff J.P., Kimura K., Horst L. (2002) Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and β -carotene status at parturition. *J. Dairy Sci.* 82, 1427-1436.
- Guèguen L. (1978) Minéraux : Eléments minéraux majeurs. En : Jarrige R. (Pub), *Principes de la nutrition et de l'alimentation des ruminants. Besoins alimentaires des animaux. Valeur nutritive des aliments.* INRA-Editions, Versailles, 129-143.
- Guèguen L. (1997) La valeur nutritionnelle minérale du lait de chèvre. En : *Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre. Le lait de chèvre un atout pour la santé.* 67-80. Niort, France. 7 nov 1996. Les colloques no. 8. Editeur G. Freund INRA Paris.
- Guèguen L., Bouchet J.P. (1980) Compte rendu d'expérience sur l'utilisation réelle du phosphate triple de sodium, calcium et magnésium HOSTAPHOS chez le mouton en croissance. Données non publiées.
- Guèguen L., Durand M., (1976) Etude comparée de l'utilisation du phosphore du phosphate monocalcique, du phosphate bicalcique et du phosphate d'urée par le mouton en croissance. Données non publiées.
- Guèguen L., Lamand M., Meschy F. (1988) Nutrition minérale. En : Jarrige R. (ed) *Alimentation des bovins, ovins et caprins.* 95-111. INRA, Paris.
- Guo M.R., Dixon P.H., Park Y.W., Gilmore J.A., Kindstead P.S. (2001) Seasonal changes in the chemical composition of commingled goat milk. *J. Dairy Sci. (E. Suppl.)* 84, E79-E83.
- Hall O.G., Baxter H.D., Hobbs C.S. (1961) Effect of phosphorus in different chemical forms on *in vitro* cellulose digestion by rumen microorganisms. *J. Anim. Sci.* 20; 817-820.
- Hemingway R.G., McLaughlin A.M., (1979) Retention by sheep magnesium, phosphorus and fluorine from magnesium and calcium phosphates. *Br. Vet. J.* 135, 411-415
- Holtenius K., Ekelund A. (2005) Biochemical markers of bone turnover in the dairy cow during lactation and the dry period. *Res. Vet. Sci.* 78, 17-19.
- Ingvarsten K.L., Andersen J.B. (2000) Symposium: Dry matter intake of lactating dairy cattle. Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *J. Dairy Sci.* 83, 1573-1597.
- INRA. (2007) *Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoin des animaux. Valeur des aliments. Tables INRA 2007.* Editions Quae, Paris.
- INRA-AFZ (2002) *Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage.* INRA éditions, Paris.
- Ishler V., Heinrichs J., Varga G. (1996) *From feed to milk: understanding rumen function.* Pensilvany State University. College of Agricultural Sciences. Extension circular 422.

- Jarrige R., Journet M., Verité R. (1978) Azote. En : Jarrige R. (Pub), Principes de la nutrition et de l'alimentation des ruminants. Besoins alimentaires des animaux. Valeur nutritive des aliments. INRA-Editions, Versailles, 89-128.
- Jongbloed A. W., Kemme P. A., De Groote G., Lippens M., Meschy F., (2002) Bioavailability of major and trace minerals EMFEMA (International Association of the European (EU) Manufacturers) Brussels (BEL) 118p
- Kebreab E., Shah MA., Beaver DE., Humphries DJ., Sutton JD., France J., Mueller-Harvey I. (2005) Effects of contrasting forage diets on phosphorus utilisation in lactating dairy cows. *Lives. Prod. Sci.* 93:125-135
- Khorasani G.R., Janzen R.A., McGill W.B., Kennelly J.J (1997) Site and extent of mineral absorption in lactating cows fed whole-crop cereal grain silage or alfalfa silage. *J. Ani. Sci.* 75, 239-248.
- Kichura T.S., Horst R.L., Beitz D.C., Littledike E.T. (1982) Relationships between prepartal dietary calcium and phosphorus, vitamin D metabolism, and parturient paresis in dairy cows *J. Nutr.* 112, 480-487
- Kincaid R.L., Rodehutsord M. (2006) Phosphorus metabolism in the rumen. En : Pfeiffer E., Hristov A. (Eds), Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle. Reducing the environmental impact of cattle operations. CABI Publishing, Oxfordshire, 187-193.
- Knowlton K.F., Herbein J., Meister-Weisbarth M.A., Wark W.A. (2001) Nitrogen and phosphorus partitioning in lactating Holstein cows fed different sources of dietary protein and phosphorus. *J. Dairy Sci.* 84, 1210-1217.
- Knowlton K.F., Herbein J.H. (2002) Phosphorus partitioning during early lactation in dairy cows fed diets varying in phosphorus content. *J. Dairy Sci.* 85,1227-1236.
- Komisarczuk S. (1985) Etude de l'influence du phosphore sur l'activité fermentaire, la protéosynthèse et les teneurs en ATP de contenus de rumen dans différents systèmes de culture continuos. Thèse de Doctorat, Université de Paris-Sud Centre d'Orsay, Paris.
- Komisarczuk S., Durand M. (1991) Nutrient requirements of rumen microbes. *Proc. 3rd Int. Symp. on Nutrition of herbivores.* 133-141. Penang, Malasia.
- Komisarczuk S., Durand M., Durnay C., Morel T. (1986) Use of a semicontinuos culture system (Rusitec) to study the effects of phosphorus deficiency on rumen microbial digestion. *Biol. Anaer. Bact.* 47-53.
- Komisarczuk S., Merry R.J., McAllan A.B., (1987b) Effect of different levels of phosphorus on rumen microbial fermentation and synthesis determined using a continuous culture technique. *Br. J. Nutr.* 57, 279-290.
- Komisarczuk S., Merry R.J., McAllan A.B., Smith R.H., Durand M. (1984) Use of a continuos culture system to study phosphorus requirements in the rumen. *Can. J. Anim. Sci.* 64(Supl), 35-36
- Komisarczuk, S., Durand, M., Beaumatin, Ph., Hannequart, G (1987a). Effects of phosphorus deficiency on rumen microbial activity associated with the solid and liquid phases of a fermentor (Rusitec). *Reprod. Nutr. Dévelop.* 27, 907-919
- Konishi C., Matsui T., Park W., Yano H., Yano F. (1999) Heat treatment of soybean meal and rapeseed meal and rappeseed meal supresses rumen degradation of phytate phosphorus in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 80, 115-122.

- Kristensen N.B., Pierzynowski S.G., Danfaer A. (2000) Net portal appearance of volatile fatty acids in sheep intraruminally infused with mixtures of acetate, propionate, isobutyrate, butyrate and valerate. *J. Anim. Sci.* 78, 1372-1379
- Kumaresan A. (1976) Interactions entre le zinc et les microorganismes du rumen chez le mouton recevant de l'urée comme source unique d'azote. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse.
- Lassalas B., Jouany J.P., Broudiscou L. (1993) Dosage des bases puriques et pyrimidiques par chromatographie liquide à haute performance. *Ann. Zootech.* 42, 170-171
- Leedle J.A., Bryant M.P., Hespell R.B. (1982) Diurnal variations in bacterial numbers and fluid parameters in ruminal contents of animal fed low- or high-forage diets. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 402-412.
- Legay-Carmier F., Bauchart D. (1989) Distribution of bacteria in the rumen contents of dairy cows given a diet supplemented with soya-bean oil. *Br. J. Nutr.* 61, 725-740.
- Liesegang A., Eicher R., Sassi M.L., Risteli J., Kraenzlin J., Riond J.L., Wanner M. (2000) Biochemical markers of bone formation and resorption around parturition and during lactation in dairy cows with high and low standard milk yields. *J. Dairy Sci.* 83, 1773-1781.
- Liesegang A., Risteli J. (2005) Influence of different calcium concentrations in the diet of bone metabolism in growing goats and sheep. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 89, 113-119.
- Liesegang A., Risteli J., Wanner M. (2006) The effects of first gestation and lactation on bone metabolism in dairy goats and milk sheep. *Bone* 38, 794-802.
- Liesegang A., Risteli J., Wanner M. (2007) Bone metabolism of milk goats and sheep during second pregnancy and lactation in comparison to first lactation. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 91, 217-225.
- Liesegang A., Sassi M.L., Risteli J., Eicher R., Wanner M., Riond J.L. (1998) Comparison of bone resorption markers during hypocalcemia in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81, 2614-2622.
- Lima F.R., Mendonça C.X., Jr., Alvarez J.C., Garzillo H. J.M.F., Ghion E., Leali P.M. (1997) Biological evaluations of commercial dicalcium phosphates as sources of available phosphorus for broiler chicks. *Poul. Sci.* 76, 1707-1713.
- Lopez H., Kanitz F.D., Moreira V.R., Wiltbank M.C., Satter L.D. (2004) Effect of dietary phosphorus on performance of lactating dairy goats: milk production and cow health. *J. Dairy Sci.* 87, 139-146.
- Martinez de Acurero M., Capó E., Chicco C.F., Godoy de León S., Acurero G., Quintana H. (1993) Digestibilidad in vitro de la celulosa utilizando diferentes fuentes de fósforo. *Zootec. Trop.* 11, 3-12.
- McAllan A.B., Smith R.H., (1977) Some effects of variation in carbohydrate and nitrogen intakes on the chemical composition of mixed rumen bacteria from young steers. *Br. J. Nutr.* 37, 55-65.
- McAllister T.A., Bae H.D., Jones G.A., Cheng K-J. (1994) Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Anim. Sci.* 72, 3004-3018.
- McDowell L.R. (2003) Minerals in animal and human nutrition. 2nd ed. Elsevier Amsterdam Netherlands

- Merry R.J., McAllan A.B. (1983) A comparison of the chemical composition of mixed bacteria harvested from the liquid and solid fractions of rumen digesta. *Br. J. Nutr.* 50, 701-709.
- Meschy F. (2002) Recommandations d'apport en phosphore absorbé chez les ruminants. *Renc. Rech. Ruminants* 9, 279-285.
- Meschy F. (2003) Re-assessment of dietary allowances: absorbed phosphorus requirements in ruminants. En: P.C. Garnsworthy, J. Wiseman (Eds), *Recent advances in Animal Nutrition 2003*. 175-189
- Meschy F., (2007) Alimentation minérale et vitaminique des ruminants: actualisation des connaissances. *INRA. Prod. Anim.* 20, 119-128.
- Meschy F., Beguin J.M., Dagonne R.P. (2000) Valeur nutritionnelle de quelques sources de phosphore chez la chèvre laitière. *Renc. Rech. Ruminants* 7, 209.
- Meschy F., Corrias R., (2005) Recommandations d'apport alimentaire en calcium et magnésium absorbables pour les ruminants. *Renc. Rech. Ruminants* 12, 221-224.
- Meschy F., Guèguen L. (1995) Ingestion et absorption des éléments minéraux majeurs. En : Jarrige R., Ruckebusch Y., Demarquilly C., Farce M.-H., Journet M. (Eds), *Nutrition des ruminants domestiques. Ingestion et digestion*. INRA-Editions, Paris, 721-758.
- Meschy F., Guèguen L. (1998) Les recommandations d'apport alimentaire en éléments minéraux : analyse et perspectives. *Renc. Rech. Ruminants* 5, 235-240.
- Miles P.H., Wilkinson N.S., McDowell L.R., (2001) *Analysis of minerals for animal nutrition research*. 3rd ed. Department of Animal Science, University of Florida. USDA/T-STAR. Gainesville, Florida USA. Pp118.
- Minitab pour Windows 95 /NT, version 12.2 ; Minitab, Inc., 1998
- Miron J., Ben-Ghedalia D., Morrison M. (2001) Adhesion mechanisms of rumen cellulolytic bacteria. *J. Dairy Sci.* 84, 1294-1309.
- Model Maker. Cherwell Scientific Publishing Ltd. Version 3.0.3. 1993-1997.
- Molina E., Ferret A., Caja G., Calsamiglia S., Such X., Gasa J. (2001) Comparison of voluntary feed intake, apparent digestibility, digesta kinetics and digestive tract content in Manchega and Lacaune dairy sheep in early and mid lactation. *Anim. Sci.* 72, 209-211.
- Morand-Fehr P., Sauvant D. (1988) Alimentation des caprins. En : Jarrige ed. *Alimentation des bovins, ovins et caprins*. INRA, Paris 281-304.
- Morse D., Head H.H., Wilcox C.J., Van Horn H.H., Hissem C.D., Harris B., Jr (1992) Effects of concentration of dietary phosphorus on amount and route of excretion. *J. Dairy Sci.* 75, 3039-3049
- Müschen H., Petri A., Breves G., Pfeffer E. (1988) Response of lactating goats to low phosphorus intake 1. Milk yield and faecal excretion of P and Ca. *J. Agri. Sci.* 111, 255-263.
- National Research Council (2001) *Nutrient requirements of domestic animals. Nutrient requirements of dairy cattle*, 7th Ed. Washington DC USA.

- Park W.Y., Matsui T., Konishi C., Kim S.W., Yano F., Yano H. (1999) Formaldehyde treatment suppresses ruminal degradation of phytate in soyabean meal and rapeseed meal. *Br. J. Nutr.* 81, 467-471.
- Park, W.-Y., Matsui, T., Yano, F., Yano, H., 2000. Heat treatment of rapeseed meal increases phytate flow into the duodenum of sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 88, 31-37.
- Pfeffer E., Beede D.K., Valk H. (2006) Phosphorus metabolism in ruminants and requirements of cattle. En : Pfeffer E., Hristov A. (Eds), Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle. Reducing the environmental impact of cattle operations. CABI Publishing, Oxfordshire, 195-231.
- Pfeffer et Hristov, 2006 Interactions between cattle and the environment: a general introduction. En : Pfeffer E., Hristov A. (Eds), Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle. Reducing the environmental impact of cattle operations. CABI Publishing, Oxfordshire, 1-12.
- Pfeffer E., Rodehustcord M. (1998) Body chemical composition and utilization of dietary energy by male Saanen kids fed either milk to satiation or solid complete feeds with two proportions. *J. Agri. Sci. Camb.* 131, 487-495
- Playne M.J., Echevarría M.G., Megarrity R.G. (1978). Release of nitrogen, sulphur, phosphorus, calcium, magnesium, potassium and sodium from four tropical hays during their digestion in nylon bags in the rumen. *J. Sci. Food. Agric.* 29, 520-526.
- Risteli L., Risteli J. (1993) Biochemical markers of bone metabolism. *Annals of Medicine.* 25, 385-393.
- Rodehustcord M., Heuvers H., Pfeffer E. (2000). Effect of organic matter digestibility on obligatory faecal phosphorus loss in lactating goats, determined from balance data. *Anim. Sci.* 70, 561-568.
- Samuels W.A., Fontenot J.P., Allen V.G., Abazinge M.D.A. (1991) Seafood processing wastes ensiled with straw: utilization and intake by sheep. *J. Anim. Sci.* 69, 4983-4992.
- SAS ® Institute SAS/STZT Software, Release 8.01. 1999-2000. SAS Inst., Inc., Cary, NC USA.
- Satter L.D. (2003) Phosphorus management in cattle production systems. En: Garnsworthy P.C., Wiseman J. (Eds) Recent Advances in Animal Nutrition. Nottingham University Press, Nottingham, 157-174.
- Sauvant D, van Milgen J. (1995). Dynamic aspects of carbohydrate and protein breakdown and the associated microbial matter synthesis. En: Ruminant Physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction. Engelhardt W.E., Leonhard-Marek S., Breves G., Giesecke D. (Eds), Proc. of the eighth international symposium on ruminant
- Sehested J. (2004) Feeding phosphorus (P) to cattle: A new basis for Nordic recommendations. *Acta Agric. Scand.* 54, 169-180.
- Shanklin R.K. (2001) Effect of form and amount of phosphorus and phytase supplementation on phosphorus utilization by ruminants. Master of Science. Thesis, Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, VA.
- Singh N. (2005). A model to predict fluctuations in rumen pH. Master of Science. Thesis University of Maryland, Maryland.
- Smith R.H., McAllan A.B. (1974) Some factors influencing the chemical composition of mixed rumen bacteria. *Br. J. Nutr.* 31, 27-34.

- Sommerville B.A., Maunder E., Ross R., Care A.D., Brown R.C. (1985) Effect of dietary calcium and phosphorus depletion on vitamin D metabolism and calcium binding protein in the growing pig. *Horm. Metab. Res.* 17, 78-81.
- Spiekers H., Brintrup R., Balmelli M., Pfeffer E. (1993) Influence of dry matter intake on faecal phosphorus losses in dairy cows fed rations low in phosphorus. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 69, 37-43
- Tamminga S. (1996) A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J. Anim. Sci.* 74, 3112-3124.
- Ternouth J.H. (1989) Endogenous losses of phosphorus by sheep. *J. Agric. Sci. Camb.* 113, 291-297.
- Ternouth J.H. Sevilla C.C. (1990) The effects of low levels of dietary phosphorus upon the dry matter intake and metabolism of lambs. *Aus. J. Agric. Res.* 41, 175-184.
- Tillman A.D., Brethour J.R., (1958) Dicalcium phosphate and phosphoric acid as phosphorus sources for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 17, 100-103.
- Underwood E.J., Suttle N.F. (1999) The mineral nutrition of the livestock. 3rd CABI Publishing. New York, U.S.A.
- Valk H., Beynen A.C. (2003) Proposal for the assessment of phosphorus requirements of dairy cows. *Liv. Prod. Sci.* 79, 267-272.
- Valk H., Šebek L.B.J. (1999) Influence of long term feeding of limited amounts of phosphorus on dry matter intake, milk production and body weight of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 2157-2163.
- Valk H., Šebek L.B.J., Beynen A.C. (2002) Influence of phosphorus intake on excretion and blood plasma and saliva concentrations of phosphorus in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85, 2642-2659.
- Van Nevel C.J., Demeyer D.I. (1977) Determination of rumen microbial growth *in vitro* from ³²P-labelled phosphate incorporation. *Br. J. Nutr.* 38, 101-114.
- Vanden Bossche H. (1999) Devenir du phosphore apporté sur les sols et risques de contamination des eaux de surface. Thèse de Doctorat, Université de Rennes 1, Rennes.
- Vant'Klooster A.T., (1976) Adaptation of calcium absorption from the small intestine of dairy cows to changes in the dietary calcium intake and at the onset of lactation. *Z. Tierphysiol Tierernähr Futtermittelkd.* 37, 169-182.
- Vermorel M. (1978) Energie. En : Jarrige R. (Pub), Principes de la nutrition et de l'alimentation des ruminants. Besoins alimentaires des animaux. Valeur nutritive des aliments. INRA-Editions, Versailles, 47-88.
- Vitti D.M.S.S., Silva Filho J.C., Abdalla A.L. (1988) Phosphorus availability for rumen microorganisms: effect of different sources. *J. Nuclear Agric. Biol.* 186, 186-187.
- Wells J.E., Russell J.B. (1994) The endogenous metabolism of *Fibrobacter succinogenes* and its relationship to cellobiose transport, viability and cellulose digestion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 41, 471-476.
- Weatherburn M.W. (1967) Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.* 38, 971-977.

- Wilson D.J., Stewart K.N., Sears P.M. (1995) Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. *Small Ruminant Research*. 16, 165-169.
- Witt K.E., Owens F.N. (1983) Phosphorus: ruminal availability and effects on digestion. *J. Anim. Sci.* 56, 930-937.
- Wollenweider R.A. (1968) Scientific fundamentals of eutrophication of lakes and flowing waters with special references to phosphorus and nitrogen. ECO, Paris. OECD/DAS/SCI/1968.
- Wu Z., Tallam S.K., Ishler V.A., Archibald D.D. (2003) Utilization of phosphorus in lactating cows fed varying amounts of phosphorus and forage. *J. Dairy Sci.* 86, 3300-3308.
- Wu Z., Satter L.D., Sojo R. (2000) Milk production, reproductive performance, and fecal excretion of phosphorus by dairy cows fed three amounts of phosphorus. *J. Dairy Sci.* 83,1028-1041.
- Yano F., Yano H., Breves G. (1991) Calcium and phosphorus metabolism in ruminants. En: Tsuda T., Sasaki Y., Kawashima R. (Eds) *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. Proceedings of the 7th international symposium on ruminant physiology.* Academic Press, Inc. Londres, 277-296.
- Zeng S.S., Escobar E.N. (1995) Effect of parity and milk production on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk. *Small Ruminant Research*. 17, 269-274.